

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

JOYCE PINHEIRO LEAL COSTA

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO CERVICAL PELO HPV EM MULHERES
CLIMATÉRICAS**

São Luís
2016

JOYCE PINHEIRO LEAL COSTA

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO CERVICAL PELO HPV EM MULHERES
CLIMATÉRICAS**

Artigo Científico apresentado ao Curso de
Medicina da Universidade Federal do
Maranhão para obtenção do grau de
Médico.

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Maria
Oliveira Brito.

São Luís
2016

**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO CERVICAL PELO HPV EM MULHERES
CLIMATÉRICAS**

Artigo Científico apresentado ao Curso de
Medicina da Universidade Federal do
Maranhão para obtenção do grau de
Médico.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito - Orientadora
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Maria Bethânia da Costa Chein - Examinadora
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal Cabral - Examinadora
Universidade Federal do Maranhão

Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento - Examinadora
Universidade Federal do Maranhão

A Deus e à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por Seu amor imensurável e Seu cuidado incomparável, por ter sido meu socorro bem presente nos momentos difíceis e por ter me ajudado a realizar os maiores sonhos da minha vida. A Ele seja dada toda honra e glória!

Agradeço ao meu pai, João Leal, por ser um excelente pai. Sou grata por ter plantado em meu coração o desejo de estudar, não visando apenas o benefício próprio, mas para recompensar todos os sacrifícios que fez para que tivéssemos um ensino de qualidade. Sua trajetória de vida permeada por superações sempre estará em minha memória. Seus esforços já mudaram gerações.

Sou grata a minha mãe, Célia Leal, por também ser uma excelente mãe. Grata por não medir esforços para atender às necessidades de seus filhos e, principalmente, por suas orações em meu favor. Nesses últimos meses de conclusão do curso e de minha gestação, percebo o favor de Deus em ter permitido que eu estivesse sob os cuidados dela. Já posso compreender com mais clareza porque o amor de Deus é comparado ao amor de uma mãe.

Sou grata ao meu irmão, Jonno Leal, pelo incentivo e apoio concedidos. Agradeço ao meu esposo, João Evangelista, por me amar e ser o meu suporte ao longo desses 6 anos, por realmente estar ao meu lado durante as intempéries da vida, por compartilhar das minhas conquistas como se fossem suas e pela dedicação a mim e à minha família.

Agradeço à Profa. Dra. Luciane Brito por ter sido o meu referencial de médica, pelos ricos conhecimentos concedidos, pela atenção e carinho prestados, pelas cobranças que me fizeram crescer e por se tornar parte de minha família.

Agradeço à Profa. Dra. Bethânia Chein por todas as orientações concedidas, pela atenção e carinho também ofertados e por me incentivar a ser uma médica competente, cuidando de suas pacientes de forma humanizada e com toda dedicação.

Sou grata à minha turma, 92, pelas experiências que compartilhamos juntos, em especial às minhas amigas Tâmara Mascarenhas, Dirley Martins, Stéfane Lima, Tamilys França, Érika Diniz e Andrieli Barros.

“Quando o SENHOR trouxe do cativeiro os que voltaram a Sião, éramos como os que sonham. Então a nossa boca se encheu de riso e a nossa língua de cânticos. Então se dizia entre as nações: Grandes coisas fez o Senhor a estes. Sim, grandes coisas fez o Senhor por nós e por isso estamos alegres. Traze-nos outra vez, ó Senhor, do cativeiro, como as correntes das águas no sul. Os que semeiam em lágrimas, com cânticos de júbilo segarão. Aquele que leva a preciosa semente para semear, andando e chorando, voltará com alegria, trazendo consigo os seus molhos”.

(Salmos 126:1-6)

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01.** Idade das mulheres climatéricas segundo a presença de DNA-HPV. São Luís, 2016.....16
- Tabela 02.** Frequência dos tipos de HPV identificados nas amostras cervicais. São Luís, 2016.....16
- Tabela 03.** Fatores de risco para infecção pelo HPV nas mulheres avaliadas. São Luís, 2016.....17
- Tabela 04.** Diagnóstico citopatológico segundo a presença de DNA-HPV. São Luís, 2016.....18

SUMÁRIO

ARTIGO A SER SUBMETIDO.....	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
RESUMEN.....	11
Introdução.....	12
Métodos.....	14
Resultados.....	16
Discussão.....	18
Conflito de interesses.....	23
Colaboradores.....	23
Agradecimentos.....	23
Referências.....	23
ANEXO A – Aprovação em Comitê de Ética em Pesquisa.....	30
ANEXO B – Instruções aos autores.....	31
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	40

ARTIGO A SER SUBMETIDO**PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO CERVICAL PELO HPV EM MULHERES
CLIMATÉRICAS****PREVALENCE OF CERVICAL HPV INFECTION IN CLIMACTERIC
WOMEN****PREVALENCIA DE INFECCIÓN CERVICAL POR HPV EM MUJERES
CLIMATÉRICAS**

Joyce Pinheiro Leal Costa¹
Luciane Maria Oliveira Brito²

1 Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

Rua dos Professores, S/N, Residencial Vinhais, Bloco C, apartamento 404. Fone: (98) 98165-6899. Email: joyce_pinleal@hotmail.com.

2 Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.

Departamento de Medicina III, Faculdade de Medicina, Praça Gonçalves Dias, 21, Centro - São Luís/MA. Fone: (98) 3272-9609. Email: luciane2406@yahoo.com.br.

RESUMO

O papilomavírus humano (HPV) é considerado um fator necessário para o desenvolvimento do câncer do colo do útero e possui um pico de prevalência já conhecido entre mulheres mais jovens. Os estudos recentes evidenciam um segundo pico após os 50 anos e questionam a relação dessa nova prevalência a fatores como nova infecção ou reativação de infecção latente por alterações hormonais da imunossenescência ou da menopausa. Nesse contexto, realizou-se um estudo transversal com 70 mulheres climatéricas, objetivando identificar a prevalência de infecção cervical pelo HPV entre essas mulheres e as alterações citopatológicas. As mulheres foram submetidas à coleta do material cervical para posterior análise molecular do HPV, por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase. A prevalência de DNA-HPV positivo foi de 40% e a maioria das mulheres infectadas possuíam idade entre 51 a 65 anos. O HPV 16 foi o mais prevalente (28,6%). Esta prevalência foi considerada alta para esta faixa etária, estimulando novos estudos que investiguem as causas relacionadas.

Palavras-chave: Infecções por Papillomavirus; Neoplasias do Colo do Útero; Climatério.

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) is considered a necessary factor for the development of cervical cancer and has a peak prevalence among younger women. Recent studies show a second peak after 50 years and question if this new prevalence is related to factors such as new infection or reactivation of latent infection by hormonal changes of immunosenescence or menopause. In this context, a cross-sectional study of 70 climacteric women was conducted, aiming to identify the prevalence of cervical HPV infection among these women and cytological changes. The women were subjected to the collection of cervical material for subsequent molecular HPV analysis by polymerase chain reaction technique. The prevalence of positive HPV-DNA was 40% and most infected women had ages 51 to 65. HPV 16 was the most prevalent (28.6%). This prevalence was considered high for this age group, encouraging further studies to investigate the related causes.

Keywords: Papillomavirus Infections; Uterine Cervical Neoplasms, Climacteric.

