

LARISSA ZATORRE ALMEIDA

INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO, *Chlamydia trachomatis*,
*Gardnerellavaginalis*E *Trichomonasvaginalis* EM MULHERES PROFISSIONAIS DO
SEXO, CAMPO GRANDE, MS

CAMPO GRANDE

2016

LARISSA ZATORRE ALMEIDA

INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* E *Trichomonas vaginalis* EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO,
CAMPO GRANDE, MS

Dissertação apresentada como exigência para obtenção do grau de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, do curso de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, MS (FAMED/UFMS).

Orientação: Profa. Dra. Inês Aparecida Tozetti

**CAMPO GRANDE
2016**



Serviço Público Federal
Ministério da Educação

Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Coordenadoria de Pós-Graduação (CPG/PROPP)



Ata de Defesa de Dissertação
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias
Mestrado

Aos quatro dias do mês de março do ano de dois mil e dezesseis, às treze horas e trinta minutos, no Anfiteatro II, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Ines Aparecida Tozetti (UFMS), Alda Maria Teixeira Ferreira (UFMS) e Maria Auxiliadora Gomes Sandim Abdo (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: **LARISSA ZATORRE ALMEIDA**, CPF 02940968179, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, Curso de Mestrado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "**Infecção por Papilomavírus humano, Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis e Trichomonas vaginalis em mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS**" e orientação de Ines Aparecida Tozetti. A presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, a presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu Parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR

Dra. Ines Aparecida Tozetti

Dra. Alda Maria Teixeira Ferreira

Dra. Maria Auxiliadora Gomes Sandim Abdo

Dra. Cacilda Tezelli Junqueira Padovani (Suplente)

ASSINATURA

AValiação

RESULTADO FINAL:

☒ Aprovação

☐ Aprovação com revisão

☐ Reprovação

OBSERVAÇÕES:

Nada mais havendo a ser tratado, a Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

Presidente da Banca Examinadora

Aluna

Ao meu DEUS que não me desampara e a minha família que me apoiou. Sem vocês esta conquista não seria possível. Mãe, pai e ao meu amor, obrigada por toda educação, carinho e dedicação.

Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, meu refúgio e abrigo, que em todos os momentos está presente conduzindo minhas decisões e nas horas difíceis me dando forças quando pensei não ter. Obrigada Senhor por todas as conquistas e pelas graças recebidas no decorrer desses anos, em cada detalhe sei que esteve comigo.

Aos amores de minha vida, minha família, mesmo na distância me deram apoio, incentivo e confiança. Minha mãe em especial, guerreira e vitoriosa, me ensinou desde pequena a importância do estudo, se esforçou para dar o melhor para mim, mesmo sendo só nós duas, sempre tive o exemplo em casa de uma mãe que lutou pelos seus sonhos. Ao meu pai que sempre me apoiou em todas as decisões, me deu conselhos quando precisei e me incentivou em busca dos meus objetivos. A tia Sônia Petterson e aos meus irmãos, as conquistas por mim alcançadas foram vivenciadas e comemoradas por vocês, sem o incentivo e dedicação de cada um nada disso seria possível. Amo vocês!

Ao meu esposo Fernando Augusto Chiad Lugo, que me incentivou a ser melhor, me dando forças, apoiando, sendo compreensível nos momentos em que eu não estive presente e muitas vezes mesmo sem entender o assunto me ajudava, obrigada meu amor por tudo. Ao meu sogro Denas Barbosa Lugo, que acreditou em meus sonhos e vibrou com as minhas conquistas, você foi um exemplo de pessoa a se seguir, sei que está olhando por nós e comemorando por mais uma etapa vencida em nossas vidas. A minha sogra Ângela Mylu Chiad Lugo, uma segunda mãe e amiga, que me deu forças nos momentos em que vocês mais precisava, obrigada pelo carinho e confiança, este título teve o apoio de cada um de vocês. Amo vocês!

À professora Dra. Inês Aparecida Tozetti, minha orientadora, amiga, conselheira e muitas vezes uma mãe. Agradeço a Deus por ter você como orientadora, tenho a sua imagem como exemplo profissional, a sua dedicação em tudo que faz, sua força para enfrentar os problemas e admirável inteligência. Desde a graduação você foi capaz de identificar em uma aluna uma pesquisadora, mesmo

que ninguém visse o mesmo. Obrigada pela confiança e por toda a compreensão que sempre teve comigo.

À professora Dra. Alda Teixeira Ferreira, amiga e extremamente prestativa. Sempre procurei escutar os seus conselhos profissionais até as críticas, pois foram elas que me fizeram crescer e com certeza ainda farão. Admiro a sua determinação, paixão pelo o que faz, paciência e alegria, os meus dias se tornam mais tranquilos e engraçados com você. A sua participação foi essencial em todas as etapas, obrigada Tchê!

À professora Dra. Cacilda Tezelli Junqueira, que sempre esteve disposta a ajudar ou mesmo dar conselhos quando necessário, obrigada por todo carinho, incentivo, dedicação e companheirismo. Tenho a honra de conviver com pessoas maravilhosas que eu admiro em todos os momentos. Caci todas as vezes que eu te escutei me ajudaram a tomar decisões, muito obrigada por tudo.

Ao professor Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes, obrigada pela colaboração neste trabalho. Sua paciência em ensinar e em me fazer entender a análise estatística, facilitou algo que parecia incompreensível.

À professora Dra. Maria Auxiliadora Gomes Sandim, obrigada por sua valiosa contribuição no exame de qualificação, pela participação da banca de defesa, pelo seu imenso carinho com os alunos e como não agradecer o famoso “beijo da Dodó”.

Ao professor Dr. André Fonseca, obrigada pelo apoio e compreensão.

À professora Dra. Ana Rita Coimbra Motta de Castro, obrigada pela contribuição e pelas amostras cedidas para a análise.

À minha grande amiga Camila Maretti Bonin, nesses 6 anos no laboratório um dos maiores presentes que ganhei foi a sua amizade. Obrigada por todo o carinho, pelas vezes que me escutou, pelos sábios conselhos e é claro pelo “*coaching*”. Toda a sua coragem e fortaleza me encorajam a lutar pelos meus objetivos. Obrigada minha amiga, amo você!

À amiga Ana Paula Machado, obrigada por todo conselho, apoio e colaboração na execução desde trabalho. Tenho você como exemplo de dedicação, coragem e empenho. Sempre acreditou em mim e me incentivou, obrigada pela sua amizade em todos os momentos.

Ao Leandro Sobrinho Ávila, companheiro desde o estágio voluntário, obrigada pelo apoio e amizade.

Aos amigos Thiago Theodoro, Flávia Gatto e Élvia obrigada pela contribuição neste trabalho, pela participação nas coletas das amostras, cada membro da equipe contribuiu para adquirir o conhecimento necessário para a execução deste trabalho, obrigada a todos.

Aos alunos Mariana Calarge, Karla Mendes e Júlio Menta, pelo companheirismo de cada um e pelo apoio. Todos contribuíram com conhecimento e auxílio, o resultado deste trabalho se deve ao empenho de cada um da equipe, obrigada a todos.

À equipe do laboratório, Gustavo, Leandro, Felipe, Cynthia, Caroline, Tiago e Fabíola, obrigada pelo apoio e companheirismo nestes anos.

Às mulheres profissionais do sexo que participaram voluntariamente da pesquisa, muito obrigada. Sem vocês a execução deste trabalho não seria possível.

À Gina Jonasson Mousquer, obrigada pela colaboração no trabalho com a coleta das amostras.

Ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela oportunidade, à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (FUNDECT/MS), pelo suporte financeiro e à CAPES pela concessão da bolsa.

“Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo, à sombra do Onipotente descansará.

Direi ao Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei.

Mil cairão ao teu lado, e dez mil à tua direita, mas não chegará a ti.

Porque tu, ó Senhor, és o meu refúgio. No Altíssimo fizeste a tua habitação.

Nenhum mal te sucederá, nem praga alguma chegará à tua tenda.

Porque aos seus anjos dará ordem a teu respeito, para te guardarem em todos os teus caminhos.

Eles te sustentarão em suas mãos, para que não tropeces com o teu pé em pedra.

Porquanto tão encarecidamente me amou, também eu o livrarei; pô-lo-ei em retiro alto, porque conheceu o meu nome.

Ele me invocará, e eu lhe responderei; estarei com ele na angústia; dela o retirarei, e o glorificarei.

Fartá-lo-ei com longos dias, e lhe mostrarei a minha salvação. ”

RESUMO

A infecção persistente pelos tipos de alto risco oncogênico de Papilomavírus humano (HR-HPV) está intimamente associada ao câncer cervical. As coinfeções por outros micro-organismos como *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* na região endocervical, podem potencializar a infecção pelo Papilomavírus humano (HPV), facilitando a entrada e persistência viral. A transmissão destes patógenos ocorre principalmente por contato sexual, portanto as mulheres profissionais do sexo representam um grupo de risco para estas infecções. O presente estudo teve como objetivo determinar a infecção pelo HPV, os principais tipos virais e as coinfeções por *C. trachomatis*, *G. vaginalis* e *T. vaginalis* em amostras autocoletadas de mulheres profissionais do sexo, Campo Grande – MS. A detecção do DNA de HPV foi realizada utilizando os *primers* PGMY 09/11 (450pb) e a integridade das amostras amplificando o gene para β -globina (GH20/PC04 – 286pb). A genotipagem das amostras positivas foi realizada por Reação de Polimerização em Cadeia Tipo Específica (TS-PCR) e Polimorfismo no Comprimento do Fragmento de Restrição (RFLP). Após a genotipagem as amostras foram submetidas, em separado, à PCR para a detecção de coinfeção por *C. trachomatis* com os *primers* KL 1/2 (240pb), *G. vaginalis* com os *primers* GV 1/2 (310pb) e *T. vaginalis* com os *primers* TVK 3/7 (300pb). Os resultados foram visualizados em gel de agarose 1,5% e 3% e fotodocumentados (UVP *software* Doc. It-LS versão 7.1), este trabalho foi aprovado no CEP UFMS nº 873.060. Foi encontrada frequência de 19,4% de HPV-DNA, sendo os tipos HPV31, 6 e 53 os mais frequentes neste estudo. Houve predominância de HR-HPV e elevada presença de infecções múltiplas (84,61%), ou seja, por mais de um tipo de HPV. A presença de coinfeção por HPV e outros micro-organismos foi detectada tanto com *C. trachomatis*, quanto com *G. vaginalis*. Observou-se também que mulheres profissionais do sexo que não fazem uso de preservativos e as que não realizam o exame citológico estão predispostas a adquirir a infecção pelo HPV. Nossos achados ressaltam a importância de estudos mais abrangentes entre as populações de risco, auxiliando estratégias para a implementação de medidas de conscientização, bem como auxiliar em estudos futuros para introdução de vacinas contra os tipos virais mais predominantes, de acordo com as diferenças entre as regiões geográficas.

Palavras-chave: Papilomavírus humano; *Chlamydia trachomatis*; *Gardnerella vaginalis*; *Trichomonas vaginalis*; Mulheres profissionais do sexo.

ABSTRACT

Persistent infection with oncogenic types of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) is directly associated with cervical cancer. Other micro-organisms coinfection such as *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis* in the endocervical region may enhance the infection by the human papillomavirus (HPV), making the entry and viral persistence become easy. The transmission of these pathogens occurs primarily through sexual contact, so the women sex workers are an infection risky group. This study aimed at determining the HPV infection, the major viral types and *C. trachomatis*, *G. vaginalis* and *T. vaginalis* coinfections in self-collected samples of female sex professionals, Campo Grande - MS. HPV DNA detection was performed using primers PGMY 09/11 (450 bp) and sample integrity amplifying the gene for β -globin (GH20 / PC04 - 286 bp). Positive samples genotyping was performed by (TS-PCR) Specific Type Chain Polymerization Reaction and Restriction Fragment Polymorphism Length (RFLP). After genotyping samples were subjected to separate PCR for coinfection detection with *C. trachomatis* primers KL 1/2 (240 bp), *G. vaginalis* with GV 1/2 primers (310 bp) and *T. vaginalis* 3/7 TVK with the primers (300 bp). Results were viewed by 1.5% and 3% agarose gel and (UVP software Doc. It-LS version 7.1) photo-documented as well. In addition this study was approved by CEP UFMS No. 873,060. 19.4% of HPV-DNA had been founded, which are HPV types 31, 6 and 53 the most frequent in this study. It was noticed HR-HPV predominance and high presence of multiple infections (84.61%) that is more than one HPV type. The presence of co-infection with HPV and other micro-organisms was detected with both *C. trachomatis* and with *G. vaginalis*. It was also observed that female sex professionals who do not use condoms and do not perform the screening test are predisposed to acquiring HPV infection. Our findings point out the importance of further comprehensive studies on the populations at risk, supporting strategies to implement awareness-raising measures, and also assisting in future studies on the purpose of introducing vaccines against the most prevalent viral types, according to different geographical regions.

Keywords: Human Papillomavirus; *Chlamydia trachomatis*; *Gardnerella vaginalis*; *Trichomonas vaginalis*; women sex workers

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição das mulheres profissionais do sexo de acordo com as variáveis, faixa etária, grau de escolaridade e idade da primeira relação sexual em Campo Grande, MS – 2011.....	59
Tabela 2	Distribuição das variáveis de acordo com os métodos contraceptivos, o uso de terapia hormonal e relato de DST entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	60
Tabela 3	Positividade para o DNA de HPV segundo as variáveis socioepidemiológicas em mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	62
Tabela 4	Positividade para HPV de alto risco oncogênico segundo as variáveis socioepidemiológicas em mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	67
Tabela 5	Presença de Infecção múltipla por HPV segundo as variáveis socioepidemiológicas em mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS – 2011.....	69
Tabela 6	Papilomavírus humano (HPV), <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> e <i>Trichomonas vaginalis</i> em amostras do canal cervical e cérvix uterina, autocoletadas de mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS - 2011.....	72
Tabela 7	Distribuição das amostras segundo a positividade para o DNA do HPV, presença de <i>G. vaginalis</i> , <i>C. trachomatis</i> e <i>T. vaginalis</i> entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	73
Tabela 8	Positividade para HR-HPV segundo a presença de <i>G. vaginalis</i> , <i>C. trachomatis</i> e <i>T. vaginalis</i> , entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	73
Tabela 9	Infecção múltipla segundo a presença de <i>G. vaginalis</i> , <i>C.</i>	

<i>trachomatis</i> e <i>T. vaginalis</i> entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	74
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática do genoma circular do HPV 16..	33
Figura 2	Distribuição de frequência das porcentagens de identidade de pares de sequências de nucleótidos na região L1 de 118 tipos de Papilomavírus.....	34
Figura 3	Árvore filogenética contendo 118 tipos de Papilomavírus.....	35
Figura 4	Infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) com a integração do DNA ao do hospedeiro e o seu papel na progressão do epitélio normal para o carcinoma.....	37
Figura 5	Taxa de incidência e estimativa para 2016 para os tipos de câncer mais frequentes em mulheres.....	41
Figura 6	. PCR para detecção de HPV-DNA (450pb) e β -globina (286pb) em amostras de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS – 2011. L: marcador de massa molecular (100pb); Co: Controle positivo; No: controle negativo; 1-13: amostras analisadas.....	61
Figura 7	Distribuição da positividade para DNA de HPV de acordo com a classificação por faixa etária, em amostras de mulheres profissionais do sexo em Campo Grande, MS – 2011.....	63
Figura 8	Distribuição dos tipos virais identificados segundo a oncogenicidade e de acordo com o método de genotipagem utilizado nas amostras de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS – 2011.....	64
Figura 9	Distribuição dos tipos virais, identificados por PCR tipo-específica, entre as amostras positivas para o HPV-DNA de mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	65
Figura 10	Distribuição dos tipos virais, identificados por RFLP, entre as amostras positivas para o HPV-DNA de mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.....	66

- Figura 11** Perfil de restrição HR-HPV 86, em amostras de canal vaginal e cérvix uterina de mulher profissional do sexo, Campo Grande, MS - 2011. Leadder: marcador de massa molecular/Leadder 100pb e Leadder 50pb, Co: controle negativo, *PST* I; *Hae* III; *Dde* I; *Rsa* I: enzimas de restrição..... 66
- Figura 12** PCR para detecção de *Chlamydia trachomatis* (240pb) e *Gardenerella vaginalis* (310pb) em amostras do canal vaginal e da cérvix de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS - 2011. Leadder: marcador de massa molecular/Ladder 100pb e Leadder 50pb, CI: controle positivo para *C. trachomatis*; CII: controle positivo para *G. vaginalis*, NO: controle negativo..... 71
- Figura 13** PCR para detecção de *Trichomonas vaginalis* (300pb) em amostras de canal vaginal e endocérvice de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS - 2011 Leadder: marcador de massa molecular/Ladder 100pb, Co: controle positivo; NO: controle negativo..... 72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Regiões genômicas do HPV e as respectivas atividades regulatórias das proteínas produzidas.....	36
Quadro 2	<i>Primes</i> utilizados na genotipagem por TS-PCR de acordo com o tamanho do fragmento, sequência, região de anelamento e temperatura de <i>melting</i> (Tm).....	52
Quadro 3	Tipos virais a serem detectados de acordo com as condições utilizadas na TS-PCR.....	53
Quadro 4	Endonucleases de restrição para análise por RFLP.....	54
Quadro 5	Genotipagem das amostras positivas para DNA de HPV identificadas em amostras de cérvix uterina de mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS – 2011.....	68

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

C. trachomatis: Chlamydia trachomatis

CCBS: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

DST: Doença Sexualmente Transmissível

E: *Early* (região precoce)

EDTA: Ácido etilenediaminotetrácetico

G. vaginalis: Gardnerella vaginalis

HPV: Papilomavírus humano

HR-HPV: Tipo de HPV de alto risco oncogênico

HSIL: Lesão Intra-Epitelial Escamosa de Alto Grau

IM: Infecção Múltipla

INCA: Instituto Nacional do Câncer

IS: Infecção Simples

IST: Infecção Sexualmente Transmissível

L: *Late* (região tardia)

LABIMUNOBIO: Laboratório de Imunologia, Bioensaios e Biologia Molecular

LCR: Reação em cadeia da ligase

LR-HPV: Tipo de HPV de Baixo Risco Oncogênico

LSIL: Lesão Intra-Epitelial Escamosa de Baixo Grau

NIC (I, II e III): Neoplasia Intra-Epitelial Cervica, grau I, II e III.

OR: *odds ration*

ORF: *Open reading frame*

p: Teste Exato de Fisher.

p53: Proteína P53

PCR: Reação de Polimerização em Cadeia

pRB: Proteína do retinoblastoma

Primer (F): primer forward

Primer (R): primer reverse

qPCR: PCR em Tempo Real

RFLP: Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição

RNA: Ácido Ribonucléico

rRNA: RNA Mensageiro

T. vaginalis: Trichomonas vaginalis

TBE 1X: Tampão Tris 89mM, Acido Bórico 89mM, EDTA 2mM em H₂O Ultra pura

T_m: Temperatura de *melting*

TS-PCR: PCR Tipo-Específica

VLP: *Vírus Like Particle*

X²: Teste Qui-quadrado de Pearson

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
2 REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1 HISTÓRICO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO	31
2.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO	32
2.2.1 Estrutura e organização gênica	32
2.2.2 Filogenética e taxonomia	33
2.2.3 Patogênese viral	35
2.3 MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DO HPV	38
2.4 EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR HPV EM MULHERES PROFISSIONAIS DO SEXO	41
2.5 COINFEÇÃO POR OUTROS MICRO-ORGANISMOS	43
2.6 EFICÁCIA DOS MÉTODOS DE COLETAS	45
2.7 PROFILAXIA DAS INFECÇÕES	45
3 OBJETIVOS.....	47
3.1 OBJETIVO GERAL	47
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	47
4 MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1 TIPO E LOCAL DE ESTUDO	49
4.2 AMOSTRAS E DADOS SECUNDÁRIOS INCLUÍDOS NO ESTUDO	49
4.3 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	50
4.4. QUANTIFICAÇÃO DO DNA EXTRAÍDO.....	50
4.5 PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO PARA A REAÇÃO DE POLIMERIZAÇÃO EM CADEIA (PCR)	50
4.6 DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DO HPV-DNA EM AMOSTRAS DE CÉRVICE UTERINA.....	50
4.6.1 Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) para detecção de HPV DNA e controle endógeno da reação.	50
4.6.2 Genotipagem viral por Reação de Polimerização em Cadeia Tipo Específica (TS-PCR).....	51
4.6.3 Purificação e quantificação do produto da PCR para execução da RFLP	54
4.6.4 Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP)	54
4.7 DETECÇÃO DE OUTROS MICRO-ORGANISMOS	55
4.7.1 PCR para o DNA de <i>Gardnerella vaginalis</i>	55
4.7.2 PCR para o DNA de <i>Chlamydia trachomatis</i>	55
4.7.3 PCR para DNA de <i>Trichomonas vaginalis</i>	56
4.8 DETECÇÃO DO PRODUTO DA PCR EM GEL DE AGAROSE	56
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	57
4.10 ASPECTOS ÉTICOS	57
5 RESULTADOS.....	59
5.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO	59
5.2 DETECÇÃO DO HPV-DNA	61
5.3 IDENTIFICAÇÃO DOS TIPOS VIRAIS	63

5.3.1 PCR tipo-específica.....	64
5.3.2 Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP).....	65
5.3.3 Infecções múltiplas.....	68
5.4 DETECÇÃO DE COINFECÇÕES	70
5.4.1 Detecção de <i>Gardnerella vaginalis</i>	70
5.4.2 Detecção de <i>Chlamydia trachomatis</i>	70
5.4.3 Detecção de <i>Trichomonas vaginalis</i>	71
5.4.4 Detecção de coinfeção por HPV, <i>G. vaginalis</i> , <i>C. trachomatis</i> e <i>T. vaginalis</i>	72
6 DISCUSSÃO	76
7 CONCLUSÃO.....	86
REFERÊNCIAS	88
ANEXO A	105
ANEXO B	107
ANEXO C	108
ANEXO D	111

1INTRODUÇÃO

A infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) é considerada uma Infecção Sexualmente Transmissível (IST) e alguns comportamentos de risco, tais como, elevado número de parceiros sexuais, práticas etilistas e tabagistas, o não uso de preservativo, bem como a presença de outros micro-organismos, podem contribuir para a patogênese viral.