RESUMEN

El virus del papiloma humano (VPH) es considerado como un factor necesario para el desarrollo de cáncer de cuello de útero y tiene un pico de prevalencia conocida entre las mujeres más jóvenes. Estudios recientes muestran un segundo pico después de 50 años y cuestionan la relación de esta nueva prevalencia a factores como nueva infección o reactivación de la infección latente por los cambios hormonales de la inmunosenescencia o la menopausia. En este contexto, se llevó a cabo un estudio transversal de 70 mujeres climatéricas con el fin de identificar la prevalencia de la infección por VPH cervical entre estas mujeres y cambios citológicos. Las mujeres fueron sometidas a la colección de material cervical para el posterior análisis molecular de el VPH mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. La prevalencia de VPH-ADN positivo fue del 40% y la mayoría de las mujeres infectadas tenían edades entre 51 a 65 años. HPV 16 fue el más prevalente (28,6%). Esta prevalencia fue considerada alta para este grupo de edad, estimulando más estudios para investigar las causas relacionadas.

Palabras-chave: Infecciones por Papillomavirus; Neoplasias del Cuello Uterino; Climaterio.

Introdução

O câncer de colo do útero é o segundo tipo de câncer mais comumente diagnosticado e a terceira principal causa de morte por câncer entre as mulheres em países menos desenvolvidos¹. No Brasil, excluindo os casos de câncer de pele não melanoma, esse câncer permanece como o terceiro mais frequente entre as mulheres e corresponde à quarta causa de morte de mulheres por câncer². Para o biênio 2016-2017, são esperados 16.340 casos novos de câncer do colo do útero no país, com um risco estimado de 15,85 casos a cada 100 mil mulheres. No Maranhão, foram estimados 970 casos, destes, 230 oriundos da capital São Luís³.

Pode-se afirmar na atualidade que o papilomavírus humano (HPV) é um fator necessário para o desenvolvimento do câncer de colo do útero, o qual pode ser potencializado por fatores de risco inespecíficos como o tabagismo, etilismo, imunodepressão, entre outros⁴.

O primeiro papilomavírus descrito foi identificado em coelhos Cottontail, ou coelhos da cauda branca. Em 1972, Stefania Jabłońska sugeriu a associação entre o HPV e o câncer de pele verruciforme. Após cinco anos, o HPV5 foi identificado no câncer de pele por Gerard Jabłońska-Orth, do Instituto Pasteur⁵. Em 1977, Harald zur Hausen formulou a hipótese de que o HPV desempenha um papel importante no desenvolvimento do câncer cervical⁶.

O HPV corresponde a um grande grupo de DNA vírus, pequenos e não envelopados, que podem induzir tumores de células escamosas, bem como verrugas e papilomas em diferentes localizações⁷. Atualmente, são oficialmente reconhecidos mais de 200 tipos de HPV⁸.

Dentro deste grupo há 118 tipos cuja sequência de nucleotídeos foi elucidada⁹. Eles podem ser divididos em dois subgrupos: aqueles com baixo potencial oncogênico, representados principalmente pelo 6 e 11, com um alto potencial oncogênico, representados pelo 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 55, 58, 59, 68, 73, 82, 83; sendo o 16 e 18 fortemente associados ao câncer de colo uterino. Alguns autores também incluem 39, 56 e 79 no tipo de alto risco¹⁰⁻¹².

O genoma viral possui 7200 a 8000 pares de bases e é organizado em três segmentos: região codificadora inicial de proteína (E), que compreende E1, E2, E4 a E7 e representa 50% do genoma, a região codificadora de proteína final (L) que consiste

em L1 e L2, representando 40% do genoma e a região reguladora, que corresponde aos 10% restantes^{13, 14}.

Os tipos oncogênicos possuem forte relação com o desenvolvimento de câncer do colo do útero, pênis, vulva, vagina, ânus, cavidade oral, orofaringe e laringe⁷. Esta relação justifica-se pela propriedade que os vírus oncogênicos possuem de codificar a oncoproteína E6 e E7, responsáveis por estimular a degradação de proteínas com propriedades de supressão tumoral: p53 e pRb^{15, 16}.

O câncer cervical começa com a aquisição do HPV, principalmente por via sexual, seguido pela persistência viral, proliferação e infecção das células epiteliais, evoluindo de lesões pré-cancerígenas, as neoplasias intraepiteliais cervicais, até o câncer invasor⁴.

O rastreamento desse câncer tornou-se um projeto prioritário para o Ministério da Saúde (MS) do Brasil. Em 1984, foi lançado o Programa de Assistência Integral à Saúde da Mulher, destacando-se a prevenção dos cânceres do colo do útero e da mama. No ano 1998, o MS instituiu o Programa Nacional de Combate ao Câncer de Colo do Útero através da Portaria GM/MS nº 3040/98¹⁷. Esse programa estabeleceu estratégias para estruturação da rede assistencial, mecanismos para mobilização e captação de mulheres e desenvolvimento do Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero (SISCOLO), que fornece dados sobre a identificação das pacientes, características epidemiológicas e alterações citopatológicas dos exames colpocitológicos coletados¹⁸.

O MS estabeleceu que o método de rastreamento do câncer do colo do útero e de suas lesões precursoras deve ser o exame citopatológico. O intervalo entre os exames deve ser de três anos, após dois exames negativos, com intervalo anual. O início da coleta deve ser aos 25 anos de idade para as mulheres que já tiveram atividade sexual e devem seguir até os 64 anos e serem interrompidos quando, após essa idade, as mulheres tiverem pelo menos dois exames negativos consecutivos nos últimos cinco anos¹⁷.

A ocorrência de exames citopatológicos falso-negativos e insatisfatórios instigou o desenvolvimento de novas tecnologias, dentre elas as técnicas de detecção de DNA-HPV. Os testes moleculares de detecção de DNA-HPV, principalmente os oncogênicos, estão sendo estudados como método de rastreamento e foi comprovada maior sensibilidade do que o exame citopatológico. Todavia, a especificidade foi menor, encaminhando mais mulheres para a colposcopia¹⁹.

Uma estratégia de rastreio ideal exigiria alta sensibilidade para minimizar falsos negativos, bem como uma elevada especificidade, para evitar falsos positivos. Sendo assim, uma alternativa que se mostrou eficaz é a utilização da triagem citológica dos casos positivos para DNA-HPV oncogênico, encaminhando para a colposcopia apenas as mulheres em que o teste foi positivo e o exame citopatológico revelou alguma alteração^{17, 20}.

A limitação da idade para realização do citopatológico pode ser explicada pela observação das características epidemiológicas da infecção pelo HPV, que sua prevalência apresenta um pico entre mulheres jovens, com cerca de 20 a 30 anos e que tende a diminuir à medida que a mulher envelhece. No entanto, ao longo dos anos tem-se observado que a persistência viral tende a aumentar com a idade, propiciando um aumento da displasia cervical severa e do câncer cervical em mulheres mais velhas²¹.

Além disso, a prevalência de HPV vem demonstrando um segundo pico após os 40 anos de idade, instigando a hipótese de possível associação entre mulheres que estejam no climatério. Alguns autores afirmam que o segundo pico pode ser decorrente da aquisição de nova infecção, seja por meio de um novo parceiro sexual ou infidelidade conjugal, ou ser decorrente da reativação de infecção latente pela imunossenescência, pelas alterações hormonais da menopausa ou pelas alterações do colo uterino causadas pela reposição hormonal²².

Atualmente, com o aumento da expectativa de vida, as mulheres transcorrem um terço de suas vidas no climatério, que pode estender-se dos 35 aos 65 anos de idade²³. Estudos que abordam especificamente a prevalência de infecção pelo HPV em mulheres climatéricas são poucos frequentes. Essa temática precisa ser cada vez mais discutida, uma vez que existe uma tendência em parar a triagem citológica para prevenção do câncer de colo de útero nas mulheres acima de 50 ou 60 anos²². Nesse contexto, este estudo visa analisar a prevalência de infecção cervical pelo HPV em mulheres climatéricas pela detecção do DNA-HPV e as alterações citopatológicas.

Métodos

Realizou-se um estudo transversal com 70 mulheres, com idade entre 35 e 65 anos, que frequentaram o ambulatório de Cardiologia do Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra e de Ginecologia do Hospital Universitário Unidade Materno Infantil, no período de Agosto de 2013 a Agosto de 2015. O perfil das mulheres climatéricas

avaliadas caracterizou-se por uma idade média de 51,5 anos, pardas, casadas, do lar, com ensino médio completo, possuíam renda de 1 salário mínimo e residentes na capital.

Após o consentimento para participação neste estudo, foi aplicado um questionário às mulheres sobre variáveis sociodemográficas, comportamentais e clínicas. Após o preenchimento do questionário, as pacientes foram submetidas à coleta de material endocervical para identificação e genotipagem do DNA-HPV, seguida em outro momento de coleta de material para citologia oncológica.

Para coleta do material cervical foi utilizado o kit QIAamp DNA Mini andBlood Mini (QIAGEN, Valencia, CA). A coleta foi feita por profissional capacitado, por meio da inserção da escova no orifício endocervical externo, esfoliando células da endocérvice, junção escamocolumnar e ectocérvice. O DNA-HPV foi extraído a partir das células cervicais esfoliadas como descrito no manual do fabricante, com algumas adaptações.

A detecção de DNA de HPV foi feita no Biobanco de Tumores e DNA do Maranhão por meio da amplificação de região conservada do gene L1, através da técnica da PCR-NESTED, utilizando os pares de primers PGMY 09/11 e GP 5+/6+. Os produtos de PCR foram purificados pelo kit GenElute PCR Cleanup kit (Sigma-Aldrich) de acordo com as instruções do fabricante. As reações de sequenciamento foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão localizado no Centro de Estudos Superiores de Caxias-CESC-UEMA. O sequenciamento foi realizado com o kit ET Dye Terminator Cycle Sequencing kit (GE Healthcare, UK), de acordo com o protocolo do fabricante.

Na análise estatística, foram utilizados os testes do qui quadrado para as variáveis categóricas, o Teste t para as variáveis contínuas paramétricas e o teste de Mann-Whitney para as variáveis não paramétricas. O nível de significância adotado foi 5% ($p < 0,05$). Este estudo derivou de uma pesquisa mais abrangente sobre a Associação do Papilomavírus Humano e a Doença Arterial Coronariana, submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário/UFMA, aprovada sob o parecer N° 195.357 e financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Resultados

O DNA-HPV positivo foi identificado em 28 pacientes, representando uma prevalência de 40%. A idade das mulheres com DNA-HPV positivo e negativo apresentou características semelhantes. A média entre os respectivos grupos correspondeu a 53,6 anos e 50,2 anos; a prevalência de infecção pelo HPV foi superior na faixa etária entre 51 a 65 anos (Tabela 1).

Tabela 1. Idade das mulheres climatéricas segundo a presença de DNA-HPV. São Luís, 2016.

Idade	DNA-HPV		valor de p
	Positivo (n = 28)	Negativo (n = 42)	
Média ± DP	53,6 ± 8,4	50,2 ± 8,3	0,10
35 – 50 anos	12 42,8%	18 42,8%	1,00
51 – 65 anos	16 57,2%	24 57,2%	

O tipo mais frequente foi o HPV16 (28,6%), correspondente a alto risco oncogênico. Dentre os classificados como baixo risco oncogênico, prevaleceram o HPV74 e HPV102 com 7,0% (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência dos tipos de HPV identificados nas amostras cervicais. São Luís, 2016.

Tipo de HPV	N	%
Indeterminado	6	21,4
6	1	3,6
16	8	28,6
18	1	3,6
33	1	3,6
39	1	3,6
45	1	3,6
53	1	3,6
58	1	3,6
59	1	3,6
73	1	3,6
74	2	7,0
83	1	3,6
102	2	7,0
Total	28	100,0

Em relação a alguns fatores de risco para infecção pelo HPV já estabelecidos, observou-se que a média de idade do primeiro coito entre as mulheres infectadas pelo HPV correspondeu a 21,9 anos (DP \pm 5,6) e entre as mulheres não infectadas, 17,1 (DP \pm 2,9), demonstrando que as mulheres adultas apresentaram um risco maior para infecção cervical pelo HPV ($p < 0,01$).

Os grupos de mulheres positivas e negativas para o DNA-HPV apresentaram características semelhantes quando analisadas outros fatores respectivamente: possuiu até três parceiros sexuais ao longo da vida (85,7% e 71,4%), não utilizava camisinha (77,8% e 68%), não era tabagista (96,4% e 95,2%) e negou história prévia e atual de doença sexualmente transmissível (96,4% e 97,6%). Em relação a possuir parceiro fixo atual, apresentaram a única divergência. O grupo infectado negou (67,9%), enquanto 59,5% das mulheres que não estavam infectadas afirmaram possuir parceiro no momento. Sendo assim, possuir parceiro fixo demonstrou ser fator de proteção para a infecção cervical pelo HPV, com $p = 0,02$ e $RP = 0,50$ (Tabela 3).

Tabela 3. Fatores de risco para infecção pelo HPV nas mulheres avaliadas. São Luís, 2016.

Variáveis	DNA-HPV				RP (IC 95%)	valor de p
	Positivo		Negativo			
	Média \pm DP		Média \pm DP			
Idade do primeiro coito	21,9 \pm 5,6		17,1 \pm 2,9			<0,01
	N	%	N	%		
Número de parceiros sexuais					1,78 (0,72-4,37)	0,16
Até 3	24	85,7	30	71,4		
4 ou mais	4	14,3	12	28,6		
Possui parceiro atual					0,50 (0,26-0,95)	0,02
Sim	9	32,1	25	59,5		
Não	19	67,9	17	40,5		
Faz uso de camisinha					0,69 (0,17-2,75)	0,58
Sim	2	22,2	8	32,0		
Não	7	77,8	17	68,0		
Tabagismo					0,83 (0,16-4,21)	0,81
Sim	1	3,6	2	4,8		
Não	27	96,4	40	95,2		
DST prévia ou atual					1,26 (0,31-5,19)	0,77
Sim	1	3,6	1	2,4		
Não	27	96,4	41	97,6		

Entre as mulheres que realizaram o exame citopatológico do colo do útero, todas as que estavam infectadas pelo HPV apresentaram alterações, sejam citológicas ou microbiológicas, demonstrando uma associação significativa ($p = 0,04$). A alteração citológica mais frequente foi a de padrão inflamatório em ambos os grupos com e sem DNA-HPV (90% e 55,6%, respectivamente). No grupo de mulheres infectadas pelo HPV, observou-se que apenas 10% apresentaram atipia celular, correspondente a lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL). A microbiologia identificou a *Gardnerella vaginalis* como patógeno mais frequente (10% e 22,2%, respectivamente). (Tabela 4).

Tabela 4. Diagnóstico citopatológico segundo a presença de DNA-HPV. São Luís, 2016.

Diagnóstico	DNA-HPV				RP (IC 95%)	valor de p
	Positivo		Negativo			
	N	%	n	%		
Normal					-	0,04
Sim	-	-	3	33,3		
Não	10	100,0	6	66,7		
Inflamatório					3,21 (0,53-19,37)	0,08
Sim	9	90,0	5	55,6		
Não	1	10,0	4	44,4		
Atipia celular					2,00 (1,26-3,17)	0,33
Sim	1	10,0	-	-		
Não	9	90,0	9	100,0		
<i>Gardnerellavagin alis</i>					0,59 (0,11-3,11)	0,46
Sim	1	10,0	2	22,2		
Não	9	90	7	77,8		

Discussão

Se analisarmos a prevalência de infecção cervical pelo HPV na população feminina geral, a prevalência encontrada neste estudo, correspondente a 40%, está dentro da variação observada por Trottier e Franco²⁴, cujo limite da prevalência variou de 2 a 44%. Uma revisão sistemática sobre as publicações no Brasil revelou uma prevalência pouco divergente, variando de 13,7% a 54,3%²⁵. Esta amplavariação é explicada pelas diferenças nas médias de idade das populações estudadas e a sensibilidade do método utilizado para detecção da infecção pelo HPV²⁶.