As exposições constantes aos fatores de risco tornam as mulheres profissionais do sexo mais vulneráveis à infecção por HPV e por outros patógenos que são transmitidos pelo contato sexual. A prevalência e os tipos virais de HPV detectados entre essas mulheres não são bem definidas, variando de acordo com cada região geográfica. Ressalta-se que na região Centro-Oeste do Brasil não há estudos avaliando a infecção por HPV.

Parece que a associação do HPV a outros patógenos pode contribuir para maior virulência e dessa forma, induzir a progressão neoplásica. Dentre esses micro-organismos destacam-se: *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*, sendo que, há discrepâncias na literatura quanto a essas associações.

O método utilizado para a obtenção de amostras cérvico-vaginais também influencia no diagnóstico destas infecções sendo que a técnica de autocoleta de células da cérvix e canal vaginal amplia a cobertura populacional, pois pode abranger uma população de difícil acesso ao serviço de saúde, apresentando-se com método de obtenção de material genético suficiente para a detecção da presença dos micro-organismos em relação à técnica convencional de coleta. Quanto ao diagnóstico, métodos que buscam a presença do material genético viral, tais como, a técnica de Reação de Polimerização em Cadeia (PCR), tem se mostrado mais eficaz, pois se baseiam não apenas nas alterações morfológicas do epitélio, mas sim na presença de DNA, detectando o HPV mesmo em estado de latência na célula, além disso, possibilita identificar o material genético de outros micro-organismos.

Devido à exposição constante aos fatores de risco, o grupo de mulheres profissionais do sexo é considerado vulnerável para a aquisição de infecções, tais como as Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST), que podem facilitar a infecção

por HPV e aumentar sua oncogenicidade. Dessa forma tornam-se de grande importância os estudos epidemiológicos e socioeconômicos, nesta população, para investigação das características da infecção por HPV e a presença de coinfeções.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico do Papilomavírus humano

As verrugas genitais são conhecidas e relacionadas à promiscuidade sexual desde a Grécia antiga. Estas lesões foram descritas por Virchow (1867) como “pequenas elevações semelhantes à couve-flor”, denominadas de condilomas e posteriormente classificadas como condiloma acuminado ou plano (*apud* ORIEL, 1971).

A semelhança histológica entre as verrugas de pele e as genitais foi observada por Gèmy (1893), porém o aspecto histológico não era suficiente para identificar a etiologia das lesões. Em 1907, Ciuffo, iniciou experimentos de inoculação do extrato filtrado das verrugas para produzi-las em sua própria mão, identificando a etiologia viral da infecção. Há relatos também de lesões em outros animais, como bovinos, cachorros e coelhos, relatando que o vírus é altamente espécie-específico e epiteliotrópico (*Apud*ORIEL, 1971; SHOPE; HURT, 1933).

No século XV na Europa, os condilomas foram associados às manifestações de sífilis e gonorreia, até que, após a identificação do agente etiológico da gonorreia, algumas pacientes com verrugas genitais não apresentaram a bactéria (*Apud* ORIEL, 1971). A verdadeira etiologia só pôde ser demonstrada por Strauss e colaboradores (1949) através da microscopia eletrônica que encontraram partículas virais com padrão cristalino em tecidos de verrugas cutâneas. Mais tarde, concluiu-se que as verrugas eram causadas por vírus idêntico ou com forte relação ao Papilomavírus humano (HPV) (STRAUSS *et al.*, 1949).

Os estudos bioquímicos e imunológicos realizados com partículas virais na década de 60 sugeriram a existência de um único tipo de HPV (ROWSON; MAHY, 1967) com a evolução da biologia molecular foi possível caracterizar a sua família viral. Em 1974, identificaram a pluralidade dos tipos de HPV baseado na heterogeneidade de regiões do seu DNA. Posteriormente, Zur Hausen (1977) sugeriu o HPV como agente etiológico do câncer cervical (GISSMANN; DE VILLIERS; ZUR HAUSEN, 1982).

Atualmente, são descritos mais de 230 tipos de HPV e estima-se que aproximadamente 75% da população sexualmente ativa no mundo entrarão em contato com algum genótipo viral durante a sua vida. Ressalta-se também que a

infecção causada pelo HPV é a mais frequente no mundo entre as mulheres, sendo classificada como IST (DOORBAR, *et al.*, 2012; FEDREZZI, 2011; QUEIROZ, CANO, ZAIA, 2007; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007).

2.2 Papilomavírus humano

2.2.1 Estrutura e organização gênica

Os Papilomavírus pertencem à família Papoviridae, que inclui 16 gêneros diferentes. Os tipos virais encontrados em humanos são divididos em 5 gêneros, definidos por sua similaridade na sequência de DNA. O HPV é descrito como uma partícula pequena, não envelopada, icosaédrica de aproximadamente 50-60nm de diâmetro. O seu genoma é composto por uma fita de DNA circular com aproximadamente 8.000pb e o seu capsídeo é formado por cerca de 72 subunidades proteicas (DOORBAR, *et al.*, 2012; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007).

O genoma do HPV é dividido em duas regiões principais, *early* (E) e *late* (L) que são compostas por ORFs (*open reading frames*) responsáveis pela codificação de proteínas virais, estruturais e não estruturais. A região *early* é constituída por genes que são responsáveis pela codificação de proteínas envolvidas no processo de replicação viral e, no processo de imortalização celular, para os HPV classificados como alto risco oncogênico. Já a região *late* é responsável pela codificação de proteínas estruturais necessárias à formação do capsídeo. Esta região possui dois genes: L1, que é altamente conservado entre os diferentes tipos de HPV; e L2, que apresenta certa taxa de variação (Figura 1) (DOORBAR, 2006; DOORBAR; *et al.*, 2012).

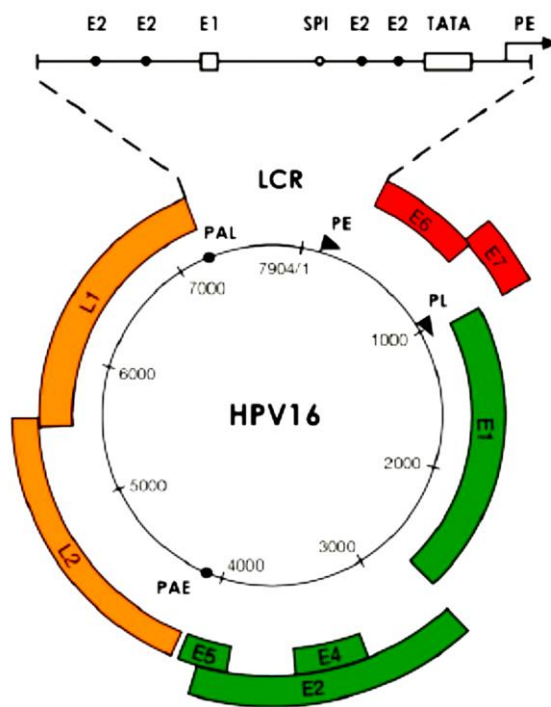


Figura 1 - Representação esquemática do genoma circular do HPV 16

Nota: LCR: *Long region control*; SP1, AP1 e OCT1: sítios de ligação para fatores celulares; L1 e L2: região *late* responsável pela codificação de proteínas estruturais do capsídeo; E1 e E2: região *early*, codifica proteínas virais que controlam a replicação viral e a expressão gênica; PE: promotor precoce, também referido como p97; PL: promotor tardio, também referido como p670; PAE e PAL: indica as posições de poliadenilação precoce e tardio dentro do genoma. Fonte: DOORBAR; *et al*, 2012.

O HPV é altamente espécie específico e não há relatos do Papilomavírus de uma espécie causando infecção produtiva em outra. O vírus é epiteliotrópico, infecta pele e mucosas (genital, oral, laringe, esôfago) e se replica no núcleo de células escamosas epiteliais (DOORBAR, 2005).

2.2.2. Filogenética e taxonomia

Atualmente são conhecidos mais de 230 tipos de HPV e cerca de 150 tipos tiveram o seu genoma completo sequenciado. Os HPV são classificados em alto risco oncogênico (HR-HPV) e baixo risco oncogênico (LR-HPV), podendo ser cutâneo ou mucoso, de acordo com a sua potencialidade em causar lesões. Os tipos de baixo risco estão associados às verrugas vulgares ou condilomatosas, sendo os gêneros Beta-papillomavírus e Gama-papillomavírus mais encontrados nestas lesões. Já os tipos de alto risco podem ser evidenciados em processos neoplásicos, estando o gênero Alpha-papillomavírus mais associado com os mesmos. No

entanto, este gênero também pode ser encontrado em lesões benignas (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007; DOORBAR, *et al.*, 2012).

A classificação proposta por de Villiers e colaboradores (2004) além de, considerar a potencialidade das lesões, também avalia as sequências de nucleotídeos que estão presentes no gene da região L1, sendo que, para classificar um novo tipo de HPV, deve haver mais de 10% de diferença na sequência de nucleotídeos em relação a um tipo já existente, porém quando esta diferença for de 2 a 10%, ocorre a caracterização de um subtipo, e quando inferior a 2% este pode ser caracterizado como uma variante (Figura 2) (DE VILLIERS *et al.*, 2004).

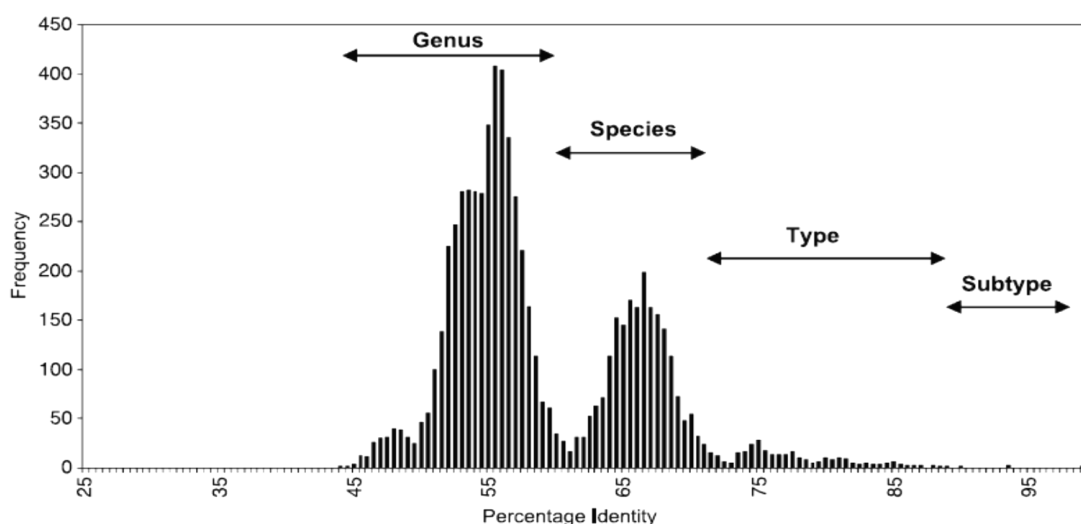


Figura 2 - Distribuição de frequência das porcentagens de identidade de sequências de nucleotídeos na região L1 de 118 tipos de Papilomavírus. Fonte: DE VILLIERS, *et al.*, 2004

Entre os tipos de baixo risco oncogênico mais comumente encontrados estão o HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61 e 70. Enquanto que os de alto risco são representados por HPV dos tipos HPV16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 59, 66, 68, 72 e 81, pertencentes ao gênero Alpha-papillomavírus (Figura 3) (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007).

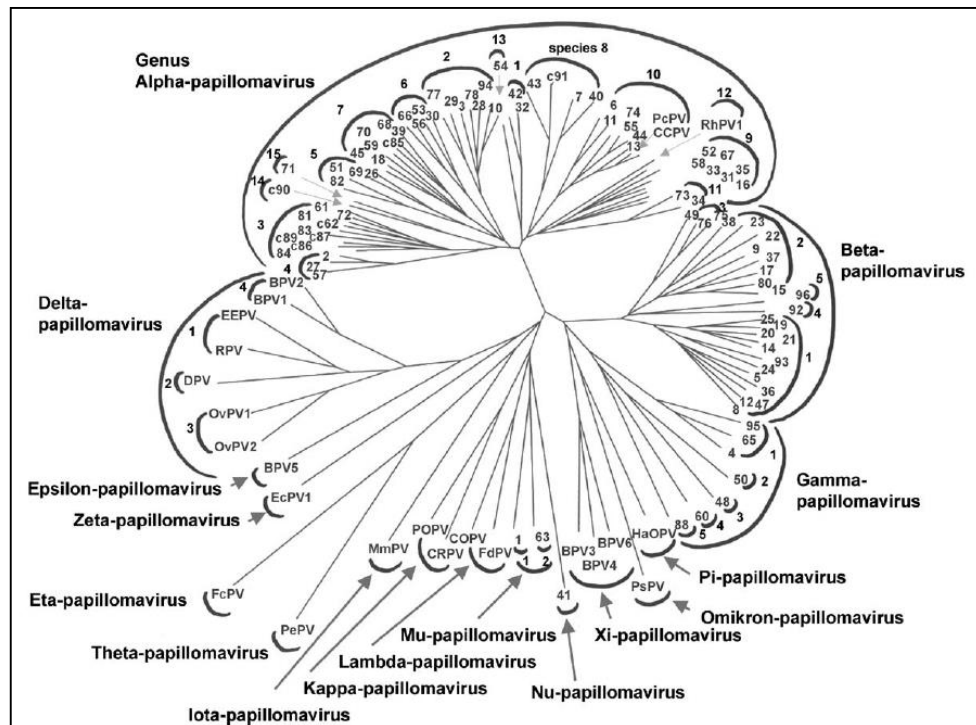


Figura 3 - Árvore filogenética contendo 118 tipos de Papilomavírus.

Fonte: DE VILLIERS, *et al.*, 2004

2.2.3 Patogênese viral

Na cérvix uterina, a infecção por HPV ocorre durante o contato direto entre epitélios, no qual o vírus consegue penetrar nas células da camada basal através de microlesões do tecido epitelial, que faz desse contato a transmissão. Segundo Doorbar (2005), o ciclo de infecção do HPV passa por cinco etapas consecutivas: 1) infecção, 2) manutenção do genoma, 3) fase proliferativa, 4) amplificação genômica e 5) síntese e liberação de novas partículas virais (DOORBAR, 2005).

A primeira etapa da infecção, nas células da camada basal do epitélio, é diferenciada em dois estágios: não produtivo e produtivo. No estágio não produtivo, o vírus mantém um número reduzido de cópias virais sob a forma episomal nas células da camada basal. Nesta fase há um baixo nível de expressão dos genes E6, E7, E1 e E2, suficiente para a manutenção genômica do vírus. Enquanto que no estágio produtivo, que ocorre na camada suprabasal, acontece a síntese de elevado número de cópias virais e expressão dos genes L1 e L2 que codificam proteínas do capsídeo viral, com maior expressão do gene E4, importante na alteração da matriz

celular, maturação e replicação, como o observado no quadro 1, que mostra a função das proteínas regulatórias do HPV (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2011; BRENTJENS *et al.*, 2006; DOORBAR, 2005).

Quadro 1 - Regiões genômicas do HPV e as respectivas atividades regulatórias das proteínas produzidas.

Região genômica	Atividade das proteínas produzidas
E1	Age na replicação e transcrição viral, possui atividade de indução da DNA helicase e na adenosina trifosfatase (ATPase)
E2	Reguladora principal na transcrição gênica possui três funções: regula os níveis de expressão dos genes virais, recruta E1 para a origem de replicação e realiza importante papel na transferência do genoma viral para as células filhas durante o processo de divisão celular
E4	Proteína mais expressa, porém, a sua função ainda precisa ser elucidada. Acredita-se que essa proteína auxilia na montagem e liberação do vírus.
E5	É uma das três oncoproteínas codificadas pelo vírus. As análises quanto ao seu modo de atividade ainda são incipientes, mas se verifica que está relacionada com a regulação para sinalização do fator de crescimento e evasão imunológica.
E6	Coopera com a E7 fornecendo um ambiente adequado para replicação viral, principalmente pela supressão da apoptose celular, em função da interação com a proteína p53
E7	Assim como E6, atua nos processos de replicação viral, em função de sua interação com a proteína pRb.
L1 e L2	Responsáveis pela codificação das proteínas do capsídeo viral.

Fonte: INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007

Após a infecção, o vírus pode permanecer na forma latente, subclínica ou clínica, com o seu DNA integrado ao do hospedeiro, que ocorre na maioria das lesões malignas; ou, ainda, na forma episomal, mais observado em lesões benignas (DOORBAR, 2005).

Quando o vírus está na forma latente, o material genético pode ser identificado, porém não ocorrem manifestações clínicas da doença. No estado subclínico, há presença de lesões que podem ser detectadas por métodos específicos e no estado clínico, se caracteriza pelo comprometimento da estrutura do epitélio (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012; RIVIERO; NUNES, 2006; STEINBERG, 1990; TERMINE *et al.*, 2008, TYRING, 2000).

Após a infecção e amplificação do material genético, o vírus inicia o processo de síntese e liberação de novas partículas que ocorre na camada superficial do epitélio. Os vírions são liberados na superfície sem lisar as células hospedeiras, caracterizando o ciclo produtivo da infecção pelo HPV (DOORBAR, 2005).

O ciclo produtivo do HPV é semelhante para os diferentes tipos virais, porém nas neoplasias, decorrente de infecções ocasionadas por HPV de alto risco oncogênico, ocorre desregulação deste ciclo que resulta na integração do DNA viral ao do hospedeiro. Neste processo, o gene E4 não é expresso e o gene E2 em pouca quantidade. Estes genes são responsáveis pelo controle de transcrição, resultando na supressão da produção de proteínase maior expressão dos genes E6 e E7, sendo estes relacionados com a incapacidade do vírus em dar continuidade ao seu ciclo (FERRAZ; SANTOS; DISCACCIATI, 2012; DOORBAR, 2005).

Como consequência da inativação do ciclo do HPV ocorre maior expressão dos genes E6 e E7 e das alterações celulares causadas pela infecção persistente pelo HPV de alto risco oncogênico, o que pode resultar na diferenciação das lesões causadas pela infecção, como lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (NIC I/ displasia leve), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) (NIC II/ NIC III, displasia moderada, displasia severa) e carcinoma *in situ* (Figura 4) (DOORBAR, 2005; WENTZENSEN; VINOKUROVA; DOEBERTITZ., 2004).

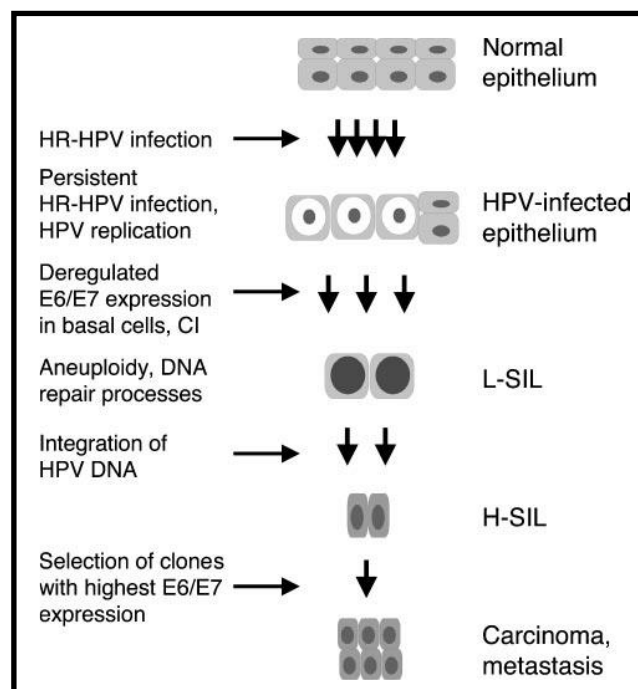


Figura 4 – Infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) com a integração do DNA ao do hospedeiro e o seu papel na progressão do epitélio normal para o carcinoma. Fonte: WENTZENSEN; VINOKUROVA; DOEBERTITZ., 2004

As lesões ocasionadas pela infecção por HPV, tanto as de baixo quanto as de alto risco oncogênico, também estão relacionadas com a resposta imunológica do indivíduo. Estima-se que 70% a 90% das pessoas infectadas são capazes de eliminar o vírus no período de 12 a 24 meses (HO *et al.*, 1998). Entretanto em 10% dos casos não há uma resposta apropriada (SCHIFFMAN *et al.*, 2007). A infecção persistente por HPV é considerada uma condição não suficiente, porém necessária para o desenvolvimento do câncer de colo do útero, e este fator é responsável por 99% dos casos de câncer uterino (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007).

2.3 Métodos de identificação do HPV

O diagnóstico da infecção por HPV pode ser realizado por métodos não moleculares e moleculares. Os métodos não moleculares, não detectam o vírus do HPV, mas sim as alterações celulares decorrentes da infecção viral, sendo, portanto, considerados sugestivos de infecção e menos sensíveis. Dentre eles, destacam-se a citopatologia e a histopatologia (COPE *et al.*, 1997; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007).