No entanto, quando se considera a população específica de mulheres em meia idade, a prevalência deste estudo mostrou-se bastante superior à encontrada na América

do Sul. Smith et al (2008), observaram que o máximo de prevalência diferiu entre as regiões geográficas da seguinte forma: África (cerca de 20%), Ásia/Austrália (cerca de 15%), América Central e do Sul (cerca de 20%), América do Norte (cerca de 20%), Sul da Europa/Oriente Médio (cerca de 15%) e norte da Europa (cerca de 15%)²⁷.

A prevalência elevada deste estudo pode ter sido influenciada pelo fato de parte da amostra ser composta por mulheres que frequentaram o ambulatório de ginecologia de um hospital de referência do estado e que, desta forma, poderiam ter sido referidas à unidade de saúde por apresentarem alterações prévias ou queixas clínicas, tendendo a superestimar a prevalência da infecção nesta população^{25, 28}. Porém, mesmo que o percentual esteja superestimado para representar as mulheres climatéricas de forma geral, a quantidade de mulheres que estavam infectadas é considerada preocupante, considerando que as mulheres mais jovens, em que há as maiores prevalências de HPV, foram excluídas dessa amostra.

Quando analisada a faixa etária, observou-se que a prevalência de infecção pelo vírus foi superior no grupo de mulheres com idade entre 51 a 65 anos. Sabe-se que as maiores prevalências de infecção pelo HPV são em mulheres entre a segunda e terceira década de vida e diminuem com o avançar da idade, porém os estudos realizados nos últimos anos têm demonstrado um segundo após os 50 anos, exceto na Ásia^{24, 29-31}. A variação geográfica para esse segundo pico de prevalência não está clara, mas pode estar relacionado à aquisição da infecção por um novo contato sexual, tanto da mulher quanto do parceiro, ou à reativação de infecção prévia não detectada²⁴.

Estudos que abordem especificamente a infecção pelo HPV em mulheres de meia idade e suas possíveis associações com o climatério são escassos, todavia faz-se de extrema importância averiguar os possíveis fatores relacionados ao segundo pico de prevalência do HPV já que as mulheres com mais de 40 anos que estão infectadas por este vírus apresentam um risco 30 vezes maior de desenvolver câncer do que mulheres mais jovens³⁰.

A genotipagem identificou o HPV 16 como o subtipo de alto risco oncogênico mais frequente, em concordância com a literatura atual. Revisões sistemáticas demonstraram a predominância do HPV 16 independentemente da técnica utilizada para sua identificação³² e do resultado da citologia³³. Estima-se que cerca de 5,4% de mulheres brasileiras já apresentaram infecção cervical pelo HPV 16/18 em algum momento de suas vidas e 68,5% dos cânceres cervicais invasivos foram atribuídos aos HPVs 16 e 18².

Dentre os fatores de risco conhecidos para o HPV investigados neste estudo, apenas a idade da primeira relação sexual e não possuir parceiro fixo estiveram associados à infecção. O início precoce da atividade sexual parece estar relacionado a um risco elevado de aquisição da infecção pelo HPV pelo maior tempo de exposição ao vírus^{26,34}, entretanto este estudo revelou que a média de idade das mulheres infectadas correspondeu a cerca de 21 anos, de forma semelhante aos resultados encontrados por outros autores³⁵.

Possuir parceiro fixo não se constituiu um fator de risco para as mulheres avaliadas, como poderia ser esperado pelo fato de mulheres casadas usarem preservativo com menos frequência³⁶. Pelo contrário, as mulheres que não possuíam parceiro fixo apresentaram um risco mais elevado para infecção pelo HPV, possivelmente pela maior probabilidade de envolver-se com múltiplos parceiros, já que não apresentam um relacionamento conjugal fixo.

Os demais fatores de risco investigados apresentaram-se de forma semelhante entre os grupos, o que remete a uma reflexão sobre uma limitação do estudo pela amostra reduzida ou por sua própria composição. Observou-se que as mulheres mais idosas possuem uma tendência a optar por informações que elas consideram menos constrangedoras, sendo assim a maioria referiu possuir até 03 parceiros sexuais ao longo da vida, não utilizar preservativo nas relações sexuais, negaram tabagismo e história pregressa ou atual de doença sexualmente transmissível.

A presença de viés na resposta destas mulheres pode ser sugerida porque a relação entre a infecção pelo HPV e esses fatores já está estabelecida no meio científico. A multiplicidade de parceiros gera o aumento de doenças sexualmente transmissíveis³⁷⁻³⁹; o tabagismo reduz a quantidade e a função das células de Langherans, responsáveis pela ativação de imunidade celular local contra o HPV e as infecções genitais transmitidas sem a proteção dos preservativos aumentam a secreção no meio vaginal, predispondo ao aparecimento de condilomas⁴⁰.

A análise colpocitológica revelou que todas as mulheres infectadas pelo HPV apresentaram alguma alteração no exame. Quanto à citopatologia, o padrão inflamatório foi o mais frequente não apenas entre essas mulheres, mas entre as mulheres não infectadas, corroborando com outros estudos⁴¹⁻⁴³. A inflamação do colo do útero é uma alteração celular benigna e considerada comum, pode ser decorrente da própria acidez vaginal sobre o epitélio glandular ou de agentes radioativos, mecânicos, térmicos ou

químicos⁴⁴. As pacientes com esse laudo devem seguir a rotina de rastreamento citológico.

Entre as atípicas celulares, apenas a LSIL esteve presente, em um percentual muito pequeno das pacientes positivas. Uma mulher infectada pelo HPV possui um risco até sete vezes maior de desenvolver LSIL quando comparada a uma mulher que não possui esta infecção. Esse risco duplica a cada ano de persistência viral pelos três primeiros anos após a detecção inicial do vírus ⁴⁵. Sendo assim, é fundamental que as mulheres positivas permaneçam realizando acompanhamento ginecológico para prevenção da LSIL e sua possível progressão para o câncer de colo do útero.

As recomendações do Ministério da Saúde para as mulheres com LSIL consistem em repetir o exame citopatológico em seis meses na unidade de atenção primária. Se a citologia de repetição for negativa em dois exames consecutivos, a paciente deve retornar à rotina de rastreamento citológico trienal na unidade de atenção primária. Se qualquer citologia subsequente for positiva, encaminhar à unidade de referência para colposcopia⁴⁴.

A análise microbiológica identificou a *Gardnerella vaginalis*, na maioria das amostras. Este patógeno está associado à vaginose bacteriana, constituindo o componente principal do biofilme dessa doença ⁴⁶. A vaginose bacteriana é a causa mais prevalente decorrente vaginal sintomática e está associada à aquisição ou transmissão de doenças sexualmente transmissíveis (DST), entre elas o vírus da imunodeficiência humana e o HPV ^{47, 48}.

De acordo com Dornelas Neto et al (2015), os dados epidemiológicos recentes evidenciam um aumento global das DST entre a população idosa em diversos países. É verdade que o aumento na quantidade e sensibilidade dos testes diagnósticos tem sua parcela de contribuição para o aumento das notificações, porém a influência dos comportamentos de risco nessa faixa etária não pode ser desconsiderada⁴⁹. No Brasil, cerca de 67,1% das pessoas de 50 a 59 anos são sexualmente ativas, estando vulneráveis a adquirir DST, principalmente quando se considera o aumento das taxas de divórcio, viuvez, procura de parceiros sexuais na internet e aumento do turismo sexual nesta população ^{50, 51}. Somam-se, ainda, as mudanças fisiológicas da imunossenescência, em que a menor ativação de células T e produção de anticorpos, pode fazer com que os tecidos sejam mais suscetíveis às DST, incluindo o HPV ⁵².

Além das alterações do envelhecimento comuns a todos os sexos, as mulheres estão submetidas às mudanças hormonais do climatério. Esta fase caracteriza-se pela

transição da fase reprodutiva para a não reprodutiva, com o declínio gradual da função ovariana e a instalação da menopausa⁵³. Os níveis baixos de estrogênio causam menor lubrificação e conseqüente adelgaçamento da mucosa vaginal, facilitando os microabrasões da parede durante relações sexuais e facilitando a aquisição e transmissão de DST^{54, 55}.

A redução da mortalidade por câncer do colo do útero em países desenvolvidos é resultado da realização periódica do exame citopatológico, pois o teste de HPV ainda não é usado sistematicamente como método de rastreamento¹⁷. As alterações citológicas encontradas neste estudo, caracterizadas como de baixo grau, representam um desafio para as recomendações clínicas, pela característica de regressão espontânea que apresentam na maioria das mulheres⁵. Todavia, faz-se necessário mencionar que a baixa sensibilidade da citologia pode causar um subdiagnóstico, em que até 23% dos casos de LSIL são posteriormente confirmados pelo histopatológico como lesões de alto grau¹⁹.

Como não se pode encaminhar todas as mulheres para a realização de colposcopia e estudo histopatológico, pois induziria à uma ansiedade exagerada e até a tratamentos desnecessários, alguns autores afirmam que a investigação do DNA-HPV entre as mulheres de meia idade seria um método benéfico para o acompanhamento dessas lesões^{56, 57}. Dados europeus mostram que mulheres com testes citopatológico e molecular para DNA-HPV positivos apresentam uma taxa de incidência de NIC III de 34%, nos seis anos seguintes à realização dos testes. Para mulheres com teste citopatológico normal e molecular positivo esta taxa é de 10%⁵⁸.

Naucler et al.⁵⁹ afirmam que a maior especificidade do teste de DNA-HPV ocorre em mulheres com mais de 35 anos, pois embora a prevalência tenha seu principal pico entre as mais jovens, esta infecção é geralmente transitória neste período. Como a infecção persistente é fundamental para o desenvolvimento carcinogênico, a detecção da persistência da infecção entre as mulheres mais velhas traria maiores benefícios para o acompanhamento.

Em suma, a alta prevalência de HPV detectada neste estudo entre as mulheres climatéricas, de meia idade, alerta para uma prevenção mais eficiente do câncer de colo de útero nessa faixa etária, que de forma geral ainda não se considera uma população de risco e não possui consciência das complicações de uma infecção sexualmente transmissível⁶⁰. Além disso, é necessário que os profissionais de saúde abandonem o paradigma de que o envelhecimento faz com que o indivíduo se torne uma pessoa sexualmente inativa e deixem de valorizar apenas uma assistência de livre demanda com

queixas estabelecidas, passando a realizar ações de educação em saúde para prevenção de DST nessa população e busca ativa para realização do exame citopatológico, já ofertado pelo programa de rastreio do câncer de colo do útero do nosso ministério de saúde ⁵⁰.

Conflito de interesses

Não há conflito de interesses.

Colaboradores

J.P.L Costa participou da concepção do projeto, análise e interpretação dos dados, redação do artigo e aprovação final da versão a ser publicada.

L. M. O. Brito contribuiu para a concepção do projeto, análise e interpretação dos dados, revisão crítica do conteúdo intelectual e aprovação final da versão a ser publicada.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

.

Referências

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancerstatistics, 2012. CA: a cancerjournal for clinicians 2015; 65:87-108.
2. InstitutCatalàd'Oncologia. Information Centre on HPV and Cancer. Brazil: human papillomavirus and related cancers; 2016. Acessoemjun 2015. Disponívelem: <<http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/BRA_FS.pdf>>
- 3.Ministério da Saúde (Brasil), Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2015. 38-40 p.

4. De Freitas AC, Gurgel AP, Chagas BS, Coimbra EC, Do Amaral CM. Susceptibility to cervical cancer: an overview. *Gynecologic oncology* 2012; 126:304-11.
5. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer; 2007.
6. ZurHausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Current topics in microbiology and immunology* 1977;78:1-30.
7. Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine* 2013;31 Suppl 7:H1-31.
8. Poljak M. Review of 20 years of HPV research in Slovenia. *Acta dermatovenerologica Alpina, Pannonica, et Adriatica* 2011; 20:99-112.
9. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, ZurHausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324:17-27.
10. Biedermann K, Dandachi N, Trattner M, Vogl G, Doppelmayr H, More E, et al. Comparison of real-time PCR signal-amplified in situ hybridization and conventional PCR for detection and quantification of human papillomavirus in archival cervical cancer tissue. *Journal of clinical microbiology* 2004;42:3758-65.
11. Devaraj K, Gillison ML, Wu TC. Development of HPV vaccines for HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists* 2003;14:345-62.
12. Gaspar J, Quintana SM, Reis RK, Gir E. Fatores sociodemográficos e clínicos de mulheres com papilomavírus humano e sua associação com o vírus da imunodeficiência humana. *Rev. Latino-Am* 2015; 23: 74-81.
13. Castro TP, BussolotiFilho I. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. *Brazilian journal of otorhinolaryngology* 2006; 72:272-82.
14. Hafkamp HC, Manni JJ, Speel EJ. Role of human papillomavirus in the development of head and neck squamous cell carcinomas. *Actaoto-laryngologica* 2004;124:520-6.

15. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63(6):1129-36.
16. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370:890-907.
17. Ministério da Saúde (Brasil), Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero. Brasília: Ministério da Saúde; 2011. 18-34 p.
18. Ministério da Saúde (Brasil), Departamento de informática do SUS, Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero. Brasília: Ministério da Saúde. Acesso em fev 2015. Disponível: <<

25. Ayres AR, Silva GA. Cervical HPV infection in Brazil: systematic review. *Revista de saude publica* 2010;44:963-74.
26. Castellsague X, Bosch FX, Munoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus research* 2002;89:191-9.
27. Smith JS, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. *The Journal of adolescent health : official publication of the Society for Adolescent Medicine* 2008;43:S5-25.
28. Weller SC, Stanberry LR. Estimating the population prevalence of HPV. *Jama* 2007;297(8):876-8.
29. Burchell AN, Winer RL, De Sanjose S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 2006; 24 Suppl 3:S3/52-61.
30. De Sanjose S, Diaz M, Castellsague X, Clifford G, Bruni L, Munoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *The Lancet Infectious diseases* 2007;7:453-9.
31. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2005;32 Suppl 1:S16-24.
32. Nunes JDC, Monteiro SCM, Vidal FCB, Brito LMO. Identificação molecular do HPV em infecções do colo uterino no Brasil: revisão. *Femina* 2013; 41:93-8.
33. HPV WIICo, Cervical C. HPV and cervical cancer in the 2007 report. *Vaccine*. 2007;Suppl 3:C1-230.
34. Naud P, Matos J, Hammes L, Stuckzynski J, Brouwers K, Magno V, et al. Factors predicting intermediate endpoints of cervical cancer and exposure to human papillomavirus (HPV) infections in young women screened as potential targets for prophylactic HPV vaccination in south of Brazil. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2006; 124:110-8.