A citologia oncótica e a colposcopia são utilizadas para a identificação de lesões, subclínicas e clínicas, e aspectos morfológicos sugestivos de infecção por HPV. Estes métodos são menos sensíveis, pois buscam apenas as alterações causadas na infecção produtiva do vírus (COPE, *et al.*, 1997; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007). As alterações associadas ao vírus na citologia oncótica compreendem: presença de halo perinuclear, disceratose, núcleo hipercromático, picnótico e multi ou bi-nucleado, enquanto que na colposcopia são: presença de epitélio acetobranco, alterações vasculares, lesões clínicas e lesões subclínicas que são avaliadas pelo conteúdo de glicogênio no epitélio pela técnica de Schiller (COCCHI *et al.*, 1997).

Embora a citopatologia do esfregaço cérvico vaginal tenha contribuído com a diminuição da incidência do câncer cervical, lesões pré-malignas e malignas associadas ao HPV continuam sendo um grande problema de saúde pública, pois nem sempre a citopatologia fornece evidências da presença do HPV nas amostras

infectadas, impossibilitando o tratamento e acompanhamento dessas pacientes (ABREU, *et al.*, 2012). Assim, concomitantemente ao fato de que o HPV é um vírus que não pode se desenvolver em cultura de células, tornou-se necessário o desenvolvimento de técnicas de biologia molecular, capazes de identificar com precisão o genoma viral (VILLA; DENNY, 2006).

Os métodos moleculares são mais sensíveis, como as técnicas de amplificação do sinal, pois buscam a presença do material genético e são capazes de detectar carga viral mesmo em baixa quantidade. O sistema de captura híbrida foi um dos primeiros testes a diferenciar os tipos virais em dois grupos A e B, utilizando dois coquetéis de sondas de RNA para capturar o DNA viral. O grupo A é composto por cinco tipos de LR-HPV (HPV 6, 11, 42, 43 e 44) e o grupo B por 13 tipos de HR-HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68). Estes testes podem determinar uma carga viral, auxiliando desta forma no prognóstico da infecção (ABREU, *et al.*, 2012; SCHIFFMAN *et al.*, 1995).

Entre os testes de alta sensibilidade e especificidade destacam-se: A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com a utilização de sequências nucleotídicas degeneradas ou consenso, o Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP), a PCR tipo-específico e a PCR em tempo real. Estes estão sendo empregados em estudos para a associação na clínica com o exame de citologia oncológica (ABREU, *et al.*, 2012).

A técnica de PCR mais utilizada emprega o uso de *primers* específicos, que apresentam um potencial em detectar a maioria dos tipos de HPV baseados na região conservada do gene L1 (VILLA; DENNY, 2006). Dentre esses, destaca-se o par GP 5/6 e sua versão modificada GP5+/6+ (JACOBS *et al.*, 1999) e o par de *primers* degenerados MY09/11 (MANOS *et al.*, 1994) e sua versão modificada PGMY09/11 (GRAVITT *et al.*, 2000).

Os *primers* PGMY09/11 referem-se a um *pool* de 18 *primers* distintos, que foram desenvolvidos com a finalidade de aprimorar a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade em relações aos outros *primers* como, GP5/6 e sua versão modificada GP5+/6+ (JACOBS *et al.*, 1999) e ainda o par SPF10 (VILLA; DENNY, 2006). Uma das vantagens é que não apresentam sequências degeneradas, podendo ser sintetizados com elevada reprodutibilidade (GRAVITT *et al.*, 2000).

Quanto à genotipagem viral, a PCR também possibilita utilizar *primers* específicos para cada tipo, sendo denominada de PCR tipo específico (TS-PCR).

Esta técnica é mais sensível quando padronizada de acordo com os tipos mais prevalentes na região, devido à quantidade elevada de tipos circulantes que podem variar de acordo com diferentes locais (CARVALHO *et al.*, 2010).

A técnica de RFLP também pode ser empregada para genotipagem, produzindo padrões de digestão enzimática do material genético obtido por PCR que possibilita a classificação de quase todos os tipos de HPV presentes em mucosas (NOBRE; ALMEIDA; MARTINS, 2008; NOBRE *et al.*, 2010). As primeiras reações de RFLP apresentavam algumas desvantagens, pois não permitiam a diferenciação de todos os tipos de HPV de alto risco além de serem necessárias maiores quantidades de enzimas (*Bam*HI, *Dde*I, *Hae*III, *Hin*fI, *Pst*I, *Rsa*I, *Sal*III) o que dificultava a interpretação dos fragmentos obtidos pelo observador (BERNARD *et al.*, 1994).

Com a finalidade de produzir uma metodologia mais rápida, de baixo custo e mais eficiente, Nobre e colaboradores (2008) aperfeiçoaram o protocolo da RFLP, com a construção de um algoritmo de identificação, utilizando 4 enzimas de restrição capazes de detectar cerca de 49 genótipos de HPV e também variantes virais.

Além da RFLP a tipagem viral também pode ser realizada pela técnica de PCR em tempo real (q-PCR), uma ferramenta útil e precisa, pois, também permite a quantificação viral e identificação do DNA viral na forma integrada ou episomal (CAMPOS, 2005; HA *et al.*, 2002; OLIVEIRA, 2011).

Para auxiliar o diagnóstico na clínica, a combinação de dois ou mais testes é eficiente para o prognóstico, como observado por Tozetti e colaboradores (2006b) que associou a carga viral com a citologia, demonstrando que em lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL) predominou a carga viral entre 100 à <1000RLU/PCB. Além disso, possibilitou o acompanhamento de pacientes com lesões suspeitas.

Os testes diretos que buscam o DNA viral demonstram maior sensibilidade para o diagnóstico se comparados ao exame citológico, uma vez que o vírus pode permanecer em estado de latência por anos sem que as manifestações clínicas da doença possam ser observadas. Além disso, estes testes são associados à citologia, mesmo sem que ocorram alterações morfológicas, é possível determinar se a paciente está infectada e por quais tipos de HPV, fornecendo desta forma subsídios sólidos que visam uma conduta terapêutica e acompanhamento para identificar a progressão ou regressão da infecção.

2.4 Epidemiologia da infecção por HPV em mulheres profissionais do sexo

A infecção por HPV é transmitida por contato, principalmente o sexual, sendo classificada como uma IST e nos casos com manifestações clínicas, em DST. A infecção por HPV é considerada como uma das mais comuns entre as mulheres (KOUTSKY, 1992). Além disso, as mulheres assintomáticas e sem lesões aparentes podem estar infectadas pelo vírus, sendo que a prevalência do HPV nestes casos pode variar de 2 a 44% (TROTIER; FRANCO, 2006). Ressalta-se que com o epitélio aparentemente normal e sem o uso de preservativos, a transmissão é contínua mesmo em casos assintomáticos.

Sabe-se que a infecção por HPV está intimamente associada com os casos de câncer de colo de útero. De acordo com o Instituto nacional de câncer (INCA), estima-se que para o ano de 2016 são esperados 16.340 novos casos, sendo a maior incidência na região Norte, seguida pelas regiões Centro-Oeste e Nordeste (Figura 5).

	Brasil	Região Norte	Região Nordeste	Região Centro-Oeste	Região Sudeste	Região Sul
1º	Mama feminina (56,20)	Colo do útero (23,97)	Mama feminina (38,74)	Mama feminina (55,87)	Mama feminina (68,08)	Mama feminina (74,30)
2º	Cólon e Reto (17,10)	Mama feminina (22,26)	Colo do útero (19,49)	Colo do útero (20,72)	Cólon e Reto (22,66)	Cólon e Reto (23,27)
3º	Colo do útero (15,85)	Cólon e Reto (5,89)	Cólon e Reto (8,77)	Cólon e Reto (16,93)	Colo do útero (11,30)	Traqueia, Brônquio e Pulmão (20,61)
4º	Traqueia, Brônquio e Pulmão (10,54)	Estômago (5,82)	Traqueia, Brônquio e Pulmão (7,24)	Traqueia, Brônquio e Pulmão (9,37)	Traqueia, Brônquio e Pulmão (10,56)	Colo do útero (15,17)
5º	Estômago (7,37)	Traqueia, Brônquio e Pulmão (5,07)	Estômago (6,73)	Ovário (6,96)	Corpo do útero (9,58)	Estômago (8,71)

Figura 5— Taxa de incidência e estimativa para 2016 para os tipos de câncer mais frequentes em mulheres. * por 100 mil habitantes. Fonte: MS/ Instituto Nacional do Câncer/ estimativa de câncer no Brasil, 2016/ coordenação de prevenção e vigilância/divisão de vigilância.

As mulheres profissionais do sexo são consideradas como grupo de elevado risco para adquirir DST e IST, devido à constante exposição aos fatores de risco como a multiplicidade de parceiros, não utilização de preservativos com clientes e parceiros fixos e intercuro oróanal, genitoanal e genito-oral (PASSOS, FIGUEIREDO, 2004).

Alguns estudos relatam que estas mulheres iniciam suas atividades sexuais na adolescência (LIBORIO, 2005; SIMON; SILVA; PAIVA, 2002), e que há negociação quanto ao uso de preservativo, concluindo então, que a suscetibilidade biológica às infecções de transmissão sexual está aumentada nesta população, tornando essas mulheres vulneráveis às infecções sexualmente transmissíveis (VIEIRA *et al.*, 2004).

A prevalência da infecção por HPV entre esta população varia, devido principalmente as diferenças epidemiológicas e socioeconômicas, como observado em estudo realizado no Vietnã, que mostra uma prevalência na região Norte do país de 49,5% da infecção por HPV (HOUANG, 2013) e na região Sul de 85% (FERLAY *et al.*, 2010).

Outros estudos também demonstram frequência elevada de HPV em mulheres profissionais do sexo, como nos países asiáticos que aproximadamente 50% das participantes do estudo foi detectada a presença do HPV-DNA, no Japão em que 52,6% das mulheres profissionais do sexo foram positivas para o HPV (MATSUSHITA *et al.*, 2011) e na Coreia em 47% (CHOI *et al.*, 2003). Na Europa a prevalência também foi elevada de 77,4% (MAK; RENTERGHEM; CUEVELIER 2004), embora estudo realizado na Espanha tenha revelado prevalência de 39% (DEL AMO *et al.*, 2009). Enquanto na Austrália a prevalência encontrada foi de 32% (TIDEMAN *et al.*, 2003).

Estudo realizado no Brasil mostra que a prevalência do HPV, nesta população, foi de 67,6% para a cidade de São Paulo, sendo o HPV 16 o mais frequente (PONGETTO; SILVA; PARADA 2011). Na região Centro-Oeste não há estudos relacionando a infecção por HPV em mulheres profissionais do sexo, o que torna o presente estudo pioneiro.

Devido à variabilidade da prevalência do HPV nas profissionais do sexo, à exposição constante aos fatores de risco e à possível presença de infecção assintomática, esta população representa importante objeto de estudo e acompanhamento, pois, a transmissão pode ser contínua, além disso, o estudo fornece subsídios para a identificação de tipos virais mais predominantes na região Centro-Oeste, propiciando adequação quanto à utilização da vacina.

2.5 Coinfecção por outros micro-organismos

A relação entre a coinfecção por HPV e outros patógenos ainda é pouco compreendida. Estudos demonstram que a infecção por HPV, quando associada à infecção por outro micro-organismo, tende a ser potencializada, aumentando a probabilidade de progredir para o câncer cervical, principalmente quando estas coinfeções são causadas por alguns micro-organismos sexualmente transmissíveis ou mesmo micro-organismos que fazem parte da microbiota vaginal (MURTA *et al.*, 2000; ROETERS *et al.*, 2009; SANTO *et al.*, 2011).

A bactéria *C. trachomatis* pertence à família *Chlamydiaceae*, gênero *Chlamydia*, sendo uma bactéria pequena de 0,2 a 1,5 uM, gram-negativa, parasita obrigatório intracelular, desprovida de motilidade que utiliza Trifosfato de Adenosina (ATP) produzido pela célula hospedeira para a sua sobrevivência (SEADI, *et al.*, 2001).

A presença da bactéria *C. trachomatis* no microambiente cervical associada à infecção por HPV pode propiciar infecções mais severas. Estudos descrevem a formação de um ambiente inflamatório produzido pela infecção bacteriana, que beneficia a entrada do HPV e aumenta as chances de alteração neoplásica (MADELEINE *et al.*, 2007; SANTO *et al.*, 2011).

Estudo realizado por Friedek e colaboradores (2004) observou que em pacientes com lesão escamosa intraepitelial de baixo grau (LSIL), houve correlação estatística entre a positividade para *C. trachomatis* e HPV, especialmente quando a infecção era por HR-HPV. Já nas pacientes HPV positivas sem alteração citológica, também foi observada presença de coinfeções, identificando assim uma relação entre os patógenos (TAMIM *et al.*, 2002).

A prevalência de *C. trachomatis* pode variar dependendo da população estudada, de 2,4% nas mulheres assintomáticas e não expostas aos fatores de risco, (EGGERT-KRUSE, *et al.*, 2003) a 37,4% (LEE; TOBIN; FOLEY, 2006) em mulheres profissionais do sexo. Mesmo tendo relatos de que em coinfeções há maior probabilidade da evolução da infecção por HPV ser potencializada, não há como saber qual micro-organismo foi o primeiro a infectar o epitélio. Estudos também demonstram que mulheres portadoras de DST têm risco aumentado de adquirir *C. Trachomatis* (GOPALKRISHNA, *et al.*, 2000).

Além de *C. trachomatis*, outro patógeno comum no microbiota vaginal e que pode se beneficiar da presença do HPV ou potencializar a infecção é *G. vaginalis*. Murta e colaboradores (2000) relataram que *G. vaginalis* estava associada com infecções vaginais por HPV, demonstrando que em amostras HPV positivas a presença de *G. vaginalis*, que normalmente não é elevada no canal vaginal, obteve prevalência de 25,6%, indicando uma forte associação entre esses dois micro-organismos (BUFFONet *et al.*, 2006).

A bactéria *G. vaginalis* é anaeróbia facultativa, imóvel, observada sob a forma de cocabacilos Gram-variáveis. A doença mais comum que o micro-organismo pode causar é a vaginose bacteriana, entretanto doenças graves, como bacteremias e meningites, já foram descritas (SMITH; OGBARA; ENG, 1992)

Também foi observado que a bactéria *G. vaginalis* pode se beneficiar de algumas mudanças na microbiota, como nos casos de vaginose bacteriana onde esteve presente em 95% dos casos, na qual ocorre uma diminuição da presença de lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio, o que favorece o crescimento de organismos anaeróbicos obrigatórios ou facultativos como a *G. vaginalis* (FERRIS, *et al.*, 2004). Com os danos causados pela vaginose bacteriana no epitélio, a entrada de organismos patógenos é facilitada (RODRIGUEZ-CERDEIRA, SANCHEZ-BLANCO, ALBA, 2012). No estudo realizado por Platz-Christensen e colaboradores (1994) foi sugerido que a vaginose bacteriana está de alguma forma associada com o desenvolvimento de NIC agindo como um cofator para a aquisição do HPV.

Outro patógeno causador de infecções vaginais é *T. vaginalis*, parasita é classificado como aeróbio facultativo, com aproximadamente 10µm de comprimento por 7µm de largura, podendo infectar a região do canal vaginal causando a tricomoníase, esta infecção também está associada a progressão da infecção por HPV ao carcinoma. As microlesões causadas pela infecção por *T. vaginalis* podem facilitar a entrada do HPV no epitélio, além de potencializar a infecção por este vírus. A frequência da infecção por *T. vaginalis* não é elevada, podendo variar de 1,7% (RIVEIRA, *et al.*, 1996) a 3,8% (PAESI, *et al.*, 2013).

Estudos relatam que há associação de neoplasia com coinfeções por *C. trachomatis*, *G. vaginalis* e *T. vaginalis*, porém há uma lacuna na literatura relacionada a estas interações (MURTA *et al.*, 2000).

As técnicas utilizadas para identificar *C. trachomatis*, *G. vaginalis* e *T. vaginalis* envolvem basicamente duas vertentes, a primeira que é a busca de

alterações celulares causadas pelas inclusões citoplasmáticas e a visualização dos micro-organismos, e segunda vertente com foco mais direto, pela identificação do agente por meio de cultura, imunoensaio ou biologia molecular pela reação da PCR, com uma sensibilidade de até 95% dos testes (SEADI *et al.*, 2002).

2.6 Eficácia dos métodos de coletas

O material genético necessário para o diagnóstico do HPV é obtido pela coleta de células da região de cérvix uterina ou do canal vaginal. Estas células podem ser obtidas por coleta clínica, com o uso de espéculo em consultório ginecológico, ou por meio da autocoleta, procedimento no qual células dessas regiões são obtidas pela própria paciente, utilizando um *swab* vaginal ou uma escova esfoliativa. (GRAVITT *et al.*, 2001). A eficácia do diagnóstico depende da obtenção destas amostras, uma vez que, em coleta mal realizada ocorre insuficiência do material obtido, o que impossibilita um diagnóstico preciso. A insuficiência de obtenção de amostra pode ocorrer tanto na coleta clínica como na autocoleta.

A autocoleta tem alta concordância com a coleta clínica na obtenção de amostras para a detecção do HPV-DNA (PETIGNAT *et al.*, 2007), o que também vale ressaltar a vantagem em aumentar a cobertura da triagem, pois abrange pacientes que relutam em se submeter aos exames pélvicos, por questões culturais, ou ainda aquelas pacientes residentes em áreas de difícil acesso (SAFAEIAN *et al.*, 2007).

Estudo realizado por Campos e colaboradores (2014) relatou que as amostras obtidas por autocoleta são viáveis, demonstrando alta concordância de genótipos virais entre amostras autocoletadas e aquelas coletadas por exame pélvico. Devido à alta aceitação entre as mulheres, a sua implementação supre a necessidade do diagnóstico precoce da infecção por HPV, com um sistema de coleta rápido e eficaz.

2.7 Profilaxia das infecções

Conforme a estimativa realizada pelo Instituto Nacional do Câncer (2016) o câncer de colo do útero é responsável por 265 mil óbitos por ano, sendo a quarta causa mais frequente de morte por câncer em mulheres. Por essa elevada

mortalidade, o Ministério da Saúde programou no calendário vacinal, em 2014, a vacina tetravalente contra o HPV direcionada a meninas de 9 a 13 anos de idade, a qual protege contra os tipos LR-HPV (6 e 11) e HR-HPV (16 e 18), sendo os últimos responsáveis por cerca de 70% dos casos de câncer do colo do útero (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

A vacina é composta por proteínas estruturais específicas dos quatro tipos (6,11,16 e 18) e foi desenvolvida pela metodologia conhecida como *Vírus Like Particle* ou VLP que não contém o DNA viral, somente fragmentos da região L1 e L2 do capsídeo viral, que são altamente imunogênicos, portanto, não são infectantes (DERCHAIN; SARIAN, 2007).

Após a implementação da vacina no Brasil, estima-se que aproximadamente 4,3 milhões de adolescentes já foram imunizadas com a primeira dose, o equivalente a 87,5% do público alvo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). O estudo realizado por Villa e colaboradores (2006) sobre a vacina, demonstrou que houve redução da doença e que não houve casos de progressão das lesões quando a infecção já estava estabelecida (VILLA *et al.*, 2006).

As vacinações, em conjunto com o exame de citologia oncológica, se completam como ações de prevenção do câncer de colo de útero decorrentes da infecção por estes quatro tipos virais. Porém, a vacina quadrivalente não protege contra os outros tipos de HPV, nem contra as coinfeções. O uso de preservativos continua sendo imprescindível para a prevenção das DST e IST. Ressalta-se que mulheres vacinadas deverão fazer o exame preventivo periodicamente, pois por pressão seletiva, outros tipos tendem a tornarem-se relevantes quanto à indução do câncer de colo de útero.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Detectar a infecção pelo HPV, os principais tipos virais e a coinfeção por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* em mulheres profissionais do sexo, de Campo Grande, MS.

3.2 Objetivos específicos

- a) Estimar a frequência da infecção por HPV em amostras do canal vaginal e da cérvice uterina de mulheres profissionais do sexo, de Campo Grande, MS;
- b) Detectar os tipos virais predominantes em amostras HPV positivas;
- c) Investigar a presença de coinfeção por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*;
- d) Identificar os fatores de risco presentes nas infecções por HPV e coinfeções por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* na população analisada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipo e local de estudo

Este estudo caracteriza-se como sendo de caráter transversal e descritivo, com dados secundários e amostras estratificadas por tipo de coleta. Os materiais coletados foram analisados e processados no Laboratório de Imunologia, Bioensaios e Biologia Molecular (LABIMUNOBIO), pertencente ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (CCBS/UFMS).

4.2 Amostras e dados secundários incluídos no estudo

As amostras incluídas no estudo foram coletadas de mulheres profissionais do sexo que se prostituíam em locais públicos (Praças, parques, jardins, ruas, avenidas, etc.) e locais privados (Saunas, boates, bordéis, etc.) na cidade de Campo Grande - MS, durante a execução do projeto de pesquisa “Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST): aspectos imunológicos, sorológicos e moleculares em grupos populacionais expostos a risco de Mato Grosso do Sul” no período de junho a dezembro de 2011.

Estas amostras foram coletadas pela técnica de autocoleta, descrito por Campos e colaboradores (2014), e são provenientes do banco de amostras e dados da Profa. Dra. Ana Rita Coimbra Motta de Castro, do Laboratório de Imunologia Clínica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Anexo A). Os dados secundários foram provenientes do banco de dados do referido projeto, e foram obtidos através de questionário aplicado às participantes do estudo, após a coleta das amostras (Anexo B), contendo informações sigilosas quanto aos fatores predisponentes à infecção e relacionadas à atividade sexual, presença de fatores associados à progressão maligna, utilização de métodos preventivos do câncer de colo de útero e frequência de utilização de métodos relacionados ao diagnóstico da infecção.

4.3 Processamento das amostras

As amostras utilizadas no estudo foram encaminhadas ao LABIMUNOBIO CCBS/UFMS para execução da análise. As mesmas já continham o seu material genético extraído pelo Kit Wizard® *genomic* DNA Purification (Promega, A1125), de acordo com o protocolo do fabricante e estavam armazenadas a -20°C até o momento da análise.