35. Fedrizzi EN, Schlup CG, Menezes ME, Ocampos M. Infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres de Florianópolis, Santa Catarina. . DST J Bras Doenças Sex Transm 2008;20:73-9.
36. Ramos ASMB, Cunha CV, Mochel EG, Barros LM. Prevenção de Câncer cérvico uterino: sentimentos e reações vivenciados por mulheres da rede básica de saúde de São Luís. RevCiênc Saúde 2005;7:25-31.
37. Sá ALC. Perfil de mulheres submetidas ao exame de Papanicolau nas USF do Bairro do Junco/Sobral CE: contribuições da enfermagem para a promoção da saúde [monografia]. Sobral: Escola de Formação em Saúde da Família Visconde de Sabóia, Universidade Estadual Vale do Acaraú 2004.
38. Ministério da Saúde (Brasil), Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Falando sobre o câncer do colo do útero. Brasília: Ministério da Saúde; 2002. 09-12 p.
39. Roteli-Martins CM, Longatto Filho A, Hammes LS, Derchain SFM, Naud P, Matos JCd, et al. Associação entre idade ao início da atividade sexual e subsequente infecção por papilomavírus humano: resultados de um programa de rastreamento brasileiro. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 2007;29:580-7.
40. Manrique EJC, Tavares SBDN, Souza NLA, Albuquerque ZBP, Zeferino LC, Amaral RG. A revisão rápida de 100% é eficiente na detecção de resultados falsos-negativos dos exames citopatológicos cervicais e varia com a adequabilidade da amostra: uma experiência no Brasil. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 2007;29:402-7.
41. Silva DSMD, Silva AMN, Brito LMO, Gomes SRL, Nascimento MDDSB, Chein MBDC. Rastreamento do câncer do colo do útero no Estado do Maranhão, Brasil. Ciência & Saúde Coletiva 2014;19:1163-70.
42. Terres AF, Machado NDA, França FDS, Ramos CDT, Haas P. Análise dos resultados de exames preventivos e de rastreamento de câncer de colo do útero realizados em uma clínica ginecológica particular no município de Curitiba, PR. EstudBiol 2009;31:103-9.

43. Machado MS, Cantanhede KL, Leal PC, Nascimento MDSB, Silva RR, Bezerra JM. Estudo Retrospectivo do Câncer de Colo do Útero das Pacientes Atendidas no Hospital de Base do Distrito Federal 2005;73:82-9.
44. Ministério da Saúde (Brasil), Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. Brasília: Ministério da saúde; 2006. 25-39 p.
45. Moscicki AB, Ma Y, Wibbelsman C, Darragh TM, Powers A, Farhat S, et al. Rate of and risks for regression of cervical intraepithelial neoplasia 2 in adolescents and young women. *Obstetrics and gynecology* 2010;116:1373-80.
46. Schwebke JR, Muzny CA, Josey WE. Role of Gardnerella vaginalis in the pathogenesis of bacterial vaginosis: a conceptual model. *The Journal of infectious diseases* 2014;210:338-43.
47. Eschenbach DA. Bacterial vaginosis and anaerobes in obstetric-gynecologic infection. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 1993; Suppl 4:S282-7.
48. Martin HL, Richardson BA, Nyange PM, Lavreys L, Hillier SL, Chohan B, et al. Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition. *The Journal of infectious diseases* 1999;180:1863-8.
49. Poynten IM, Grulich AE, Templeton DJ. Sexually transmitted infections in older populations. *Current opinion in infectious diseases* 2013;26:80-5.
50. Olivi M, Santana RG, Mathias TADF. Behavior, knowledge and perception of risks about sexually transmitted diseases in a group of people over 50 years old. *Revista Latino-Americana de Enfermagem* 2008;16:679-85.
51. Minichiello V, Rahman S, Hawkes G, Pitts M. STI epidemiology in the global older population: emerging challenges. *Perspectives in public health* 2012;132:178-81.
52. Minkin MJ. Sexually transmitted infections and the aging female: placing risks in perspective. *Maturitas* 2010;67:114-6.

53. Nelson HD. Menopause. *Lancet* 2008;371:760-70.
54. Bachus MA. HIV and the older adult. *Journal of gerontological nursing* 1998;24:41-6.
55. Luther VP, Wilkin AM. HIV infection in older adults. *Clinics in geriatric medicine* 2007;23:567-83.
56. Ronco G, Cuzick J, Segnan N, Brezzi S, Carozzi F, Folicaldi S, et al. HPV triage for low grade (L-SIL) cytology is appropriate for women over 35 in mass cervical cancer screening using liquid based cytology. *European journal of cancer* 2007;43:476-80.
57. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C, Raifu AO, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *Bmj* 2008; 337:1284-95.
58. Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *Bmj* 2008; 337:1754.
59. Naucler P, Ryd W, Tornberg S, Strand A, Wadell G, Elfgren K, et al. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *The New England journal of medicine* 2007;357:1589-97.
60. Peate I. Human immunodeficiency virus and the older person. *British journal of nursing* 2007;16:606-10.

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE PAPILOMAVÍRUS HUMANO E DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA EM MULHERES CLIMATÉRICAS

Pesquisador: Luciane Maria Oliveira Brito

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 09487413.8.0000.5086

Instituição Proponente: Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU/UFMA

Patrocinador Principal: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior ((CAPES))

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 195.357

Data da Relatoria: 08/02/2013

Apresentação do Projeto:

O Papilomavírus Humano (HPV) está etiológicamente ligado a lesões neoplásicas benignas e malignas. Os considerados oncogênicos propiciam a degradação da proteína p53, que possui propriedades de supressão tumoral e constitui-se em um fator protetor para aterosclerose.

O estudo tem por objetivo investigar a associação entre a infecção pelo HPV e a Doença Arterial Coronariana (DAC) em mulheres climatéricas, haja vista que a incidência de DAC ocorre duas a três vezes mais em mulheres após a menopausa e que há um pico da revalência de HPV após os 50-60 anos. Trata-se de um estudo transversal onde serão avaliadas 258 mulheres, com faixa etária entre 40 e 65 anos, atendidas no Ambulatório de Ginecologia do

Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário (CEPEC) da UFMA, avaliadas previamente para Doença Arterial Coronariana, a partir de janeiro de 2013. Será aplicado um questionário às mulheres sobre variáveis sociodemográficas e fatores clínicos relacionados a comorbidades, em seguida, elas serão submetidas à coleta do material cervical para posterior análise do DNA para HPV por meio da PCR. Aquelas que forem positivas para HPV na análise do swab cervical serão avaliadas quanto à presença de DNA - HPV no plasma. As mulheres serão classificadas em Grupo A (DNA - HPV positivo) e Grupo B (DNA - HPV negativo). O Grupo A será dividido em dois subgrupos, decompondo-as entre as que contêm tipos de HPV oncogênicos e as que contêm os demais tipos. Aspectos éticos e análise dos dados contemplados no estudo. Financiada pela CAPES.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

Fax: (98)2189-1223

E-mail: cep@ufma.br

ANEXO B – Instruções aos autores

Cadernos de Saúde Pública (ENSP. Impresso)

Classificação B2 em Medicina II.

ISSN: 0102-311X

Escopo e política

Cadernos de Saúde Pública/Reports in Public Health (CSP) publica artigos originais com elevado mérito científico que contribuam ao estudo da Saúde Coletiva em geral e disciplinas afins.

Forma e preparação de manuscritos

Recomendamos aos autores a leitura atenta das instruções abaixo antes de submeterem seus artigos a Cadernos de Saúde Pública.

1. CSP aceita trabalhos para as seguintes seções:

1.1 Revisão: revisão crítica da literatura sobre temas pertinentes à Saúde Coletiva (máximo de 8.000 palavras e 5 ilustrações);

1.2 Artigos: resultado de pesquisa de natureza empírica, experimental ou conceitual (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

1.3 Comunicação Breve: relatando resultados preliminares de pesquisa, ou ainda resultados de estudos originais que possam ser apresentados de forma sucinta (máximo de 1.700 palavras e 3 ilustrações);

1.4 Debate: artigo teórico que se faz acompanhar de cartas críticas assinadas por autores de diferentes instituições, convidados pelas Editoras, seguidas de resposta do autor do artigo principal (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

1.5 Fórum: seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual (máximo de 12.000 palavras no total). Os interessados em submeter trabalhos para essa seção devem consultar o Conselho Editorial;

1.6 Perspectivas: análises de temas conjunturais, de interesse imediato, de importância para a Saúde Coletiva, em geral a convite das Editoras (máximo de 1.200 palavras).

1.7 Questões Metodológicas: artigo completo, cujo foco é a discussão, comparação e avaliação de aspectos metodológicos importantes para o campo, seja na área de desenho de estudos, análise de dados ou métodos qualitativos (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

1.8 Resenhas: resenha crítica de livro relacionado ao campo temático de CSP, publicado nos últimos dois anos (máximo de 1.200 palavras);

1.9 Cartas: crítica a artigo publicado em fascículo anterior de CSP (máximo de 1.200 palavras e 1 ilustração).

2. Normas para envio de artigos

2.1 CSP publica somente artigos inéditos e originais, e que não estejam em avaliação em nenhum outro periódico simultaneamente. Os autores devem declarar essas condições no processo de submissão. Caso seja identificada a publicação ou submissão simultânea em outro periódico o artigo será desconsiderado. A submissão simultânea de um artigo científico a mais de um periódico constitui grave falta de ética do autor.

2.2 Serão aceitas contribuições em Português, Inglês ou Espanhol.

2.3 Notas de rodapé e anexos não serão aceitos.

2.4 A contagem de palavras inclui o corpo do texto e as referências bibliográficas, conforme item 12.13.

3. Publicação de ensaios clínicos

3.1 Artigos que apresentem resultados parciais ou integrais de ensaios clínicos devem obrigatoriamente ser acompanhados do número e entidade de registro do ensaio clínico.

3.2 Essa exigência está de acordo com a recomendação do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (BIREME)/Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS)/Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre o Registro de Ensaios Clínicos a serem publicados a partir de orientações da OMS, do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) e do Workshop ICTPR.

3.3 As entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são:

- Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR)
- ClinicalTrials.gov
- International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN)

- Nederlands Trial Register (NTR)
- UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR)
- WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP)

4. Fontes de financiamento

4.1 Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo.

4.2 Fornecedores de materiais ou equipamentos, gratuitos ou com descontos, também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

4.3 No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

5. Conflito de interesses

5.1 Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos utilizados no estudo pelos fabricantes.

6. Colaboradores

6.1 Devem ser especificadas quais foram as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo.

6.2 Lembramos que os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do ICMJE, que determina o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada. Essas três condições devem ser integralmente atendidas.

7. Agradecimentos

7.1 Possíveis menções em agradecimentos incluem instituições que de alguma forma possibilitaram a realização da pesquisa e/ou pessoas que colaboraram com o estudo, mas que não preencheram os critérios para serem coautores.

8. Referências

8.1 As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos (p. ex.: Silva 1). As referências citadas somente em tabelas e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto. As referências citadas deverão ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos.

8.2 Todas as referências devem ser apresentadas de modo correto e completo. A veracidade das informações contidas na lista de referências é de responsabilidade do(s) autor(es).

8.3 No caso de usar algum software de gerenciamento de referências bibliográficas (p. ex.: EndNote), o(s) autor(es) deverá(ão) converter as referências para texto.

9. Nomenclatura

9.1 Devem ser observadas as regras de nomenclatura zoológica e botânica, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas.

10. Ética em pesquisas envolvendo seres humanos

10.1 A publicação de artigos que trazem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos está condicionada ao cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1996, 2000 e 2008), da Associação Médica Mundial.

10.2 Além disso, deve ser observado o atendimento a legislações específicas (quando houver) do país no qual a pesquisa foi realizada.

10.3 Artigos que apresentem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos deverão conter uma clara afirmação deste cumprimento (tal afirmação deverá constituir o último parágrafo da seção Métodos do artigo).

10.4 Após a aceitação do trabalho para publicação, todos os autores deverão assinar um formulário, a ser fornecido pela Secretaria Editorial de CSP, indicando o cumprimento integral de princípios éticos e legislações específicas.

10.5 O Conselho Editorial de CSP se reserva o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa.

11. Processo de submissão online

11.1 Os artigos devem ser submetidos eletronicamente por meio do sítio do Sistema de Avaliação e Gerenciamento de Artigos (SAGAS), disponível em: <http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/index.php>.

11.2 Outras formas de submissão não serão aceitas. As instruções completas para a submissão são apresentadas a seguir. No caso de dúvidas, entre em contato com o suporte sistema SAGAS pelo e-mail: csp-artigos@ensp.fiocruz.br.

11.3 Inicialmente o autor deve entrar no sistema SAGAS. Em seguida, inserir o nome do usuário e senha para ir à área restrita de gerenciamento de artigos. Novos usuários do sistema SAGAS devem realizar o cadastro em “Cadastre-se” na página inicial. Em caso de esquecimento de sua senha, solicite o envio automático da mesma em “Esqueceu sua senha? Clique aqui”.

11.4 Para novos usuários do sistema SAGAS. Após clicar em “Cadastre-se” você será direcionado para o cadastro no sistema SAGAS. Digite seu nome, endereço, e-mail, telefone, instituição.

12. Envio do artigo

12.1 A submissão online é feita na área restrita de gerenciamento de artigos: <http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/index.php>. O autor deve acessar a “Central de Autor” e selecionar o link “Submeta um novo artigo”.

12.2 A primeira etapa do processo de submissão consiste na verificação às normas de publicação de CSP.

O artigo somente será avaliado pela Secretaria Editorial de CSP se cumprir todas as normas de publicação.

12.3 Na segunda etapa são inseridos os dados referentes ao artigo: título, título resumido, área de concentração, palavras-chave, informações sobre financiamento e conflito de interesses, resumos e agradecimentos, quando necessário. Se desejar, o autor pode sugerir potenciais consultores (nome, e-mail e instituição) que ele julgue capaz de avaliar o artigo.

12.4 O título completo (nos idiomas Português, Inglês e Espanhol) deve ser conciso e informativo, com no máximo 150 caracteres com espaços.

12.5 O título resumido poderá ter máximo de 70 caracteres com espaços.

12.6 As palavras-chave (mínimo de 3 e máximo de 5 no idioma original do artigo) devem constar na base da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS).

12.7 Resumo. Com exceção das contribuições enviadas às seções Resenha, Cartas ou Perspectivas, todos os artigos submetidos deverão ter resumo em Português, Inglês e Espanhol. Cada resumo pode ter no máximo 1.100 caracteres com espaço.

12.8 Agradecimentos. Possíveis agradecimentos às instituições e/ou pessoas poderão ter no máximo 500 caracteres com espaço.

12.9 Na terceira etapa são incluídos o(s) nome(s) do(s) autor(es) do artigo, respectiva(s) instituição(ões) por extenso, com endereço completo, telefone e e-mail, bem como a colaboração de cada um. O autor que cadastrar o artigo automaticamente será incluído como autor de artigo. A ordem dos nomes dos autores deve ser a mesma da publicação.

12.10 Na quarta etapa é feita a transferência do arquivo com o corpo do texto e as referências.

12.11 O arquivo com o texto do artigo deve estar nos formatos DOC (Microsoft Word), RTF (RichTextFormat) ou ODT (Open DocumentText) e não deve ultrapassar 1 MB.

12.12 O texto deve ser apresentado em espaço 1,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12.

12.13 O arquivo com o texto deve conter somente o corpo do artigo e as referências bibliográficas. Os seguintes itens deverão ser inseridos em campos à parte durante o processo de submissão: resumos; nome(s) do(s) autor(es), afiliação ou qualquer outra informação que identifique o(s) autor(es); agradecimentos e colaborações; ilustrações (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

12.14 Na quinta etapa são transferidos os arquivos das ilustrações do artigo (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas), quando necessário. Cada ilustração deve ser enviada em arquivo separado clicando em "Transferir".