Estas amostras foram analisadas quanto à detecção e genotipagem do HPV-DNA, detecção de *C. trachomatis*, *G. vaginalis* e *T. vaginalis*. Todos os procedimentos seguiram os padrões de controle de qualidade em biologia molecular.

4.4. Quantificação do DNA extraído

Para fins de controle de qualidade, as amostras brutas foram submetidas à quantificação em espectrofotômetro Nano Drop 2000 ThermoScientific® (190-840 nm).

4.5 Preparação da solução para a Reação de Polimerização em Cadeia (PCR)

A solução utilizada nas reações de PCR foi preparada em capela de fluxo laminar, utilizando *primers* específicos para cada reação, contendo: Tampão Tris-EDTA pH 8,4 [10x]; dNTPs 2,5 mM; MgCl₂ 50 mM; enzima Taq DNA polimerase (5U/μL); *primers R* (10 pM/μL); *primers F* (10 pM/μL) e H₂O ultra pura.

4.6 Detecção e genotipagem do HPV-DNA em amostras de cérvix uterina

4.6.1 Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) para detecção de HPV DNA e controle endógeno da reação

Como controle endógeno da reação de PCR convencional, foram utilizados os *primers* para amplificação do gene de β-globina, PC04 e GH20, ao quais amplificam um fragmento de 286pb (BAUER *et al.*, 1991) e quanto à detecção de HPV-DNA, foram utilizados *pool* de 18 *primers* denominados PGMY 09/11, os quais amplificam um fragmento de 450pb da região L1 do genoma viral (GRAVITT *et al.*, 2000).

A um volume final de 45µL da solução de PCR foi adicionado 5µL do DNA 50ng/µL, recuperado de cada amostra. Posteriormente, a reação foi processada em termociclador programado a 95°C por 5 minutos para desnaturação e, em seguida, por 40 ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto. Após esses 40 ciclos seguiu-se uma extensão final a 72°C durante cinco minutos. Os produtos foram armazenados a -20°C, até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

As amostras positivas para os *primers* GH20/PC04 e PGMY09/11 foram submetidas à técnica de PCR tipo-específica (TS-PCR) e RFLP.

4.6.2 Genotipagem viral por Reação de Polimerização em Cadeia Tipo Específica (TS-PCR)

Para a genotipagem das amostras PGMY09/11 positivas, foi utilizado o DNA das amostras brutas conforme a técnica descrita por Walboomers e colaboradores (1999). Os *primers* utilizados na reação de TS-PCR estão descritos no quadro 2.

Quadro 2 - *Primes* utilizados na genotipagem por TS-PCR de acordo com o tamanho do fragmento, sequência, região de anelamento e temperatura de *melting* (T_m).

Primer (F-R)	Fragmento (pb)	Sequencia (5'-3')	Região	T_m (°C)
HPV 6 F ⁽¹⁾	194	CACGTCTGCAACGACCATAG	E6	51,4
HPV 6 R ⁽¹⁾		CCATGAAATTCTAGGCAGCA	E6	50,4
HPV 11 F ⁽²⁾	210	TCTGTGTCTAAATCTGATAC	L1	38,8
HPV 11 R ⁽²⁾		GGGTTTCTGACAGGTAATGGC	L1	52,6
HPV 16 F ⁽³⁾	174	TTGCAGATCATCAAGAACACGT AGA	E6-E7	59,8
HPV 16 R ⁽³⁾		CTTGTCCAGCTGGACCATCTAT TT	E6-E7	59,5
HPV 18 F ⁽³⁾	219	CAACCGAGCACGACAGGAA	E6-E7	59,4
HPV 18 R ⁽³⁾		CTCGTCGGGCTGGTAAATGTT	E6-E7	60,0
HPV 31 F ⁽⁴⁾	420	GATGCAACGTGCTCAGGG	L1	54,2
HPV 31R ⁽⁴⁾		GCGACCCAGTGGAAACTGATCT A	L1	57
HPV 33 F ⁽³⁾	90	AAACCTTTGCAACGATCTGAGG TA	E6	60,0
HPV 33 R ⁽³⁾		GTTTACATATTCCAAATGGATTT CCCTCTCT	E6	63,4
HPV 45 F ⁽⁵⁾	195	ACCAGATTTGTGCACAGAAT	E6/E7	46,7
HPV 45 R ⁽⁵⁾		TTTTTTCCAGTGTCTCTCCA	E6/E7	47,1

Nota: ⁽¹⁾ SILVA *et al.*, 2003; ⁽²⁾ LIN *et al.*, 2008; ⁽³⁾ GUO *et al.*, 2007; ⁽⁴⁾ SWAN *et al.*, 1999; ⁽⁵⁾ KARLSEN *et al.*, 1996.

Para cada *primer*, foi preparada uma solução de PCR em capela de fluxo laminar. A um volume final de 45µL foram adicionados 5µL de amostra bruta, sendo essa homogeneizada e processada em termociclador nas condições descritas na tabela 3, para realização da desnaturação, anelamento e extensão.

Quadro3- Tipos virais a serem detectados de acordo com as condições utilizadas na TS-PCR.

Tipo viral	Condições utilizadas
HPV 6, 16, 18, 33;	40 ciclos de: 60 segundos a 94°C; 60 segundos a 55°C; 60 segundos a 72°C; 7 minutos a 72°C.
HPV 11;	40 ciclos de: 30 segundos a 94°C; 30 segundos a 60°C; 30 segundos a 72°C; 5 minutos a 72°C.
HPV 31;	40 ciclos de: 30 segundos a 94°C; 30 segundos a 55°C; 30 segundos a 72°C; 7 minutos a 72°C.
HPV 45;	10 ciclos de: 30 segundos a 94°C; 30 segundos a 51°C; 30 segundos a 72°C. E 35 ciclos de: 30 segundos a 94°C; 30 segundos a 46°C; 30 segundos a 72°C; 7 minutos a 72°C.

Após a extensão final todos os produtos foram armazenados a -20 °C, até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%.

4.6.3 Purificação e quantificação do produto da PCR para execução da RFLP

As amostras positivas para o HPV também foram genotipadas pela técnica de RFLP. Os produtos PGMY09/11 foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 0,8%. As bandas positivas com fragmento de 450pb foram retiradas do gel e acondicionadas em microtubos de 1,5mL para o protocolo de purificação do gel.

As amostras foram purificadas com a utilização do kit comercial *Qiaex II* (cat. 20051) Quiagen®, seguindo etapas consecutivas de remoção da agarose com a utilização de sílica e eluição com Tris-HCL, 10 mM pH 8,5. Ao término as amostras foram quantificadas em espectrofotômetro NanoDrop 2000 (190-840 nm).

4.6.4 Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP)

Para a técnica de RFLP, as enzimas *Pst*I, *Hae* III, *Dde* I e *Rsa* I foram utilizadas na digestão enzimática, sendo que cada enzima reconhece as sequências nucleotídicas descritas no quadro 4.

Quadro 4 – Endonucleases de restrição para análise por RFLP.

Enzima de restrição	Sítio de reconhecimento
Enzima de restrição <i>Pst</i> I	5'CTGCA/G'3
Enzima de restrição <i>Hae</i> III	5'GG/CC3'
Enzima de restrição <i>Dde</i> I	5'C/TNAG3'
Enzima de restrição <i>Rsa</i> I	5'GT/AC3'

O volume foi dividido em cinco tubos obedecendo a sequência: *Pst* I; *Hae* III; *Dde* I; *Rsa* I e controle (amostra sem digestão). Em cada tubo foi adicionado 1,2µL do substrato enzimático, 1,0µL da enzima de restrição e 10µL da amostra purificada.

Após homogeneização, as amostras foram incubadas em termociclador por 60 minutos a 37 °C; 30 minutos a 85 °C e 20 minutos a 25°C, sendo armazenadas a -20°C até análise em gel de agarose 3%.

O produto da RFLP foi visualizado em gel de agarose a 3% e o perfil de restrição foi analisado conforme o algoritmo proposto por Nobre e colaboradores (2008) (Anexo C).

4.7 Detecção de outros micro-organismos

4.7.1 Detecção do DNA de *Gardnerella vaginalis*

Para a identificação de *G. vaginalis*, as amostras β -globina positivas foram submetidas à PCR para a amplificação do gene 16SrRNA de 310 pb com *primers* descritos por Zariffard e colaboradores (2002) com os *primers* para *G. vaginalis* (F) GV 1 (5'-TACTGGTGTATCACTGTAA-3') e (R) GV 2 (5'-CACAGGTGAACAGTCAAT-3').

A um volume final de 45 μ L da solução de PCR foi adicionado 5 μ L do DNA 50ng/ μ L, recuperado de cada amostra. A reação foi processada em termociclador programado a 95°C por 5 minutos para desnaturação e, em seguida, por 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 52°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto. Após esses 35 ciclos seguiu-se uma extensão final a 72°C durante 5 minutos. Os produtos foram armazenados a -20°C, até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

4.7.2 Detecção do DNA de *Chlamydia trachomatis*

Para a identificação de *C. trachomatis*, todas as amostras positivas para β -globina foram submetidas à PCR para a amplificação da região de 241pb do genoma bacteriano. Partindo da metodologia de Santos e colaboradores (2003), foram utilizados os *primers* KL1-5' TCCGGAGCGAGTTACGAAGA 3' e KL2-5' AATCAATGCCCCGGGATTGGT 3'.

A um volume final de 45 μ L da solução de PCR foi adicionado 5 μ L do DNA 50ng/ μ L, recuperado de cada amostra. A reação foi processada em termociclador programado a 94°C por 5 minutos para desnaturação e, em seguida, por 25 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos. Após esses 25 ciclos seguiu-se uma extensão final a 72°C durante 7 minutos. Os produtos foram

armazenados a -20°C, até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

4.7.3 Detecção do DNA de *Trichomonas vaginalis*

Para a detecção de *T. vaginalis* nas amostras positivas para β -globina, foi realizada PCR para amplificar região gênica que codifica fragmentos do flagelo de *T. vaginalis* de 300 pb utilizando os primers TVK3-5'ATTGTCGAACATTGGTCTTACCCTC3' e TVK7-5'TCTGTGCCGTCTTCAAGTTAG3' conforme descrito por Kengne e colaboradores (1994).

A um volume final de 45 μ L desta solução foi adicionado 5 μ L do DNA 50ng/ μ L, recuperado de cada amostra. A reação foi processada em termociclador programado a 95°C por 5 minutos para desnaturação e, em seguida, por 35 ciclos de 90°C por 1 minuto, 60°C por 30 segundos e 70°C por 2 minutos. Após esses 35 ciclos seguiu-se uma extensão final a 72°C durante 7 minutos. Os produtos foram armazenados a -20°C até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

4.8 Detecção do produto da PCR em gel de agarose

Para a detecção do produto de PCR, foram pipetados 8 μ L de cada produto individualmente e adicionados a 3 μ L de solução tampão de amostra, contendo 50mg de azul de bromofenol. A solução obtida foi aplicada em gel de agarose (0,8% para a purificação da RFLP, 1,5% para as PCR e 3% para a RFLP), com marcador de 100bp incluso e 50 pb incluso na RFLP. A corrida seguiu-se com a voltagem de 100 volts, por 1h e 30 min em tampão TBE 1X.

Ao término da corrida, o gel foi corado em brometo de etídio (10mg/mL), os fragmentos foram visualizados em transiluminador com luz ultravioleta (UV) e fotodocumentados com o *software* Doc It-LS versão 7.1.

4.9 Análise estatística

A análise estatística foi desenvolvida utilizando o programa estatístico SPSS 10.0 para Windows e *BioEstaT*, versão 5.0 para Windows.

Para análise dos dados, a idade das profissionais do sexo foi agrupada em três faixas etárias: até 25 anos, de 26 a 35 anos e acima de 36 anos. A idade da primeira relação sexual foi dividida em dois grupos: ≤ 15 anos e ≥ 16 anos.

Para associação da infecção por HPV, as múltiplas infecções foram agrupadas em dois grupos: presença de até dois tipos de HPV e presença de mais que dois tipos de HPV. Para associação do risco oncogênico foram agrupados quando havia infecção por tipos de alto risco (HR-HPV). Tanto a presença de múltipla infecção quanto a presença de HR-HPV foram comparadas com as coinfeções por *C. trachomatis*, *G. vaginalis* e *T. vaginalis*.

As tabelas de frequência foram analisadas utilizando o teste Qui-quadrado de Pearson, com intervalo de confiança de 95%, e as tabelas de contingência (2x2) foram analisadas utilizando o teste exato de Fischer, ambos para $p \leq 0,05$. As variáveis significativas nesses testes foram submetidas à análise de regressão logística multinominal para estimativa de taxa de risco (*odds ratio*).

4.10 Aspectos éticos

Todas as amostras e informações foram obtidas de banco de amostras e de dados, respectivamente, sob autorização da Profa. Dra. Ana Rita Coimbra Mota Castro. Estas amostras e informações foram armazenadas e analisadas apenas pelo pesquisador deste estudo.

Foi solicitada a dispensa ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, a dispensa do uso do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido devido à natureza das amostras. O referido projeto foi aprovado pelo comitê de ética no CEP UFMS nº 873.060 (Anexo D).

5 RESULTADOS

5.1 População de estudo

A população estudada foi composta por 79 mulheres profissionais do sexo recrutadas em locais públicos (praças, parques, jardins, ruas, avenidas, etc.) e locais privados (saunas, boates, bordéis, etc.) na cidade de Campo Grande, MS. A faixa etária variou de 18 a 42 anos. A média de idade das participantes foi de 26,7 anos, sendo que 57 participantes responderam integralmente a esta questão. Dentre estas, 50,9% (29/57) tinham até 25 anos, 42,1%(24/57) de 26 anos a 35 anos e 7,0%(4/57) mais que 36 anos (Tabela 1).

Com relação à escolaridade, 56 respostas foram válidas, dentre as quais 3,6% (2/56) não concluíram o ensino fundamental, 30,3%(17/56) concluíram o ensino fundamental, 57,1% (32/56) concluíram o ensino médio e 8,9%(5/56) concluíram o ensino superior (Tabela 1).

A média de idade da primeira relação sexual foi de 15 anos, havendo para esta questão 57 respostas válidas. O início da vida sexual antes ou até os 15 anos de idade foram relatados por 66,7% (38/57) mulheres e após 16 anos por 33,3%(19/57) mulheres (Tabela 1). Quanto ao número de parceiros sexuais nos últimos dois anos não houve respostas válidas, portanto, este dado não foi incluído na análise estatística.

Tabela 1 – Distribuição das mulheres profissionais do sexo de acordo com as variáveis, faixa etária, grau de escolaridade e idade da primeira relação sexual em Campo Grande, MS – 2011.

Variáveis	Total			
	Nº.	%	N.	%
Idade				
≤ 25 anos	29	50,9		
≥ 26 anos e ≤ 35 anos	24	42,1		
≥ 36 anos	4	7,0	57	100
Escolaridade				
Ensino fundamental incompleto	2	3,6		
Ensino fundamental	17	30,4		
Ensino médio	32	57,1		
Ensino superior	5	8,9	56	100
Idade da primeira relação sexual				
≤ 15 anos	38	66,7		
≥ 16 anos	19	33,3	57	100

*Total de respostas válidas

Quanto à utilização de preservativos 57 participantes responderam, sendo que 77,2% (44/57) utilizam o preservativo e 22,8%(13/57) relataram não utilizar (Tabela 2).

No que diz respeito à utilização da terapia hormonal, 57 respostas foram válidas. Destas, 52,6%(30/57) relataram não utilizar e 47,4%(27/57) fazem uso da terapia hormonal (Tabela 2). Outros métodos contraceptivos não foram citados, portanto este dado foi desconsiderado.

Com relação ao relato de DST, 56 mulheres responderam à questão, das quais, 8,9%(5/56) relataram já ter tido alguma DST e 91,1% (51/56) não (Tabela 2). Das cinco mulheres que relataram DST, duas informaram infecção por HPV e sífilis. Na tabela 2 observamos as participantes do estudo distribuídas de acordo com a variável do uso de preservativo, métodos contraceptivos e relato de DST.

Tabela 2 – Distribuição das variáveis de acordo com os métodos contraceptivos, o uso de terapia hormonal e relato de DST entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.

2011.				
Variáveis			Total	
	Nº.	%	N.	%
Uso de preservativo				
Sim	44	77,2	57	100
Não	13	22,8		
Uso de Terapia hormonal				
Sim	27	47,4	57	100
Não	30	52,6		
Relato de DST				
Sim	5	8,9	56	100
Não	51	91,9		

*Total de respostas válidas

Com relação ao tabagismo, 57 respostas foram válidas. Sendo que, 42,1% (24/57) mulheres relataram utilizar tabaco e 57,9%(33/57) não utilizam. Sobre o consumo de bebida alcoólica, houve 56 respostas válidas, entre as quais 83,9% (47/56) relataram ingerir bebidas alcoólicas e 16,1% (9/56) não relataram.

No que diz respeito à realização do exame preventivo de citologia oncológica, 55 respostas foram válidas. Dentre estas, 83,6%(46/55) disseram já ter se submetido a este exame e 16,4%(9/55) nunca realizaram o exame. Das 46 mulheres que se submeteram ao exame, 73,9%(34/46) realizam pelo menos uma vez ao ano e 26,1%(12/46) mais de uma vez.

5.2 Detecção do HPV-DNA

Dentre as 79 amostras obtidas do canal vaginal ou cérvix uterina, pela técnica de autocoleta, 15,2% (12/79) foram negativas para a amplificação do gene de β -globina humana, sendo então excluídas do estudo. Na detecção do HPV-DNA por PCR PGMY 09/11, 19,4% (13/67) das amostras foram positivas (Figura 6).

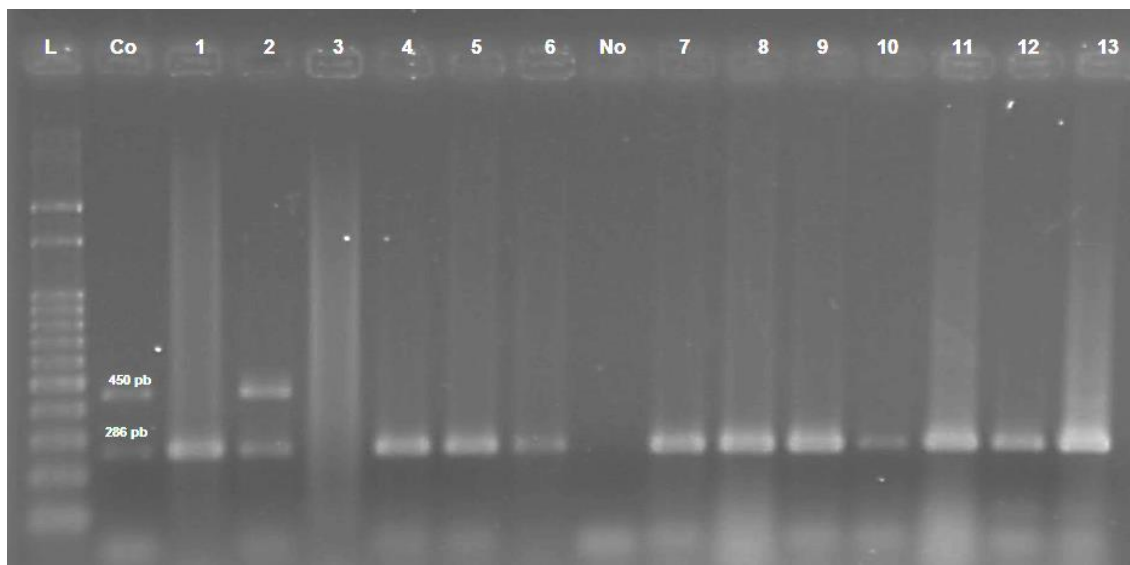


Figura 6 –PCR para detecção de HPV-DNA (450pb) e β -globina (286pb) em amostras de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS – 2011. L: marcador de massa molecular (100pb); Co: Controle positivo; No: controle negativo; 1-13: amostras analisadas.

Das 67 amostras viáveis, nas quais foi realizada a pesquisa de DNA de HPV, 10 pertenciam a participantes cujo questionário não foi completamente respondido, portanto, estas amostras não foram incluídas na análise estatística, sendo que, dentre estas, duas foram HPV positivas.

Observou-se correlação estatística entre a positividade para HPV, a não utilização de preservativo e a não realização do exame de citologia oncológica ($p \leq 0,05$). Houve uma tendência à positividade em relação à idade das mulheres ($p = 0,068$) nas faixas etárias mais jovens (Tabela 3).

Tabela 3 – Positividade para o DNA de HPV segundo as variáveis socioepidemiológicas em mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.

Variáveis		HPV				X ²	OR	p
		Positivo		Negativo				
		N°.	%	N°.	%			
Idade	≤ 25 anos	9	15,8	20	35,1	5,374	-	0,068
	≥ 26 anos e ≤ 35 anos	2	3,5	22	38,6			
	≥ 36 anos	0	0	4	7,0			
Escolaridade	Sem estudo	0	0	2	3,6	0,668	-	0,881
	Fundamental	4	7,1	13	23,2			
	Médio	6	10,7	26	46,4			
	Superior	1	1,8	4	7,1			
Primeira relação sexual	≤ 15 anos	7	12,3	31	54,4	0,056	-	0,812
	≥ 16 anos	4	7,0	15	26,3			
Preservativo	Sim	6	10,5	38	66,7	3,971	3,958	0,046
	Não	5	8,8	8	14			
Terapia hormonal	Sim	6	10,5	21	36,8	0,282	-	0,596
	Não	5	8,8	25	43,9			
DST	Sim	2	3,6	3	5,4	1,441	-	0,230
	Não	9	16,1	42	75			
Tabaco	Sim	6	10,5	18	31,6	0,865	-	0,352
	Não	5	8,8	28	49,1			
Álcool	Sim	9	16,1	38	67,9	0,333	-	0,564
	Não	1	1,8	8	14,3			
Preventivo	Sim	6	10,9	40	72,7	8,502	8,333	0,004
	Não	5	9,1	4	7,3			

Nº: Número de participantes que responderam a estas questões; %: Porcentagem; X²: Teste Qui-quadrado de Pearson; OR: *Odds Ratio*; p: Teste Exato de Fisher

Entre as mulheres positivas para o HPV-DNA, a faixa etária de até 25 anos foi a mais incidente, sendo a média de idade de 22,7 anos. Já nas mulheres acima de 35 anos não foi detectado o HPV, como o observado na figura 7.