12.15 Ilustrações. O número de ilustrações deve ser mantido ao mínimo, conforme especificado no item 1 (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

12.16 Os autores deverão arcar com os custos referentes ao material ilustrativo que ultrapasse o limite e também com os custos adicionais para publicação de figuras em cores.

12.17 Os autores devem obter autorização, por escrito, dos detentores dos direitos de reprodução de ilustrações que já tenham sido publicadas anteriormente.

12.18 Tabelas. As tabelas podem ter 17cm de largura, considerando fonte de tamanho 9. Devem ser submetidas em arquivo de texto: DOC (Microsoft Word), RTF (RichTextFormat) ou ODT (Open DocumentText). As tabelas devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

12.19 Figuras. Os seguintes tipos de figuras serão aceitos por CSP: Mapas, Gráficos, Imagens de satélite, Fotografias e Organogramas, e Fluxogramas.

12.20 Os mapas devem ser submetidos em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: WMF (Windows MetaFile), EPS (EncapsuledPostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics). Nota: os mapas gerados originalmente em formato de imagem e depois exportados para o formato vetorial não serão aceitos.

12.21 Os gráficos devem ser submetidos em formato vetorial e serão aceitos nos seguintes tipos de arquivo: XLS (Microsoft Excel), ODS (Open DocumentSpreadsheet), WMF (Windows MetaFile), EPS (EncapsuledPostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

12.22 As imagens de satélite e fotografias devem ser submetidas nos seguintes tipos de arquivo: TIFF (TaggedImage File Format) ou BMP (Bitmap). A resolução mínima deve ser de 300dpi (pontos por polegada), com tamanho mínimo de 17,5cm de largura.

12.23 Os organogramas e fluxogramas devem ser submetidos em arquivo de texto ou em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: DOC (Microsoft Word), RTF (RichTextFormat), ODT (Open DocumentText), WMF (Windows MetaFile), EPS (EncapsuledPostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

12.24 As figuras devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

12.25 Títulos e legendas de figuras devem ser apresentados em arquivo de texto separado dos arquivos das figuras.

12.26 Formato vetorial. O desenho vetorial é originado a partir de descrições geométricas de formas e normalmente é composto por curvas, elipses, polígonos, texto, entre outros elementos, isto é, utilizam vetores matemáticos para sua descrição.

12.27 Finalização da submissão. Ao concluir o processo de transferência de todos os arquivos, clique em "Finalizar Submissão".

12.28 Confirmação da submissão. Após a finalização da submissão o autor receberá uma mensagem por e-mail confirmando o recebimento do artigo pelos CSP. Caso não receba o e-mail de confirmação dentro de 24 horas, entre em contato com a Secretaria Editorial de CSP por meio do e-mail: csp-artigos@ensp.fiocruz.br.

13. Acompanhamento do processo de avaliação do artigo

13.1 O autor poderá acompanhar o fluxo editorial do artigo pelo sistema SAGAS. As decisões sobre o artigo serão comunicadas por e-mail e disponibilizadas no sistema SAGAS.

13.2 O contato com a Secretaria Editorial de CSP deverá ser feito através do sistema SAGAS.

14. Envio de novas versões do artigo

14.1 Novas versões do artigo devem ser encaminhadas usando-se a área restrita de gerenciamento de artigos do sistema SAGAS, acessando o artigo e utilizando o link "Submeter nova versão".

15. Prova de prelo

15.1 Após a aprovação do artigo, a prova de prelo será enviada para o autor de correspondência por e-mail. Para visualizar a prova do artigo será necessário o programa Adobe Reader ou similar. Esse programa pode ser instalado gratuitamente pelo site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

15.2 A prova de prelo revisada e as declarações devidamente assinadas deverão ser encaminhadas para a Secretaria Editorial de CSP por e-mail (cadernos@ensp.fiocruz.br)

ou por fax +55(21)2598-2737 dentro do prazo de 72 horas após seu recebimento pelo autor de correspondência.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do Projeto: Associação entre a Infecção por Papilomavírus Humano e Doença Arterial Coronariana em Mulheres Climatéricas.

Prezada Senhora,

Você está sendo convidada para participar do projeto de pesquisa sobre **“Associação entre a Infecção por Papilomavírus Humano e Doença Arterial Coronariana em Mulheres Climatéricas”**, sob responsabilidade da Dra. Luciane Maria Oliveira Brito. Esta pesquisa tem como finalidade investigar a possível associação entre um vírus que vive no colo do útero da mulher, o HPV, e uma doença que prejudica o coração, a Doença Arterial Coronariana, além de outras situações ou hábitos que possam levar a essa doença.

Se você aceitar participar desta pesquisa, será necessário responder um questionário referente a dados pessoais, biológicos e sociais; coletar amostras de sangue e de urina e realizar exame ginecológico no Ambulatório de Ginecologia do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário/ UFMA (CEPEC). A coleta de sangue será aproximadamente de 8 mL, que será guardado em tubos identificados e utilizados para a realização de exames laboratoriais somente para esta pesquisa (glicemia de jejum, hemoglobina glicada, insulina de jejum, perfil lipídico, PCR, creatinina e uréia). Essa coleta pode gerar desconfortos, porém mínimos e completamente contornáveis (sensibilidade e escurecimento no local da coleta, possibilidade de diminuição da pressão arterial, esporadicamente náuseas). Para o exame de urina, você precisará guardar toda a quantidade que urinar por 24 horas em um recipiente e armazená-lo em temperatura ambiente ou na geladeira. O exame ginecológico será feito com o mínimo de constrangimento possível e por uma médica experiente.

Os benefícios que você terá ao participar deste estudo será uma assistência ginecológica de forma totalmente gratuita, durante a realização da pesquisa, com realização de exames laboratoriais, juntamente com sua interpretação e explicação se você desejar (opção para ser marcada abaixo) ou quando se façam necessários (exames alterados que necessitarão de encaminhamento médico). Além disso, você estará contribuindo para o esclarecimento do papel do HPV e de outras associações no desenvolvimento da Doença Arterial Coronariana.

Todas as informações coletadas serão estritamente confidenciais e utilizadas somente neste estudo, não haverá armazenamento de amostras de sangue para o desenvolvimento de outros trabalhos. Os seus dados serão identificados em um código e, não, com o nome. Apenas os membros da pesquisa terão conhecimento dos dados, assegurando assim a sua privacidade. Você poderá sair da pesquisa em qualquer momento, bastando para isso, comunicar aos responsáveis pela investigação, sem prejuízo algum para o seu atendimento.

Não haverá despesa financeira para você e nenhum procedimento que possa prejudicar sua saúde, portanto, não haverá indenização por parte da equipe científica e da Instituição responsável. Sempre que tiver dúvidas ou necessitar de esclarecimentos sobre a pesquisa, você poderá contatar a pesquisadora responsável Profa. Luciane Maria Oliveira Brito pelo número (98) 3232-0286, ou sobre os aspectos éticos, contatar a Coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário, situado à Barão de Itapary, nº227, Centro ou pelo telefone (98) 2109-1242. Em caso de denúncias ou questões éticas relativas à pesquisa, o CEP também deverá ser contatado.

Se concordar em participar, você deverá assinar este termo de consentimento em duas vias, ficando uma com você e a outra com o pesquisador e todas as páginas das duas cópias serão rubricadas.

() desejo ser informado sobre os resultados dos meus exames laboratoriais

() não desejo ser informado sobre os resultados dos meus exames laboratoriais.

NOME DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito – Praça Gonçalves Dias 21, 2º andar, Prédio da Medicina, telefone: 3232-0286.

São Luís _____ de _____ 20____.

Assinatura da paciente

Profa. Luciane Brito – Pesquisadora responsável