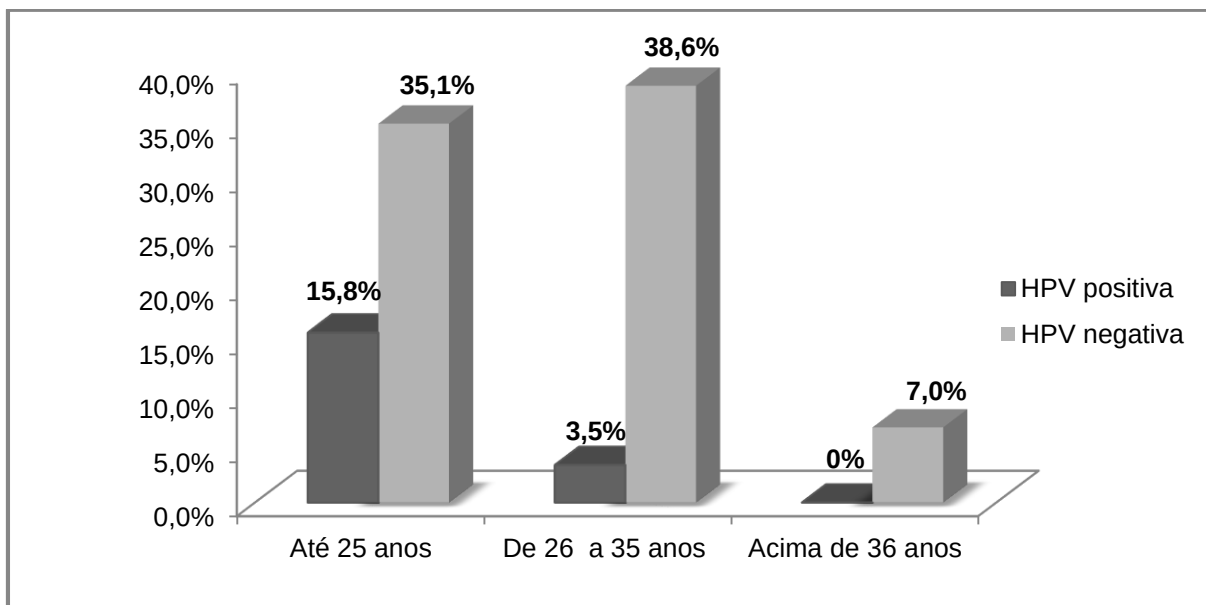


Figura 7 – Distribuição da positividade para DNA de HPV de acordo com a classificação por faixa etária, em amostras de mulheres profissionais do sexo em Campo Grande, MS – 2011.

Entre as cinco mulheres que relataram ter DST, em algum período da vida, duas foram positivas para o HPV.

Não houve correlação estatística entre a positividade para HPV-DNA e as seguintes variáveis: escolaridade, idade da primeira relação sexual, o uso de terapia hormonal, relato de DST, tabagismo e uso de bebida alcoólica ($p > 0,05$).

5.3 Identificação dos tipos virais

Entre as 13 amostras positivas para o HPV-DNA, duas não tiveram seus questionários completamente respondidos, portanto, não estavam aptos para análise estatística, porém mesmo assim optou-se pela genotipagem de todas as amostras.

Dentre as amostras positivas para HPV-DNA, todas tiveram os seus tipos virais identificados, por PCR tipo-específica ou por RFLP. Os tipos de alto risco de HPV foram os mais frequentes, como observado na figura 8.

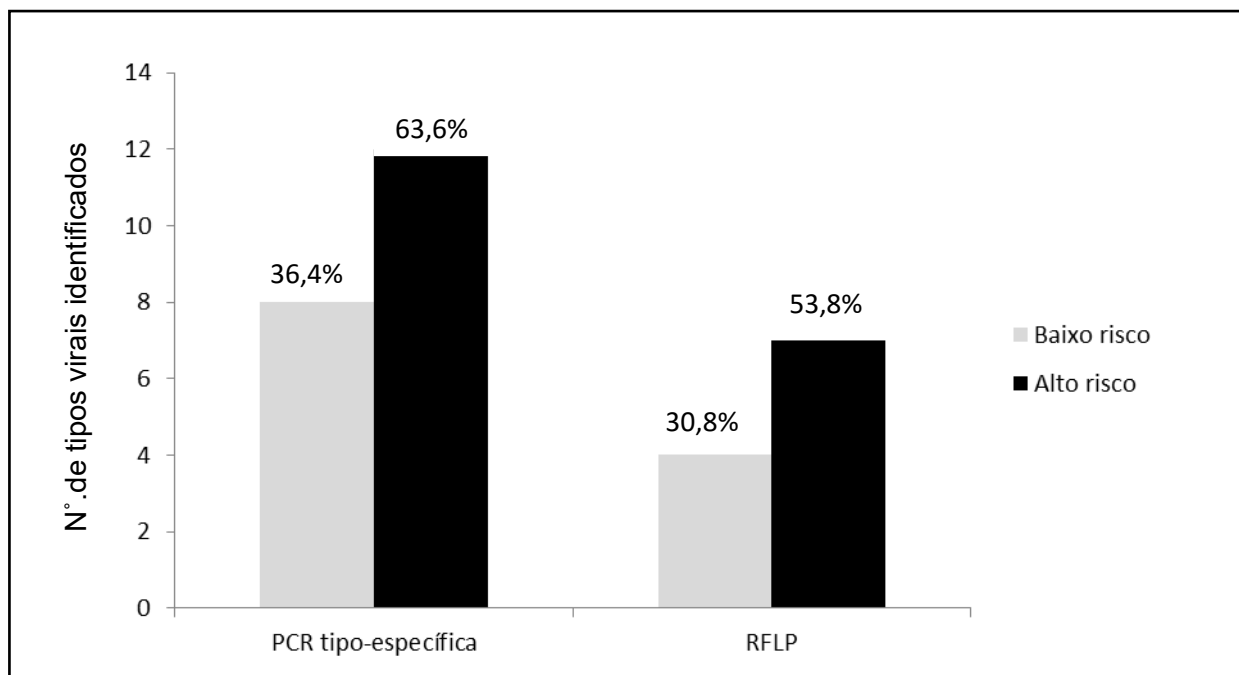


Figura 8 – Distribuição dos tipos virais identificados segundo a oncogenicidade e de acordo com o método de genotipagem utilizado nas amostras de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS – 2011.

5.3.1 PCR tipo-específica

As amostras positivas para o HPV-DNA foram genotipadas por PCR tipo-específica para a identificação dos sete tipos virais predominantes mundialmente (BOSCH *et al.*, 1995; WALBOOMERS *et al.*, 1999), sendo os tipos 6 e 11, de baixo risco oncogênico e os tipos 16, 18, 31, 33 e 45, de alto risco oncogênico.

Dentre as 13 amostras positivas para o HPV-DNA, 76,92% (10/13) foram positivas para pelo menos um dos tipos virais citados acima. A distribuição dos tipos entre as amostras positivas pode ser observada na figura 9.

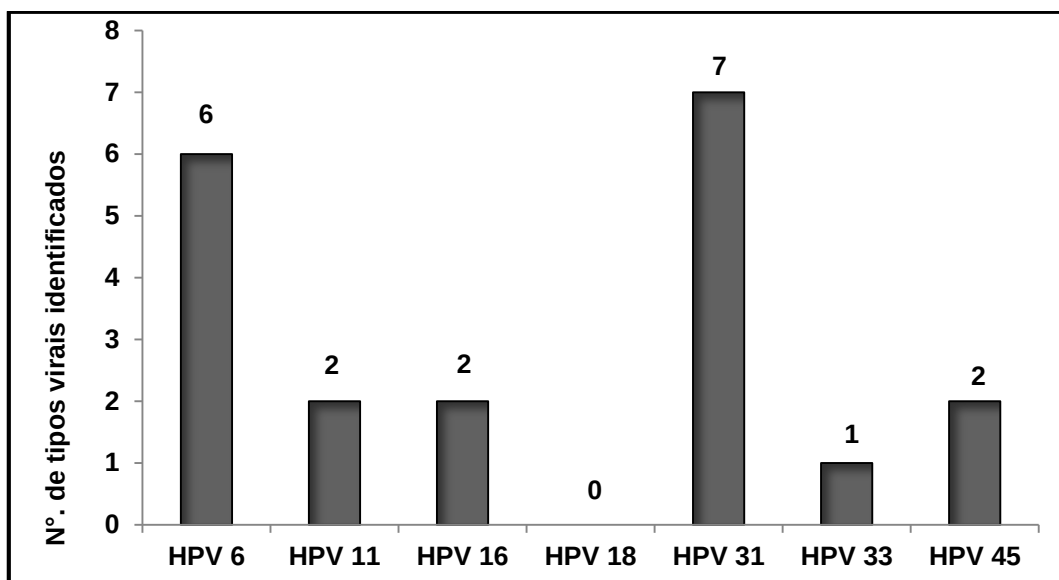


Figura 9 – Distribuição dos tipos virais, identificados por PCR tipo-específica, entre as amostras positivas para o HPV-DNA de mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.

5.3.2 Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP)

As amostras positivas para o DNA de HPV foram submetidas a técnica de RFLP para a genotipagem viral. Após a análise, 15,4% (2/13) das amostras não tiveram o tipo viral identificado por RFLP, porém estas amostras tiveram os seus tipos virais identificados por PCR tipo-específico.

Das 11 amostras que tiveram seus tipos virais detectados por RFLP, 36,4%(4/11) foram tipos de baixo risco oncogênico e 63,6%(7/11) tipos de alto risco, como demonstrado na figura 10 e figura 11.

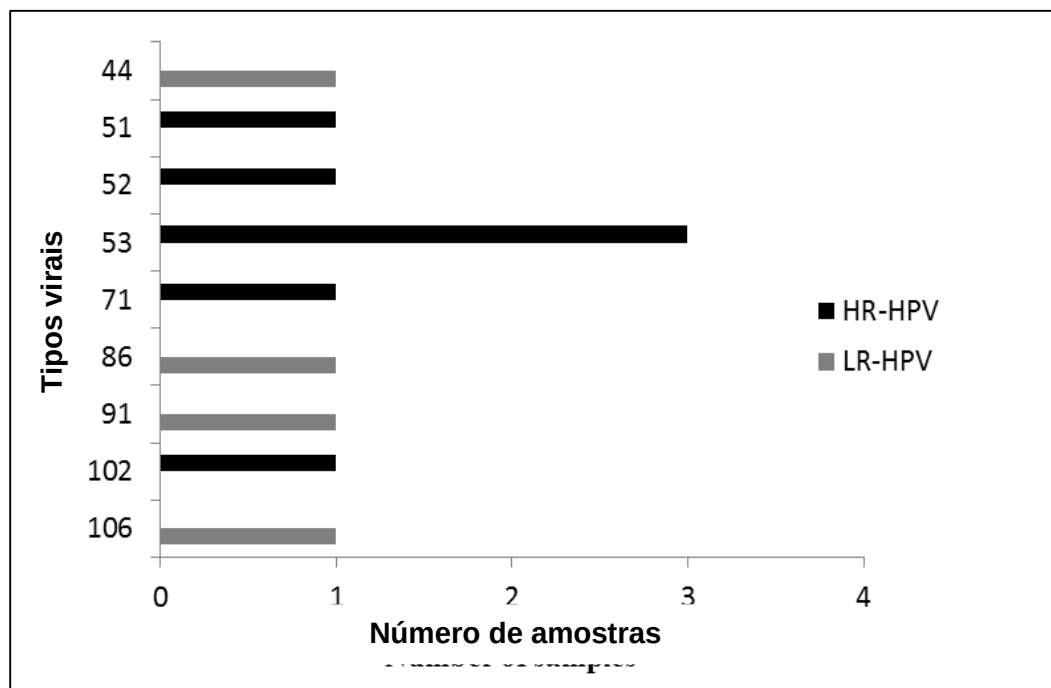


Figura 10 – Distribuição dos tipos virais, identificados por RFLP, entre as amostras positivas para o HPV-DNA de mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011. Nota: HPV 53, HPV 102 e HPV 71 são classificados como possível de alto risco oncogênico segundo Doorbar e colaboradores (2012).

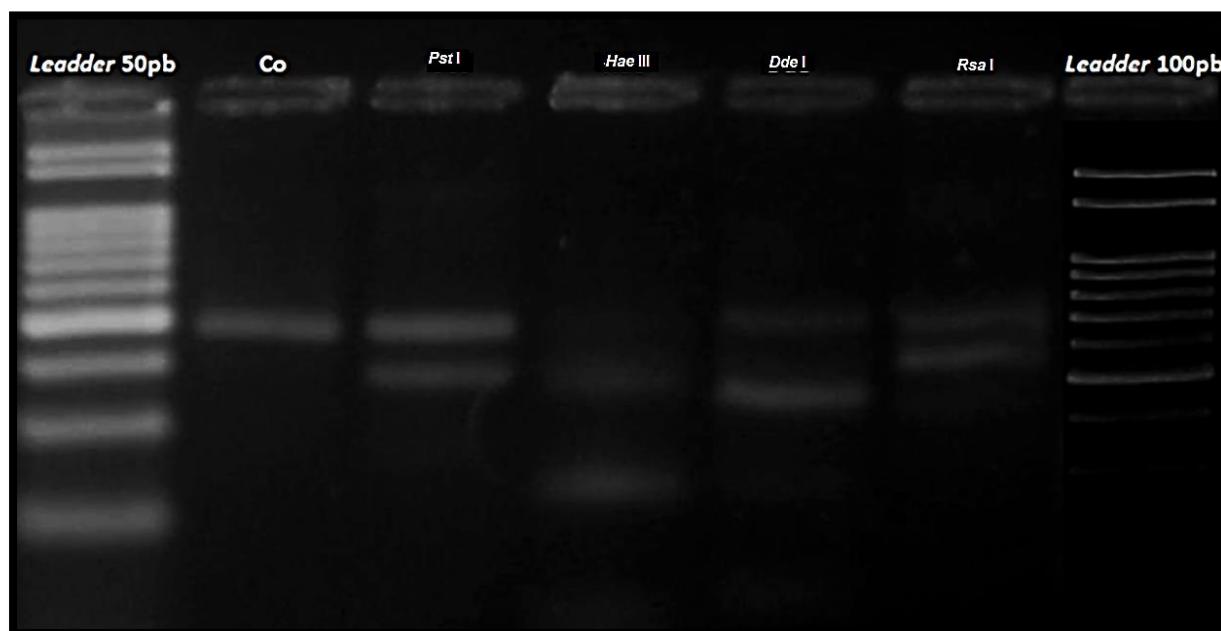


Figura 11- Perfil de restrição HR-HPV 86, em amostras de canal vaginal e de cérvix uterina de mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS - 2011. Leader: marcador de massa molecular/Leader 100pb e Leader 50pb, Co: controle negativo, *PST I*; *Hae III*; *Dde I*; *Rsa I*: enzimas de restrição.

Entre as 11 amostras positivas para o HPV-DNA que eram viáveis para a análise estatística, 8 estavam infectadas por tipos de alto risco oncogênico.

Observou-se correlação estatística entre os HR-HPV e a não utilização de preservativo ($p=0,048$) e uma tendência estatística quanto a não realização da citologia oncológica ($p=0,080$), conforme demonstrado na tabela 4.

Tabela 4 – Positividade para HPV de alto risco oncogênico segundo as variáveis socioepidemiológicas em mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.

Variável		HR-HPV				X²	OR	p
		Positivo		Negativo				
		N°.	%	N°.	%			
Idade	≤ 25 anos	6	10,5	23	40,4	2,364	-	0,307
	≥ 26 anos e ≤ 35 anos	2	3,5	22	38,6			
	≥ 36 anos	0	0	4	7,0			
Escolaridade	Fundamental incompleto	0	0	2	3,6	0,707	-	0,872
	Fundamental	3	5,4	14	25			
	Médio	4	7,1	28	50			
	Superior	1	1,8	4	7,1			
Primeira relação sexual	≤ 15 anos	5	8,8	33	57,9	0,073	-	0,787
	≥ 16 anos	3	5,3	16	28,1			
Preservativo	Sim	4	7,0	40	70,2	3,909	4,444	0,048
	Não	4	7,0	9	15,8			
Terapia hormonal	Sim	5	8,8	22	38,6	0,855	-	0,355
	Não	3	5,3	27	47,4			
DST	Sim	1	1,8	4	7,1	0,146	-	0,702
	Não	7	12,5	44	78,6			
Tabaco	Sim	4	7,0	20	35,1	0,238	-	0,626
	Não	4	7,0	29	50,9			
Álcool	Sim	7	12,5	40	71,4	0,088	-	0,766
	Não	1	1,8	8	14,3			
Preventivo	Sim	3	5,5	6	10,9	3,056	-	0,080
	Não	5	9,1	41	74,5			

N°: Número de participantes que respondera aos questionários; %: Porcentagem; X^2 : Teste Qui-quadrado de Pearson; OR: *Odds Ratio*; p : Teste Exato de Fisher

5.3.3 Infecções múltiplas

As infecções múltiplas (IM) por HPV foram encontradas em 11 amostras, representando 84,6% (11/13) das amostras positivas para o HPV-DNA e 81,8% (9/11) das amostras aptas para análise estatística. Destas amostras, 54,5% (6/11) apresentavam dois tipos de HPV, sendo que 27,3%(3/11) eram tipos de alto risco oncogênico, 9,0% (1/11) tipos de baixo risco e 18,9%(2/11) HPV de alto e baixo risco oncogênico. Em 45,5%(5/11) das amostras, houve infecção por mais de dois tipos de HPV, sendo, de baixo e alto risco oncogênico (Quadro 5).

Quadro 5- Genotipagem das amostras positivas para DNA de HPV identificadas em amostras de cérvix uterina de mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS – 2011.

Amostra	PCR tipo-específica	RFLP	Infecção
1	-	HPV 53 (HR)	Simples
2	-	HPV 106 (LR)	Simples
3	HPV 31 (HR)	HPV 51 (HR)	Múltipla*
4	HPV 6 (LR) e HPV 31 (HR)	HPV 53 (HR)	Múltipla**
5	HPV 33 (HR)	HPV 91 (LR)	Múltipla*
6	HPV 6 (LR), HPV 11 (LR) e HPV 31 (HR)	HPV 86 (LR)	Múltipla**
7	HPV 6 (LR) e HPV 45 (HR)	HPV 52 (HR)	Múltipla**
8	HPV 11 (LR) e HPV 31 (HR)	-	Múltipla*
9	HPV 45 (HR)	HPV 102 (HR)	Múltipla*
10	HPV 6 (LR)	HPV 44 (LR)	Múltipla*
11	HPV 16 (HR) e HPV 31 (HR)	-	Múltipla*
12	HPV 6 (LR), HPV 16 (HR) e HPV 31 (HR)	HPV 71 (HR)	Múltipla**
13	HPV 6 (LR) e HPV 31 (HR)	HPV 53 (HR)	Múltipla**

Nota: (-) Amostras não genotipadas por perfil de restrição; (*) Infecção múltipla por dois tipos de HPV; (**) Infecção múltipla por mais de dois tipos de HPV. LR: baixo risco oncogênico. HR: alto risco oncogênico.

Com relação à análise estatística das IM e as diversas variáveis, entre as amostras positivas para o HPV-DNA duas não foram incluídas por não conterem todos os itens do questionário respondidos. Restando 19,3% (11/57) de amostras

positivas aptas para análise, destas 15,8% (9/57) foram classificadas como infecções múltiplas (Tabela 5).

Tabela 5 – Presença de Infecção múltipla por HPV segundo as variáveis socioepidemiológicas em mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS – 2011.

Variáveis		Infecções múltiplas						X ²	p
		Neg. e IS.		IM*		IM**			
		N°	%	N°.	%	N°.	%		
Idade	≤ 25 anos	22	38,6	4	7,0	3	5,3	3,298	0,498
	≥ 26 anos e ≤ 35 anos	22	38,6	1	1,8	1	1,8		
	≥ 36 anos	4	7,0	0	0	0	0		
Escolaridade	Fundamental incompleto	2	3,6	0	0	0	0	3,549	0,702
	Fundamental	13	23,2	2	3,6	2	3,6		
	Médio	28	50	3	2,9	1	1,8		
	Superior								
Primeira relação sexual	≤ 15 anos	33	57,9	2	3,5	3	5,3	1,819	0,516
	≥ 16 anos	15	26,3	3	5,3	1	1,8		
Preservativo	Sim	40	70,2	3	5,3	1	1,8	8,057	0,017
	Não	8	14,0	2	3,5	3	5,3		
Terapia hormonal	Sim	22	38,6	2	3,5	3	5,3	1,379	0,570
	Não	26	45,6	3	5,3	1	1,8		
DST	Sim	4	7,1	1	1,8	0	0	1,156	0,598
	Não	43	76,8	4	7,1	4	7,1		
Tabaco	Sim	19	33,3	4	7,0	1	1,8	3,551	0,195
	Não	29	50,9	1	1,8	3	5,3		
Álcool	Sim	39	69,6	4	7,1	4	7,1	1,787	0,446
	Não	9	16,1	0	0	0	0		
Preventivo	Sim	41	74,5	2	3,6	3	5,5	8,189	0,024
	Não	5	9,1	3	5,5	1	1,8		

Nº: Número de questionários; %: Porcentagem; X²: Teste Qui-quadrado de Pearson; OR: *Odds Ration*; p: Teste Exato de Fisher; IM: Infecção múltipla; (*): Infecção múltipla por dois tipos de HPV; (**): Infecção múltipla por mais de dois tipos de HPV, Neg e IS: negativa e infecção simples.

Entre as múltiplas infecções observou-se significância estatística em relação ao uso de preservativo ($p=0,017$) e a realização da citologia oncológica, exame preventivo ($p=0,024$) (Tabela 5).

5.4 Detecção de coinfeções

5.4.1 Detecção de *Gardnerella vaginalis*

Das 67 amostras analisadas, o DNA de *G. vaginalis* esteve presente em 71,6% (48/67) e entre as 57 amostras que continham o questionário apto à análise estatística *G. vaginalis* foi detectada em 82,5% (47/57) (Tabela 8). Foi detectada a presença de *G. vaginalis* em 76,9% (10/13) das amostras HPV positivas e em 79,6% (54/67) das amostras negativas para HPV (Tabela 7).

5.4.2 Detecção de *Chlamydia trachomatis*

Das 67 amostras analisadas, *C. trachomatis* foi detectada em 25,4% (17/67) das amostras e entre as 57 amostras cujos questionários estavam aptos à análise estatística *C. trachomatis* esteve presente em 26,3% (15/57) das amostras. Quando relacionada à infecção por HPV, em 38,5%(5/57) das amostras positivas para o HPV houve coinfeção por *C. trachomatis*, enquanto que, nas amostras HPV negativas *C. trachomatis* foi detectada em 22,2%(12/54) (Figura 12).



Figura 12-PCR para detecção de *Chlamydia trachomatis* (240pb) e *Gardnerella vaginalis* (310pb) em amostras do canal vaginal e da cérvix de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS - 2011. *Leader*: marcador de massa molecular/*Ladder* 100pb e *Leader* 50pb, CI: controle positivo para *C. trachomatis*; CII: controle positivo para *G. vaginalis*, NO: controle negativo.

5.4.3 Detecção de *Trichomonas vaginalis*

O *T. vaginalis* foi detectado em 4,5%(3/67) das amostras, sendo que dentre estas amostras duas não tinham questionários aptos para análise. Na figura 13 observamos a PCR para detecção do DNA de *T. vaginalis* com banda de 300 pb.

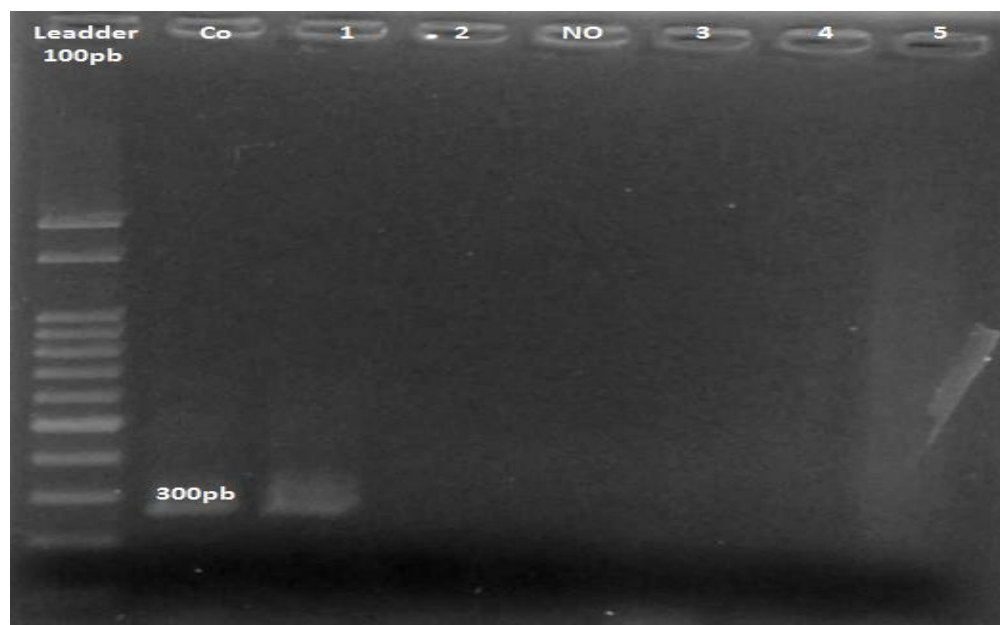


Figura 13 -PCR para detecção de *Trichomonas vaginalis* (300pb) em amostras de canal vaginal e endocérvice de mulheres profissionais do sexo de Campo Grande, MS - 2011. *Leadder*: marcador de massa molecular/*Ladder* 100pb, Co: controle positivo; NO: controle negativo.

5.4.4 Detecção de coinfeção por HPV, *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis*

Foi observada presença de coinfeção por *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis* entre as amostras positivas e negativas para o HPV-DNA conforme descrito na tabela 6.

Tabela 6 –Papilomavírus humano (HPV), *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* em amostras do canal cervical e cérvice uterina, autocoletadas de mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS - 2011.

Coinfecção	Amostras		Total
	HPV negativas	HPV positivas	
<i>G. vaginalis</i>	79,6% (43/54)	76,9% (10/13)	79,1% (53/67)
<i>C. trachomatis</i>	22,2% (12/54)	38,5% (5/13)	25,4% (17/67)
<i>T. vaginalis</i> e <i>G. vaginalis</i>	5,6% (3/54)	0% (0/13)	4,5% (3/67)
<i>C. trachomatis</i> e <i>G. vaginalis</i>	18,5% (10/54)	30,8% (4/13)	20,9% (14/67)
<i>C. trachomatis</i> , <i>G.vaginalis</i> e <i>T.vaginalis</i>	1,8% (1/54)	0% (0/13)	1,5% (1/67)

Foram analisados os resultados referentes à presença de *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis* e a positividade para o DNA de HPV, considerandoas 57 amostras com questionários aptos à análise, sendo que não houve correlação estatística (Tabela 7).

Tabela 7 - Distribuição das amostras segundo a positividade para o DNA do HPV, presença de *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis* entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.

Coinfecções		HPV				X ²	OR	P
		Positivo		Negativo				
		N.º	%	N.º	%			
C. trachomatis	Positivo	5	8,8	10	17,5	2,575	-	0,109
	Negativo	6	10,5	36	63,2			
G. vaginalis	Positivo	10	17,5	37	64,9	0,673	-	0,412
	Negativo	1	1,8	9	15,8			
T. vaginalis	Positivo	0	0	1	1,8	0,243	-	0,622
	Negativo	11	10,8	45	78,9			

N.º: Número de amostras; %: Porcentagem; X²: Teste Qui-quadrado de Pearson; OR: *Odds Ratio*; p: Teste Exato de Fisher.

A tabela 8 demonstra a relação entre as amostras com HPV de alto risco oncogênico (HR-HPV) e a presença de *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis*.

Tabela 8 – Positividade para HR-HPV segundo a presença de *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis*, entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.

Coinfecções		HR-HPV				X²	OR	P
		Positivo		Negativo				
		N.	%	N.	%			
C. Trachomatis	Positivo	4	7,0	11	19,3	2,692	-	0,101
	Negativo	4	7,0	38	66,7			
G. Vaginalis	Positivo	8	14,0	39	68,4	1,980	-	0,159
	Negativo	0	0	10	17,5			
T. Vaginalis	Positivo	0	0	1	1,8	0,166	-	0,684
	Negativo	8	14,0	48	84,2			

N.º: Número de amostras; %: Porcentagem; X²: Teste Qui-quadrado de Pearson; OR: *Odds Ratio*; p: Teste Exato de Fisher.

Como demonstrado pela tabela 9, a presença de *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis* foi relacionada com o tipo de infecção por HPV, sendo, esta classificada em três grupos: quando não ocorreram infecções múltiplas ou apenas infecções simples, infecções múltiplas por dois tipos de HPV e quando estas infecções eram ocasionadas por mais de dois tipos virais.

Tabela 9 – Infecção múltipla segundo a presença de *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis* entre as mulheres profissionais do sexo da cidade de Campo Grande, MS – 2011.

Coinfecções		Infecções múltiplas por HPV						X ²	OR	P
		Neg e IS		IM*		IM **				
		N.º	%	N.º	%	N.º	%			
C. trachomatis	Positivo	11	19,3	2	3,5	2	3,5	1,926	-	0,495
	Negativo	37	64,9	3	5,3	2	3,5			
G. vaginalis	Positivo	39	68,4	4	7,0	4	7,0	0,920	-	0,825
	Negativo	9	15,8	1	1,8	0	0			
T. vaginalis	Positivo	1	1,8	0	0	0	0	0,191	-	1,000
	Negativo	47	82,5	5	8,8	4	7,0			

N°: Número de questionários; %: Porcentagem; X²: Teste Qui-quadrado de Pearson; OR: *Odds Ration*; p: Teste Exato de Fisher; IM: Infecção múltipla; (*): Infecção múltipla por dois tipos de HPV; (**): Infecção múltipla por mais de dois tipos de HPV, Neg e IS: negativa e infecção simples.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo é de caráter inédito em nosso Estado, pois não há registros sobre a infecção por Papilomavírus humano (HPV) em mulheres profissionais do sexo. Foi encontrada uma frequência de 19,4% do HPV-DNA, sendo o genótipo mais frequente o HPV 31 (53,8%) (HR-HPV), seguido pelo HPV 6 (46,1%) (LR-HPV) e HPV 53 (23,1%) (HR-HPV). Não se detectou o HPV 18 entre as amostras HPV positivas, corroborando com Almeida e colaboradores (2013) que também não detectaram o HPV 18 entre os tipos mais prevalentes, entretanto, estudando jovens acadêmicas de Campo Grande-MS SOOHOO *et al.* (2013), em estudo realizado também com mulheres profissionais do sexo, encontraram os HR-HPV como mais prevalentes, embora os tipos de HPV mais frequentes fossem o HPV 16 e 18.

As IST afetam mais de 500 milhões de pessoas por ano no mundo sendo consideradas um problema social que afeta tanto a saúde sexual como a reprodução da população (GOTTLIB *et al.*, 2014), além disso, quando estas infecções estão associadas aos processos de carcinogênese, como nas infecções persistentes pelos tipos HR-HPV, há necessidade de se ampliar a cobertura populacional para triagem diagnóstica, principalmente entre as populações de maior risco para aquisição da infecção. Sabe-se que as mulheres profissionais do sexo têm mais probabilidade em adquirir a infecção pelo HPV do que a população em geral, em virtude da maior exposição aos diversos fatores de risco (LEUNG *et al.*, 2013).

Ressalta-se também que quando o HPV é detectado, o risco de desenvolver lesões precursoras do câncer cervical é 10 vezes maior (KOUSTSKY *et al.*, 1992) e a persistência viral de tipos de alto risco oncogênico está associada à progressão da infecção, havendo destaque para os tipos HPV 16, 18, 58, 31, 33, 45, 31, 52, 35, 59, 39, 51 e 56 (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2012; LI *et al.*, 2011). Estudo realizado na região Sudeste do Brasil, entre mulheres profissionais do sexo, encontrou o HPV 16 como o mais prevalente e o HPV 31 não foi detectado (POGETTO; SILVA; PARADA, 2011), enquanto na Bélgica, estudo comparando mulheres profissionais do sexo e mulheres que não eram profissionais do sexo, mas com as mesmas características sócioepidemiológicas, não houve diferença quanto à incidência do HPV 31, HPV 16 e HPV 52 no grupo das

profissionais do sexo e também em relação ao nosso estudo, porém no segundo grupo de mulheres o HPV 16 foi o mais frequente (MAK; RENTERGHEM; CUVELIER, 2004).

A diferença de prevalência dos tipos de HPV pode ser atribuída às diferenças geográficas, considerando mulheres profissionais do sexo ou não. Em revisão de literatura sobre a prevalência de HPV em mulheres profissionais do sexo, o HPV 31 está entre os três genótipos de alto risco mais frequentes no mundo e o HPV 6 o mais frequente entre os de baixo risco, corroborando com o encontrado neste estudo. Entretanto, o HPV 53 foi detectado apenas em 8 países localizados na Europa, América latina, África e na Ásia (SOOHOO *et al.*, 2013).

Ressalta-se que no Brasil o governo incluiu no calendário de vacinação, a partir de 2014, a utilização da vacina quadrivalente contra o HPV, para meninas de 9 a 13 anos, a qual protege para os tipos HPV 6, HPV 11, HPV 16 e HPV 18 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Como a prevalência dos tipos pode variar de acordo com a região geográfica, novos estudos estão sendo realizados para ampliar a cobertura vacinal tipo-específica com o desenvolvimento da vacina nonavalente. Entre os tipos inclusos nesta nova vacina está o HPV 31 (SERRANO *et al.*, 2012), sendo este tipo o mais frequente no presente estudo.

Segundo Muñoz e colaboradores (2008), para aprimorar os programas de triagem do câncer cervical dois componentes são essenciais, um deles é a introdução de vacinas contra o HPV e outro a prevenção secundária com a introdução dos programas de triagem diagnóstica. Para tal, as decisões devem ser tomadas em evidências e são necessárias estimativas confiáveis da prevalência da doença e dos tipos virais predominantes em cada região. Corroborando com a importância dos genótipos encontrados neste estudo, o HPV 31 e o HPV 53, pois são tipos virais não inclusos nas vacinas disponíveis no mercado. A infecção pelo HPV também está relacionada a alguns fatores predisponentes, dentre eles, destacam-se: a idade, o início precoce da atividade sexual, a não utilização de preservativos, uso de terapias hormonais, a ingestão de bebidas alcoólicas, o uso de tabaco, a frequência com que realizam o exame de Citologia Oncótica (Papanicolau) e a presença de outros micro-organismos co-infectando o ambiente da cérvix (DE VILLIERS; *et al.*, 2004). As exposições constantes a estes fatores tornam as mulheres profissionais do sexo um grupo de risco para a aquisição viral, com relatos de início precoce de seu primeiro intercuro sexual, e de que muitas vezes ocorre

negociação quanto ao uso de preservativo (LIBÓRIO., 2005; SIMON; SILVA; PAIVA., 2002).

Observa-se que a infecção por HPV é mais frequente em duas faixas etárias, no início da idade sexual (aproximadamente 23 anos de idade) e posteriormente entre 30 e 45 anos de idade (FRANCO; CUZICK., 2008). Estes dados corroboram com o presente estudo, onde a faixa com maior frequência do HPV-DNA foi a de até 25 anos, com média de idade de 22,7 anos. Porém, nossos resultados divergem quanto à faixa etária maior ou igual a 36anos, talvez em virtude do pequeno número amostral, para este grupo. Apesar de não ter sido encontrada associação estatística entre a idade das mulheres e a infecção por HPV, este fator é relevante, pois se verificou tendência à positividade entre as faixas etárias mais jovens. Sabe-se que alguns fatores podem contribuir com a progressão da infecção, dentre eles estão: a infecção persistente por HR-HPV, resposta ineficaz do sistema imunológico e integração do genoma viral ao genoma do hospedeiro (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2012). Estudos também demonstram que aproximadamente 10% das mulheres infectadas não eliminam o vírus e que a carga viral é elevada em mulheres na faixa etária de 25 anos, possivelmente pela exposição ao HPV enquanto são imunologicamente *naive* para o vírus (RAMANAKUMAR *et al.*, 2010; VILLA, 1998).

Entre as mulheres profissionais do sexo, observa-se que existem algumas variações quanto à prevalência da infecção por HPV. Tal fato pode ser justificado por vários fatores, dentre eles destacam-se: a sensibilidade dos métodos de detecção, os diferentes métodos de coleta de amostra aplicados, a dificuldade de acesso para obtenção de amostra nesta população e também a região geográfica analisada.

Em relação à sensibilidade dos métodos de detecção do HPV-DNA, sabe-se que os métodos diretos são altamente sensíveis, pois não se baseiam apenas nas alterações morfológicas, visto que o HPV pode permanecer em estado de latência na célula por anos sem causar lesões aparentes (NOBRE *et al.*, 2010; GRAVITT *et al.*, 2000; BERNARD *et al.*, 1994). A PCR tem sido amplamente utilizada, pois além de detectar a infecção por HPV também possibilita identificar os tipos presentes nas amostras, bem como, as infecções múltiplas (ABREU *et al.*, 2012).

No presente estudo, a técnica de PCR foi empregada para o diagnóstico da infecção por HPV na cérvix uterina. A detecção do HPV-DNA por PCR com os

*primers*PGMY 09/11 é bastante sensível e específica e quando aplicada às amostras autocoletadas pode ser uma ferramenta útil para estudos epidemiológicos sobre o HPV (PETIGNATI *et al.*, 2005) e outros micro-organismos, também transmitidos por contato sexual.

A autocoleta de amostras do canal vaginal e cérvix uterina, pode ser realizada com *swab* e escova endocervical, instrumentos pequenos, fáceis de manipular e a amostra obtida pode ser processada de maneira similar à amostra coletada clinicamente, evitando alterações de protocolos laboratoriais (MORRIS; ROSE; 2007). Com a vantagem de aumentar a cobertura da triagem, abrangendo mulheres que não se submetem a exames pélvicos por razões culturais, bem como aquelas a que a rede pública de saúde não consegue alcançar. Estudo realizado por Campos e colaboradores (2014), avaliou o índice de concordância (*Kappa*) da autocoleta e coleta clínica quanto à utilização da amostra para detecção de DNA de HPV e permitiu a observação de que foi obtido material suficiente para detectar a presença viral, com concordância satisfatória de 84,6%.

Observa-se também que a autocoleta tem aceitação de moderada a alta entre as mulheres (75% a 95%), além de ser um método fácil de obtenção de amostras, pois não é necessária a utilização de espéculo, mesa ginecológica ou profissional habilitado (SCHMEINK *et al.*, 2011; KAHN *et al.*, 2005). As células obtidas na coleta clínica são predominantes da cérvix uterina, já na autocoleta há uma mistura de células do canal vaginal e cervicais, além disso, alguns estudos relataram não haver diferenças entre os tipos de HPV de alto risco detectados em ambas as coletas (CASTLE *et al.*, 2007).

No presente estudo, as profissionais do sexo foram abordadas "*in loco*", portanto, a opção de obtenção de amostras por autocoleta facilitou a adesão ao estudo. Quanto ao rendimento, observou-se perda amostral de 15,9% das amostras, pois nestas não houve a amplificação do gene da β -globina, resultado semelhante ao estudo de Brown e colaboradores (2009) em que a perda de amostras abrangeu 14,3%, sendo que no mesmo estudo não houve significância estatística entre a perda amostral entre as amostras clínicas e das autocoletas. No presente estudo a perda das amostras pode ter ocorrido por não coleta ou coleta inadequada por parte das participantes do estudo, pois, embora tenham sido orientadas verbalmente e por escrito, as mesmas estavam em ambiente de trabalho, e provavelmente, utilizando no canal vaginal substâncias que poderiam interferir na PCR.

Como foi abordado anteriormente, a prevalência da infecção por HPV entre as mulheres profissionais do sexo pode variar de acordo com a região geográfica, entre 2,3% a 100%, tendo uma média de 42,7% de positividade (SOOHOO; *et al.*, 2013). A frequência desta infecção no presente estudo foi de 19,4%, semelhante ao encontrado em Singapura 14,4% (CHOW *et al.*, 2000) e no México 11,8% (VOLKOW *et al.*, 2001).

Estudos realizados no Vietnã entre as mulheres profissionais do sexo, também demonstram essa diferença de positividade para o HPV, de acordo com a região geográfica estudada, pois no Norte do território a infecção esteve presente em 49,5% das mulheres e no Sulem 85% (HOUANG *et al.*, 2013; FERLAY *et al.*, 2010). Foi observado também, que na região Sudeste do território brasileiro o HPV foi detectado em 67,6% das mulheres profissionais do sexo analisadas (PONGETTO; SILVA; PARADA 2011), discordante da positividade encontrada no presente estudo na região Centro-Oeste.

Esta baixa positividade encontrada no presente estudo pode ser resultado da constante realização da citologia oncológica, exame preventivo para o câncer de colo de útero, relatado pela maioria. Observamos que as mulheres que relataram realizar o exame preventivo frequentemente têm tendência estatística a não adquirir a infecção ($p=0.08$), além disso, quando comparado com a presença de HR-HPV e de múltiplas-infecções estas mulheres também apresentam menores riscos ($p<0,05$).

Ressalta-se também que o exame preventivo tem sido fundamental na redução da incidência do câncer cervical em vários países (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007), devido a sua alta especificidade na detecção de lesões cervicais de alto grau. Dessa forma, as mulheres têm menores riscos ao desenvolvimento das lesões quando submetidas à triagem efetiva e periódica, e quando estas são detectadas podem ser precocemente acompanhadas e tratadas (ARAL; HOLMES., 1999). Além disso, o exame preventivo também é capaz de identificar outros micro-organismos no microambiente cervical, sabe-se que estes quando presentes podem lesionar o epitélio e dessa forma facilitar a infecção pelo HPV. Com o diagnóstico precoce tanto das lesões ocasionadas pela infecção por HPV como dos micro-organismos, pode-se iniciar o tratamento adequado e dessa forma auxiliar na prevenção do câncer de colo do útero (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2012; RONCO *et al.*, 2006).

Estudo realizado no Nordeste do território brasileiro observou que as mulheres profissionais do sexo fazem acompanhamento médico periodicamente e mesmo entre as mulheres que possuem baixa escolaridade, há conscientização sobre os riscos de se adquirir alguma IST. Em contravérsia a este comportamento, elas também relataram que pode haver negociação quanto ao uso de preservativo entre os clientes (NICOLAU *et al.*, 2008), e este relato corrobora com o presente estudo pois entre as mulheres que não utilizam o preservativo o risco de adquirir a infecção é 4 vezes maior que aquelas que utilizam.

Além disso, houve no presente estudo relação estatística com a não utilização de preservativos e a infecção por HPV, a presença de HR-HPV e múltiplas infecções ($p < 0,05$), demonstrando que estas mulheres ainda se submetem às relações sexuais sem proteção, mesmo sabendo dos riscos aos quais estão expostas. Em estudo realizado no Sul do Brasil, algumas profissionais do sexo relataram que com clientes fixos não há uso preservativos e que dependendo da negociação financeira a proposta é irrecusável (MOURA *et al.*, 2010).

Os métodos de detecção do DNA-HPV quando associados à genotipagem viral são essenciais para compreensão dos tipos virais predominantes e também quanto à presença de infecções múltiplas (GHEIT *et al.*, 2006). No presente estudo houve predominância de infecções por genótipos de alto risco oncogênico, tanto pela técnica de RFLP quanto pela TS-PCR, estas duas técnicas de genotipagem quando associadas podem aprimorar o resultado.

A maior vantagem da utilização da TS-PCR é a capacidade de identificar com maior especificidade vários tipos de HPV. No presente estudo esta técnica objetivou detectar os sete tipos virais mais predominantes mundialmente, sendo estes HPV6, 11, 16, 18, 31, 33 e 45 (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2007). Para a detecção destes tipos a técnica requer várias etapas de amplificação, fato que demonstra a inviabilidade do método para pesquisas em larga escala amostral (LIN *et al.*, 2008). A técnica de TS-PCR proporcionou a genotipagem de onze amostras, onde os genótipos de alto risco foram predominantes, tendo destaque para o HPV 31, além disso, sete amostras apresentaram infecções múltiplas.

Além dos seis tipos detectados por TS-PCR, a associação com a técnica de RFLP proporcionou a identificação de mais nove tipos de HPV pela análise do perfil de restrição, sendo o HPV53 mais encontrado pela técnica de RFLP. A técnica de

restrição enzimática utilizada neste estudo foi baseada na análise da região L1 do genoma viral amplificada pelos *primers* PGMY 09/11, o que segundo Nobre e colaboradores (2008) podem ser utilizados. A vantagem da RFLP é que permite genotipagem menos dispendiosa, assim a técnica mostra-se eficaz, auxiliando na discriminação entre tipos de alto e baixo risco oncogênico, entretanto, como desvantagens têm a interferência do observador na leitura do perfil de restrição.

Entre as amostras positivas para o DNA-HPV todas tiveram os tipos virais identificados e em 84,6% houve presença de infecções múltiplas. Sendo esta proporção maior que o encontrado no Vietnã 61,2% (HOUANG *et al.*, 2013), na China 23,6% (SU *et al.*, 2016) e no estudo de revisão de literatura realizado em mulheres profissionais do sexo em que as múltiplas infecções estiveram presentes em 20,4% (SOOHOO *et al.*, 2013). Esta predominância de infecções múltiplas e genótipos de alto risco encontrados no presente estudo podem ser justificados pelo relato de não uso do preservativo, com relação estatística com a infecção por HPV, tipos de alto risco oncogênico e infecções múltiplas.

Ressalta-se que se por haver negociação quanto ao uso de preservativos, ou até mesmo a opção por não utilização, em relação a alguns clientes, as mulheres profissionais do sexo, além da infecção por HPV também estão expostas a outros patógenos, como *C. trachomatis* e *T. vaginalis*. Sendo que, até os micro-organismos pertencentes à microbiota vaginal, podem se beneficiar das alterações causadas por infecções concomitantes, como *G. vaginalis*. Além disso, a infecção por HPV quando associada a estes patógenos pode ser potencializada, auxiliando dessa forma na evolução dos processos neoplásicos (RODRIGUEZ-CERDEIRA *et al.*, 2012; SANTO *et al.*, 2011; MURTA *et al.*, 2000).

Apesar de não haver relação estatística no presente estudo entre a infecção por HPV com outros micro-organismos, a frequência do DNA de *G. vaginalis* entre as amostras em geral de mulheres profissionais do sexo foi de 71,6%, enquanto que entre as amostras positivas para o HPV foi de 76,9%. Na microbiota normal, a frequência de *G. vaginalis* é relativamente baixa, sendo relatada em 14,5% das amostras (CRISTIANO *et al.*, 1989), em 25,9% (MAGAÑA-CONTRERAS *et al.*, 2015) ou até com uma prevalência mais elevada de 69% (TOTTEN *et al.*, 1982). Ressalta-se que *G. vaginalis* pode se beneficiar de algumas mudanças na microbiota, além de facilitar a entrada de outros patógenos (RODRIGUEZ-CERDEIRA *et al.*, 2012).

C. trachomatis também está entre os patógenos que podem lesionar o epitélio e dessa forma auxiliar a infecção pelo HPV. No presente estudo ela foi detectada em 25,4%, semelhante ao encontrado na região Sudeste do Brasil entre mulheres profissionais do sexo (20,5%) (PONGETTO; SILVA; PARADA 2011) e na região Norte (20,7%) (SANTOS *et al.*, 2003). Porém, em outro estudo realizado entre mulheres profissionais do sexo, a incidência da infecção foi baixa (6,2%) (SABIDÓ *et al.*, 2009) destaca-se que esta infecção também está relacionada ao contato sexual.

A infecção por *T. vaginalis* também é encontrada em baixa frequência entre as mulheres da população em geral, sendo que no presente estudo ele foi detectado em 4,5% das amostras. Nos estudos realizados em mulheres profissionais do sexo, a frequência relatada oscila entre 2,1% na China (SHU SU *et al.*, 2016), 3,0 % na região Sudeste do Brasil (PONGETTO; SILVA; PARADA 2011) e 5,6% no Nordeste (BRINGEL *et al.*, 2012). Ressalta-se que a incidência desta infecção pode variar, porém, a presença deste micro-organismo não é normal na microbiota. Entre estas infecções apenas *T. vaginalis* não foi encontrado coinfectando com o HPV, enquanto que a *G. vaginalis* e a *C. trachomatis* foram detectadas coinfectando com este vírus. A coinfecção para ambas foi elevada, sendo de 76,9% para *G. vaginalis* e 38,5% para *C. trachomatis* e a presença dos três patógenos simultaneamente foi de 30,8%. Mesmo não sendo encontrada relação estatística, estes patógenos podem estar associados a processos neoplásicos, pois podem potencializar a infecção causada pelo HPV (GRAM *et al.*, 2001), demonstrando a importância de estudos mais amplos correlacionando a presença destes patógenos previamente a infecção por HPV e a sua evolução para o câncer cervical.

Sintetizando o quadro de infecções entre as participantes do presente estudo, ressalta-se a importância do uso de preservativos e a frequência com que estas se submetem ao exame preventivo, pois em ambas as variações foram encontradas associações estatísticas, mostrando-se fatores de proteção. Mesmo não sendo encontrada relação entre as IST analisadas, de maneira geral as mulheres estão em contato com os patógenos, demonstrando possíveis riscos e necessidades de estudos mais amplos para confirmação.

Com relação ao HPV, os tipos de alto risco oncogênico encontrados, o HPV 31 e HPV 53 mais incidentes, neste estudo, não estão presentes entre os tipos cobertos pelas vacinas disponíveis no mercado, além disso, a ocorrência de infecções múltiplas, por mais de um tipo de HPV, foi elevada e estudos demonstram

que estas infecções múltiplas estão relacionadas com a persistência viral, um fator de risco para a progressão neoplásica (HO *et al.*, 1998).

Nossos achados ressaltam a importância de estudos mais abrangentes entre as populações de risco, com medidas de conscientização, bem como auxiliar em estudos futuros para introdução de vacinas contra os tipos virais mais predominantes, de acordo com as diferentes regiões geográficas.

Este trabalho também é o primeiro a avaliar a infecção por HPV bem como as coinfeções por *G. vaginalis*, *C. trachomatis* e *T. vaginalis* entre mulheres profissionais do sexo, no estado de Mato Grosso do Sul. Considerando que as infecções por HPV detectadas foram causadas por genótipos de alto risco e que estas na sua maioria eram infecções múltiplas, a triagem e o acompanhamento são essenciais entre os grupos de risco. Além disso, a orientação sobre os métodos de prevenção, também é fundamental para diminuir a incidência das IST encontradas no presente estudo.

7 CONCLUSÃO

Os achados do estudo demonstraram que:

A frequência da infecção por HPV foi de 19,4% entre as mulheres profissionais do sexo;

Os tipos de alto risco oncogênico foram mais encontrados neste estudo, tanto pela técnica de TS-PCR, quanto pela RFLP, sendo o HPV 31, 6 e o 53 os mais frequentes;

Houve elevada frequência de infecções múltiplas, ou seja, por mais de um tipo de HPV;

Mulheres com a faixa etária ≤ 25 anos foram mais susceptíveis à infecção por HPV;

No presente estudo houve coinfeções entre HPV e *C. trachomatis* em 38,5% das amostras e com *G. vaginalis* em 30,8%;

A não utilização de preservativos e a frequência com que as mulheres se submetem ao exame preventivo estiveram associadas à infecção por HPV, à presença de HR-HPV e as infecções múltiplas.

REFERÊNCIAS

ABREU, A. L. P.; SOUZA, R. P.; GIMENES, F.; CONSOLARO, M. E. L. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. **Virology Journal**, v. 9, n. 262, p. 1-9, 2012.

ARAL, S. O.; HOLMES, K. K. 1999. "Social and Behavioral Determinants of the Epidemiology of STDs: Industrialized and Developing Countries. "In **Sexually Transmitted Disease, 3 ed.**, ed. K. K. Holmes, P. F. Sparling, P.-A. Mardh, S. M. Lemon, W. E. Stamm, P. Piot, and J. N. Wasserheit, 139–76. New York: McGraw Hill.

BAUER, H. M.; TING, Y.; GREER, C. E.; CHAMBERS, J. C.; TASHIRO, C. J.; CHIMERA, J.; REINGOLD, A.; MANOS, M. M. **GENITAL HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION IN FEMALE UNIVERSITY STUDENTS AS DETERMINED BY A PCR-BASED METHOD**. *JAMA*, v. 265, n. 4, p. 472-477, Jan. 1991.

BERNARD, H. U.; CHAN, S. Y.; MANOS, M. M.; ONG, C. K.; VILLA, L. L.; DELIUS, H.; PEYTON, C. L.; BAUER, H. M.; WHEELER, C. M. Identification and assessment of known and novel human Papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 170, n. 5, p. 1077-1085, Nov. 1994

BOSCH FX, MANOS M, MUÑOZ N. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer Study Group. **Journal of National Cancer Institute**., v. 85, n. 11, p. 796-802, 1995.

BOSCH, F. X.; MANOS, M. M.; MUNOZ, N.; SHERMAN, M.; JANSEN, A. M.; PETO, J.; SCHIFFMAN, M. H.; MORENO, V.; KURMAN, R.; SHAH, K. V. Prevalence of human papilomavírus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC). Study Group. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 87, n. 11, p. 796-802, June. 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. **Agenda estratégica 2014**. Brasília SVS, 2011. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agenciasaude/16959sus-oferta-vacina-contra-hpv-para-meninas-de-9-a-11-anos>. Acesso: 18 Jan. 2016.

BRENTJENS, M. H.; YEUNG-YUE, K. A.; LEE, P. C.; TYRING, S. K. Human papillomavirus: a review. **Dermatologic Clinics**, v. 20, n. 2, p. 315-331, Apr. 2002.

BRINGEL, A. P. V.; RODRIGUES, M. P. F.; VIDAL, E. C. F. Análise dos laudos de Papanicolaou realizados em uma unidade Básica de saúde. **Cogitare Enferm**, v. 17, n. 4, p. 745-751, 2012.

BROWN, D. R.; SCHROEDER, J. M.; BRYAN, J. T.; STOLER, M. H.; FIFE, K. H. Detection of multiple human papillomavirus types in Condylomata acuminata lesions from otherwise healthy and immunosuppressed patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 10, p. 3316-3322, Oct. 1999.

BUFFON, A.; CIVA, M.; MATOS, V. Frota de Avaliação de lesões intraepiteliais escamosas e microbiologia em exames citológicos realizados em um laboratório de Porto Alegre. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Rio de Janeiro, v.38,n2,p.83-86, 2006.

CAMPOS, K. L. M.; MACHADO, A. P.; ALMEIDA, F. G. D.; BONIN, C. M.; PRATA, T. T. M.; ALMEIDA, L. Z.; PADOVANI, C. T. J.; FERREIRA, A. M. T.; FERNANDES, C. E. D. S.; TOZETTI, I. A. Good agreements between self and clinician-collected specimens for the detection of human papillomavirus in Brazilian patients. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** (Impresso), v. 109, p. xx-xx, 2014

CAMPOS, P. A. **Prevalência do vírus do papiloma humano – HPV em amostras de neoplasias epiteliais de revestimento da cavidade bucal**: detecção pela reação em cadeia da polimerase e pelo real time PCR. 2005. Tese (Doutorado em Patologia). Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, 2005.

CARVALHO, N. O.; del CASTILHO, D. M.; PERONE, C.; JANUÁRIO, J. N.; MELO, V. H.; FILHO, G. B. Comparison of HPV genotyping by type-specific PCR and

sequencing. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 1, p. 73-78, Feb. 2010.

CASTLE, P. E.; RODRIGUEZ, A. C.; PORRAS, C.; SCHIFFMAN, M.; HERRERO, R.; GONZALEZ, P. A comparison of cervical and vaginal human papillomavirus. **Sexual Transmitted Disease**, v. 34, n. 11, p. 849-855, Nov. 2007.

CHOI, B. S., KIM, O., PARK, M. S., KIM, K. S., JEONG, J. K., LEE, J. S. Genital human papillomavirus genotyping by HPV oligonucleotide microarray in Korean commercial sex workers. **Journal of Medical Virology**, v. 71, n. 3, p. 440–5, Nov. 2003.

CHOW, E. P. F; FEHLER, G.; CHEN, M. Y.; BRADSHAW, C. S.; DENHAM, I.; LAW, M. G.; CHRISTOPHER, K. Testing Commercial Sex Workers for Sexually Transmitted Infections in Victoria, Australia: An Evaluation of the Impact of Reducing the Frequency of Testing. **Fairley Published**: July 21, 2014.

COCCHI, V.; CARRETTI, D.; FANTI, S.; BALDAZZI, P.; CASOTTI, M. T.; PIAZZI, R.; PROSPERO, L.; MORSELLI-LABATE, A. M. Intralaboratory quality assurance in cervical/vaginal cytology: evaluation of intercytologist diagnostic reproducibility. **Diagnostic Cytopathology**, v. 16, n. 1, p. 87–92, Jan. 1997.

COCCHI, V.; CARRETTI, D.; FANTI, S.; BALDAZZI, P.; CASOTTI, M. T.; PIAZZI, R.; PROSPERO, L.; MORSELLI-LABATE, A. M. Intralaboratory quality assurance in cervical/vaginal cytology: evaluation of intercytologist diagnostic reproducibility. **Diagnostic Cytopathology**, v. 16, n. 1, p. 87–92, Jan. 1997.

COPE, J. U.; HILDESHEIM, A.; SCHIFFMAN, M. H.; MANOS, M. M.; LÖRINCZ, A. T.; BURK, R. D.; GLASS, A. G.; GREER, C.; BUCKLAND J.; HELGESEN, K.; SCOTT, D. R.; SHERMAN, M. E.; KURMAN, R. J.; LIAW, K. L. Comparison of the hybrid capture tube test and PCR for detection on Human Papillomavirus DNA in cervical specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 9, p. 2262-5, Sep. 1997.

COPE, J. U.; HILDESHEIM, A.; SCHIFFMAN, M. H.; MANOS, M. M.; LÖRINCZ, A. T.; BURK, R. D.; GLASS, A. G.; GREER, C.; BUCKLAND J.; HELGESEN, K.; SCOTT, D. R.; SHERMAN, M. E.; KURMAN, R. J.; LIAW, K. L. Comparison of the

hybrid capture tube test and PCR for detection on Human Papillomavirus DNA in cervical specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 9, p. 2262-5, Sep. 1997.

CRISTIANO, L.; COFFETTI, N.; DALVAI, G.; LORUSSO, L.; LORENZI, M. Bacterial vaginosis: prevalence in outpatients, association with some micro-organisms and laboratory indices. **Genitourin. Medical**, v. 65, p. 382-387, 1989.

DE ALMEIDA, F.G.; MACHADO, A. P.; FERNANDES, C.E.; FERREIRA, A. T.; PADOVANI, C. T.; TOZETTI, I. A. Molecular epidemiology of the human papillomavirus infection in self-collected samples from young women. **Journal of Medical Virology**, v.86, n.2, p.266-71, 2014.

DE VILLIERS, E. M.; FAUQUET, C.; BROKER, T. R.; BERNARD, H. U.; ZUR HAUSEN, H. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17-27, Jun. 2004.

DEL AMO, J.; GONZALEZ, C.; BELDA, J.; FERNÁNDEZ, E.; MARTÍNEZ, R.; GÓMEZ, I.; TORRES, M.; SAIZ, A. G.; ORTIZ, M. Prevalence and risk factors of high-risk human papillomavirus in female sex workers in Spain: differences by geographical origin. **Journal of Womens Health**, v. 18, n. 12, p. 2057-2064, Dec. 2009.

DERCHAIN, S. F. M; SARIAN, LOZ.Vacinas profiláticas para o HPV. **Revista Brasileira Ginecologia Obstetricia**. v. 29, n. 6, p. 281-4, 2007.

DOORBAR, J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. **Clinical Science**, v. 110, n. 5, p. 525-541, May. 2006.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of Clinical Virology**, v. 32, s. 1, p. 57- 515, Mar. 2005.

DOORBAR, J.; QUINT, W.; BANKS, L.; BRAVO, I. G.; STOLER, M.; BROKER, T. R.; STANLEY, M. A.The biology and life-cycle of human papillomaviruses.**Vaccine**, v. 5, n. 30, p. F55-F70, Nov. 2012.

EGGERT-KRUSE, W.; ROHR, G.; KUNT, B.; MEYER, A.; WONDRA, J.; STROWITZKI, T.; PETZOLDT, D. Prevalence of Chlamydia trachomatis in subfertile couples. **Fertil Steril**, v. 80, n. 3, p. 660-663, Sep. 2003.

FEDREZZI, E. N. Epidemiologia da infecção genital pelo HPV. **Revista Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior**, Brasil, v. 1, n. 1, p.3-8, Jul. 2011.

FERLAY, J.; SHIN, H.R.; BRAY, F.; FORMAN, D.; MATHERS, C.; PARKIN, D.M.. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. **International Journal of Cancer** v. 127, n.2, p. 2893–2917, Mai. 2010.

FERRAZ, L. C.; SANTOS, A. B. R.; DISCACCIATI, M. G. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 30, n. 2, p. 107-111, 2012.

FERRIS, M.J; KENNETH, A. M.; ALDRIDGE, E.; FORTENBERRY, D. J. PAUL L FIDEL, P. L. JR; MARTIN, D. H.; Association of Atopobium vaginae, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis. **BMC Infection Disease**, London, v.4: p.5-10, 2004.

FRANCO, E. L.; CUZICK, J. Cervical cancer screening following prophylactic human papillomavirus vaccination. **Vaccine 2008**,v. 26, n. 1, p. A16-23, 2014.

FRIEDEK, D., EKIEL, A., CHEŁMICKI, Z., ROMANIK, M. HPV, *Chlamydia trachomatis* and genital mycoplasmas infections in women with low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL). Ginekologic. **Journal of clinical Microbiology**. v. 75, n.6, p.457-463, Jun. 2004.

GHEIT, T.; LANDI, S.; GEMIGNANI, F.; SNIJDERS, P. J.; VACCARELLA, S.; FRANCESCHI, S.; CANZIAN, F.; TOMMASINO, M. Development of a sensitive and specific assay combining multiplex PCR and DNA microarray primer extension to detect high-risk mucosal Human Papillomavirus types. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 6, p. 2025-2031, Jun. 2006.

GISSMAN, L; DE VILLIERS, E. M.; ZUR HAUSEN, H. Analysis of human genital warts (*condylomata acuminata*) and other genital tumors for human papillomavirus type 6 DNA.**International Journal of Cancer**, v. 29, n. 2, p. 143-146, Feb. 1982.

GOPALKRISHNA, V.; AGGARWAL, N.; MALHOTRA, V. L.; KORANNE, R. V.; MOHAN, V. P.; MITTAL, A. *Chlamydia trachomatis* and human papillomavirus infection in Indian women with sexually transmitted diseases and cervical precancerous and cancerous lesions. **Clinical Microbiology Infection**, v.6, n. 2, p. 88-93, 2000.

GOTTLIEB, S.L.; LOW, N.; NEWMAN, L. M.; BOLAN, G.; KAMB, M.; BROUTET, N. Toward global prevention of sexually transmitted infections (STIs): the need for STI vaccines. **Vaccine**.v. 32, n. 14, p. 1727-1535, 2014 2014

GRAVITT, P. E.; LACEY, J. V.; BRINTON, L. A.; BARNES, W. A.; KORNEGAY, J. R.; GREENBERG, M. D.; GREENE, S. M.; HADJIMICHAEL, O. C.; MCGOWAN, L.; MORTEL, R.; SCHWARTZ, P. E.; ZAINO, R.; HILDESHEIM, A. Evaluation of self-collected cervicovaginal cell samples for human Papillomavirus testing by polymerase chain reaction. **Cancer Epidemiol Biomarkers**, v. 2, n. 10, p. 95-100, Feb. 2001.

GRAVITT, P. E.; PEYTON, C. I.; ALESSI, T. Q.; WHEELER, C. M.; COUPLÉE, F.; HILDSHEIM, A.; SCHIFFMAN, M. H.; SCOTT, D. R.; APPLE, R. J. Improved amplification of genital human Papillomaviruses. **Journal Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 357-361, Jan. 2000.

GUO, M.; SNEIGE, N.; SILVA, E. G.; JAN, Y. J.; COGDELL, D. E.; LIN, E.; LUTHRA, R.; ZHANG, W. Distribution and viral load of eight oncogênico types of human papillomavirus (HPV) and HPV 16 integration status in cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. **Modern Pathology**, v. 20, n. 2, p. 256-266, Feb. 2007.

HA, P. K.; PAI, S. I.; WESTRA, W. H.; GILLISON, M. L.; TONG, B. C.; SIDRANSKY, D.; CALIFANO, J. A. Real-Time Quantitative PCR Demonstrates Low Prevalence of Lesions of the Oral Cavity Human Papillomavirus Type 16 in Premalignant and Malignant. **Clinical Cancer Research**, v. 8, n. 5, p. 1203-1209, May. 2002.

HO, G. Y. F.; BIERMAN, R.; BEARDSLEY, L.; CHANG, C. J.; BURK, R. D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, v. 238, n. 7, p. 423-428, Feb. 1998.

HOUANG, H. T. T.; ISHIZAKI, A.; NGUYEN, C. H.; TRAN, V. T.; MATSUSHITA, K.; SAIKAWA K; HOSAKA, N.; PHAM, H. V.; BI, X.; TA, V. T.; PHAM, T. V.; ICHIMURA, H. Infection With High-Risk HPV Types Among Female Sex Workers in Northern Vietnam, **Journal of Medical Virology**, v.85, n.4, p. 288–294, Sept. 2013

INCA. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2016-2017**: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2016.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **A reveal of human carcinogenesis**. Lyon: IARC.2012 Vol. 100b.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**: Human Papillomaviruses. Lyon: IARC, v. 90, 2007.

JACOBS, M. V.; SNIJDERS, P. J.; VOORHORST, F. J.; DILLNER, J.; FORSLUND, O.; JOHANSSON, B.; KNEBEL, M. V. D.; MEIJER, C. J. L.; MEYER, T.; NINDL, I.; PFISTER, H.; STOCKFLETH, E.; STRAND, A.; WADEL, G.; WALBOOMERS, J. M. M. Reliable high risk HPV DNA testing by polymerase chain reaction: an intermethod and intramethod comparison. **Journal of Clinical Pathology**, v. 52, n. 7, p. 498-503, Apr. 1999.

KARLSEN, F.; KALANTARI, M.; JENKINS, A.; PETTERSEN, E.; KRISTENSEN, G.; HOLM, E.; JOHANSSON, B.; , B.; Use of multiple PCR primer sets for optimal detection of human Papillomavirus. **Journal of Clinic Microbiology**, v. 34, n. 9, p. 2095-2100, Sept. 1996.

KENGNE P, VEAS F, VIDAL N, REY, J. L.; CUNY, G. Trichomonas vaginalis: repeated DNA target for highly sensitive and specific polymerase chain reaction diagnosis. **Cell Molecular Biologic**; v. 40; p. 819–31; 1994.

KHAN, M. J.; CASTLE, P. E.; LORINCZ, A. T.; WACHOLDER, S.; SHERMAN, M.; SCOTT, D. R.; RUSH, B. B.; GLASS, A. G.; SCHIFFMAN, M. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. **Journal National Cancer Institute**, v. 97, n. 14, p. 1072-1079, Jul. 2005.

KOUTSKY, L. A.; HOLMES, K. K.; CRITCHLOW, C. W.; STEVENS, C. E.; PAAVONEN J.; BECKMANN, A. M.; DE ROUEN, T. A.; GALLOWAY, D. A.; VERNON, D.; KIVIAT, N. B. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to Papillomavirus infection. **New England Journal Medicine**, v. 327, n. 18, p. 1272-1278, Oct. 1992.

LEE, V.; TOBIN, J. M.; FOLEY, E. Relationship of cervical ectopy to chlamydia infection in young women. **Journal of Family Planning and Reproductive Health Care**, v. 32, n. 2, p. 104-106, Apr, 2006.

LEUNG, K. M.; YEOH, G. P.; CHEUNG, H. N.; FONG, F. Y.; CHAN, K. W.. Prevalence of abnormal Papanicolaou smears in female sex workers in Hong Kong, **Hong Kong Medical Journal**, v. 19, p. 203, 2013.

LI, N.; FRANCESCHI, S.; HOWELL-JONES, R.; SNIJDERS, P. J.; CLIFFORD, G. M. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. **International Journal of Cancer**, v.128, n. 4, p. 927-35, Feb. 2011.

LIBÓRIO, R. M. C., Adolescentes em situação de prostituição: uma análise sobre a exploração sexual comercial na sociedade contemporânea. **Psicologia Reflexão e Crítica**, v. 18, n. 3, p. 413-420, Dez. 2005.

LIE, A. K.; SKJELDESTAD, F. E.; HAGEN, B.; JOHANNESSEN, E.; SKARSVÅG, S.; HAUGEN, O. A. Comparison of light microscopy, in situ hybridization and polymerase chain reaction for detection of human papillomavirus in histological tissue of cervical intraepithelial neoplasia. **Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, v. 105, n. 2, p. 115-20, Feb. 1997.

LIN, C. Y., CHAO, A., YANG, Y.C., CHOU, H. H., HO, C. M., LIN, R. W., CHANG, T. C., CHIOU, J. Y., CHAO, F. Y., WANG, K. L., CHIEN, T. Y., HSUEH, S., HUANG, C. C., CHEN, C. J., LA, I. C.H., Human papillomavirus typing with a polymerase chain reaction-based genotyping array compared with type-specific PCR. **Journal Clinical Virology**, v. 42, n.2, p. 361-367, Jan. 2008.

MADELEINE, M. M.; ANTTILA, T.; SCHWART, S. M.; SAIKK, P.; LEINONE, M.; CART, J. J.; WURSC, M.; JOH, L. G.; GAL, D. A.; DALING, J. R. Risk of cervical

cancer associated with Chlamydia Trachomatis antibodies by histology, HPV type and HPV cofactors. **International Journal of Cancer**, v.120, n.3, p.650–655, Feb. 2007

MAGAÑA-CONTRERAS, M.; CONTRERAS-PAREDES, A.; CHAVEZ-BLANCO, A.; LIZANO, M.; HERNANDES, Y. D. L. C.; HERNANDES, E. D. L. C. Prevalence of sexually transmitted pathogens associated with HPV infection in cervical samples in a Mexican. **Journal of Medical Virology**, v. 87, n. 12, p. 2098–2105, Dec. 2015

MAK, R.; RENTERGHEM, L. V.; CUVELIER, C. Cervical smears and human papillomavirus typing in sex workers. **Sexually Transmitted Infection**, v. 80, n. 2, p. 118-120, 2004.

MANOS, M. M.; WALDMAN, J.; ZHANG, T.Y.; GREER, C. E.; EICHINGER, G.; SCHIFFMAN, M. H.; WHEELER, C. M. Epidemiology and partial nucleotide sequence of four novel genital human Papillomaviruses. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 170, n. 5, p. 1096-1099, Nov. 1994.

MATSUSHITA, K.; SASAGAWA, T.; MIYASHITA, M.; ISHIZAKI, A.; MORISHITA, A.; HOSAKA, N.; SAIKAWA, K.; HOSHINA, S.; BI, X.; ICHIMURA, H. 2011. Oral and cervical human papillomavirus infection among female sex workers in Japan. **Journal of Infection Diseases**, v. 64, n.3, p. 34–39, Jan. 2011.

MORRIS, B. J.; ROSE, B. R. Cervical screening in the 21st century: the case for human papillomavirus testing of self-collected specimens. Clin Chem Lab Med University of Sydney, Sydney, New South Wales, **Australia Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v.45, n. 5, p. 577-591, Feb. 2007

MOURA, A.D.A.; OLIVEIRA, R. M. S.; LIMA, G. L.; FARIAS, L. M.; FEITOZA, A. R. O comportamento de prostitutas em tempos de Aids e outras doenças sexualmente transmissíveis: como estão se prevenindo? **Texto E Contexto Enfermagem**, Florianópolis, v.19, n. 3, p. 545-553, 2010.

MURTA, E. F. C.; SOUZA, M. A. H.; JÚNIOR, E. A.; ADAD, S. J. Incidence of *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp and human papilloma virus in cytological smears. **Revista Paulista de Medicina**, v. 118, n. 4, p. 105-8, 2000.

NICOLAU, A. I.O.; JÚNIOR FALCÃO, J. S. P.; RABELO, S. T. O.; AQUINO, P. S.; MOURA, A. D. Ginecológico de Prostitutas de Fortaleza. **Anais**, Universidade Federal de Santa Catarina. Disponível em www.Enapet.ufsc.br/anais/perfil_ginecológico_de_prostitutas_de_Fortaleza.pdf. Acesso em 10 ago 2009.

NOBRE, R. J.; CRUZ, E.; REAL, O.; DE ALMEIDA, L. P.; MARTINS, T. C. Characterization of common and rare human Papillomaviruses in Portuguese women by the polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism and sequencing. **Journal of Medical Virology**, v. 82, n. 6, p. 1024-1032, May. 2010.

NOBRE, R. J.; DE ALMEIDA, L. P.; MARTINS, T. C. Complete genotyping of mucosal human Papillomavirus using a restriction fragment length polymorphism analysis and an original typing algorithm. **Journal of Clinical Virology**, v. 42, n. 1, p. 13-21, May. 2008.

OLIVEIRA, C. M. **Existe câncer cervical HPV negativo ?**. 2011. Tese (Doutorado em Ciências). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo/São Paulo, 2011.

ORIEL, J. D. Natural history of genital warts. **British Journal of Venereal Diseases**, v. 47, n. 1, p. 1-13, Feb. 1971.

PAESI, S.; AVER, L.; BAREA, F.; VANNI, A.; ROESCH-ELY, M. Human papillomavirus and infections of the lower genital tract in women with abnormal cervical cytological examination Papilomavírus humano e infecções do trato genital inferior em mulheres com exame colpocitológico anormal. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 23, n. 1, p. 41-46, 2013.

PASSOS, A. D. C.; FIGUEIREDO, J. F. C. Fatores de risco para doenças sexualmente transmissíveis entre prostitutas e travestis de Ribeirão Preto (SP), Brasil. **Revista Panamericana Salud Publica**, n. 16; v. 2, p. 95–101, Mar. 2004.

PATRICK PETIGNAT A, DANIEL L. FALTIN A,B, ILAN BRUCHIM C , MARTIN R. TRAMÈR D EDUARDO L. FRANCO E FRANÇOIS COUTLÉE. Are self-collected samples comparable to physician-collected cervical specimens for human

papillomavirus DNA testing? A systematic review and meta-analysis **Gynecologic Oncology**, v.105, p. 530-535, 2007.

PETIGNAT, P.; FALTIN, D. L.; BRUCHIM, I.; TRAMÈR, M. R.; FRANCO, E. L.; COUTLÉE, F. Are self-collected samples comparable to physician-collected cervical specimens for human papillomavirus DNA testing? **Gynecologic Oncology** v.105, p. 530-535, 2007.

PLATZ-CHRISTENSEN, J. J.; SUNDSTROM, E.; LARSSON, P. G. Bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia .**Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, v; 73, n. 1, p. 586-588, 1994.

POGETTO, M. R. B. D.; SILVA, M. G.; PARADA, G. M. G. L. Prevalência de doenças sexualmente transmissíveis em mulheres profissionais do sexo, em um município do interior paulista, Brasil. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v. 19, n. 3, p. 07, Maio-Jun. 2011.

QUEIROZ, A. M. A.; CANO, M. A. T.; ZAIA, J. E. Os Papilomas Vírus Humano (HPV) em mulheres atendidas pelo SUS. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Patos de Minas, v.39, n.2, p.151-157, 2007.

RAMANAKUMAR, A. V.; GONCALVES, O.; RICHARDSON, H.; TELLIER, P.; FERENCZY, A.; COUTLEE, F.; FRANCO, E. L. Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV 16 integration in persistent ant transient infections in young women. **Biology Medical Central Infectious Diseases**, v. 10, n. 326, p. 1-12, Nov. 2010.

RIVERA, L. R.; TRENADO, M. Q.; VALDEZ, A. C.; GONZALEZ, C. J. C. Prevalencia de vaginitis y vaginosis bacteriana: asociación com manifestaciones clínicas, de laboratorio y tratamiento. **Ginecologyc y Obstrecty**, Mexican, v. 64, p. 26-35, 1996.

RIVERO, E. R. C.; NUNES, F. D. HPV in oral squamous cell carcinomas of a Brazilian population: amplification by PCR. **Brazilian Oral Research**, v. 20, n. 1, p. 21-24, Jan-Mar. 2006.

RODRIGUEZ-CERDEIRA, C.; SANCHEZ-BLANCO, E.; ALBA, A. Evaluation of Association between vaginal infections and high-risk human papillomavirus types in female sex workers in Spain. **Obstetrics & Gynecology**, ID 240190, 2012.

ROETERS, A. M. E.; BOON, M. E.; HAAFTEN, M. V.; VERNOOIJ, F.; BONTEKOE, T. R.; HEINTZ, A. P. M. Inflammatory Events as Detected in Cervical Smears and Squamous Intraepithelial Lesions. **Diagnostic Cytopathology**, v. 38, n. 2, p.85-93, Feb. 2009.

ROWSON, K.; MAHY, B. W. J. Human papova (wart) virus. **Bacteriological Reviews**, Washington, v. 31, n. 2, p. 110-131, June 1967.

SABIDÓ M, GIARDINA F, HERNÁNDEZ G, FERNÁNDEZ VH, MOZON JE, ORTIZ R. The UALE Project: Decline in the incidence of HIV and sexually transmitted infections and increase in the use of condoms among sex workers in Guatemala. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 51, n. 1, p. 35-41, 2009.

SAFAEIAN, M.; KIDDUGAVU, M.; GRAVITT, P. E.; SSEKASANVU, J.; MUROKORA, D.; SKLAR, M.; SERWADDA, D.; WAWER, M. J.; SHAH, K. V.; GRAY, R. Comparability of self-collected vaginal swabs and physician-collected cervical swabs for detection of human papillomavirus infections in Rakai, Uganda. **Sexual Transmitted Disease**, n.34, p. 429-436, 2007.

SANCLEMENTE, G.; GILL, D. K. Human papillomavirus molecular biology and pathogenesis. **Journal of the European Academy of Dermatology Venereology**, v. 16, n. 3, p. 231-40, May. 2002.

SANTO, I.; AZEVEDO, J.; BORREGO, M. J.; GOMES, J. P.; VERDASCA, N.; PISTA, A. *Chlamydia trachomatis* infection in patients selected for HPV detection. In: 27th International Papillomavirus Conference and Clinical Workshop, **Anais Alemanha: Berlim** 2011. p. 17-23.

SANTO, I.; AZEVEDO, J.; BORREGO, M. J.; GOMES, J. P.; VERDASCA, N.; PISTA, A. *Chlamydia trachomatis* infection in patients selected for HPV detection. In: International Papillomavirus Conference and Clinical Workshop, 27. 2011, Berlim. **Anais Berlim: The Internationales Congress Centrum Berlin**, 2011.

SANTOS, C.; TEIXEIRA, F.; VICENTE, A.; ASTOLFI-FILHO, S. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. **Brazil Journal Infection Disease**, v. 7, n. 2, p. 91-95. 2003.

SCHIFFMAN, M. H.; BRINTON, L. A. The epidemiology of cervical carcinogenesis. **Cancer**.15; 76(10 Suppl), p.1888-901, Nov. 1995.

SCHIFFMAN, M. H.; KIVIAT, N. B.; BURK, R. D.; SHAH, K. V.; DANIEL, R. W.; LEWIS, R.; KUYPERS, J.; MANOS, M. M.; SCOTT, D. R.; SHERMAN, M. E. Accuracy and interlaboratory reliability of Human Papillomavirus DNA testing by hybrid capture. **Journal Clinical Microbiology**, v. 33, n. 3, p. 545-550, Mar. 1995.

SCHIFFMAN, M.; P. E. CASTLE, JERONIMO, J.; RODRIGUEZ, A. C.; WACHOLDER, S. "Human papillomavirus and cervical cancer." **Lancet**, v. 370, n. 9590, p. 890-907, Sep. 2007.

SCHMEINK, C. E.; MELCHERS, W. J.; SIEBERS, A. G.; QUINT, W. G.; MASSUGER, L. F.; BEKKERS, R. L. Human papillomavirus persistence in young unscreened women, a prospective cohort study. **PLoS One**. V. 6, 2011.

SEADI, C.F.; ORAVEC, R.; POSER, B.V.; CANTARELLI, V.V.; ROSSETTI, M.L.; Diagnóstico laboratorial da infecção pela *Chlamydia trachomatis*: vantagens e desvantagens das técnicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 38, n. 2, p.125-33, 2002.

SERRANO, B.; ALEMANY, L.; TOUS, S. Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease. **Infection Agent of Cancer**. V. 7, n. 1, p. 38-42, Dec. 2012.

SHOPE, R. E.; HURST, W. Infectious papillomatosis of rabbits: with a note on the histopathology. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 58, n. 5, p. 607-625, October 1933.

SILVA FILHO, A. M. A colposcopia nas lesões relacionadas as infecções por HPV (Papilomavírus humano) no trato anogenital feminino. In: BIBBO, M; SILVA FILHO, A. M. **Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital**. 1 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. P. 69-99.

SILVA, A. M. T. C., O Papel do Papiloma Vírus Humano na Carcinogênese. **Revista Biotecnologia**, v.29, p.48-54, Abr. 2003.

SIMON, C. P.; SILVA, R. C.; PAIVA, V. Prostituição juvenil feminina e a prevenção da AIDS em Ribeirão Preto, SP. **Revista Saúde Pública**, v. 36, n, 4, p. S82-S87, Mar, 2002.

SMITH, S. M.; OGBARA, T.; ENG, R. H. Involvement of Gardnerella vaginalis in urinary tract infections in men. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 6, p. 1575-7, 1992.

SOOHOO, M.; MAGALY, B.; BYRAIAH, G.; CARCAMO, C.; BROWN, B. Cervical HPV Infection in Female Sex Workers: A Global Perspective. **Journal of AIDS**, v. 7, p. 58-66, 2013.

STEINBERG, B. M. Human papillomaviruses and upper airway oncogenesis. **American Journal of Otolaryngology**, v. 11, n. 6, p. 370-374, Nov-Dec. 1990.

STRAUSS, M. J.; SHAW, E. V.; BUNTING, H.; MELNICK, J. L. "Crystalline" virus-like particles from skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 72, n. 2, p. 46-52, October 1949.

SU, S.; CHOW, E. P. F.; MUESSIG, K. R.; YUAN, L.; TUCKER, J. D.; ZHANG, X.; REN, J.; FAIRLEY, C. K.; JING, J.; ZHANG, L.. Sustained high prevalence of viral hepatitis and sexually transmissible infections among female sex workers in China: a systematic review and meta-analysis **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 1-10, 2016.

SWAN, D. C.; TUCKER, R. A.; TORTOLERO-LUNA, G.; MITCHELL, M. F.; WIDEROFF, L.; UNGER, E. R. Human papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV Type. **Journal Clinical Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 1030-1034, 1999.

TAMIM, H.; FINAN, R. R.; SHARIDA, H. E.; RASHID, M.; ALMAWI, W. Y. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and Chlamydia trachomatis. **Diagnostic of Microbiology and Infections Disease**, v. 43, n. 4, p. 277-281.

TERMINE, N.; PANZARELLA, V.; FALASCHINI, S.; RUSSO, A.; MATRANGA, D.; LO MUZIO, L.; CAMPISI, G. HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988–2007). **Annals of Oncology**, v. 19, n. 10, p. 1681-1690, Oct. 2008.

TIDEMAN, R. L.; THOMPSON, C.; ROSE, B.; GILMOUR, S.; MARKS, C.; VAN BEEK, I.; BERRY, G.; O'CONNOR, C.; MINDEL, A. Cervical human papillomavirus infections in commercial sex workers-risk factors and behaviours. **International Journal of STD & AIDS**, v.14, n. 12, p. 840-847, Dec. 2003.

TOTTEN, P. A.; AMSEL, R.; HALE, J.; PIOT, P.; HOLMES, K. K. Selective differential human blood bilayer media for isolation of Gardnerella (Haemophilus) vaginalis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.15, n. 14, p.1 – 147, 1982

TOZETTI, I. A.; SCAPULATEMPO, I. D. L.; LEVI, J. E.; FERREIRA, A. W. Determination of HPV DNA viral load by hybrid capture assay and its association with 131 cytological findings. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 6, p. 449-453, Dec. 2006b.

TROTTIER, H.; FRANCO, E. L. Human Papillomavirus and cervical cancer: burden of illness and basis for prevention. **American Journal Managed Care**, v. 12, n. 1, p. 462-472, Mai. 2006.

TYRING, S. K. Human papilomavírus infections: epidemiology, pathogenesis, and host immune response. **Journal of the American Academy Dermatology**, v. 43, n. 1, p. 18-26, Jul. 2000.

VIEIRA, M. A. S.; GUIMARÃES, E. M. B.; BARBOSA, M. A.; TURCHI, M.; ALVES, M. F. C.; SEIXAS, M. S. C.; GARCIA, M. M. D.; MINAMISAVA, R. Fatores associados ao uso de preservativo em adolescentes do gênero feminino no município de Goiânia. **Jornal Brasileiro Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 16, n. 3, p. 77-83, Set. 2004

VILLA LL. Aspectos moleculares da oncogênese por papilomavírus. In: Bibbo M, Silva Filho AM. **Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital**. 1. ed. Rio de Janeiro: Revinter; 1998. p. 51-58.

VILLA, L. L.; COSTA, R.L.; PETTA, C.A.; ANDRADE, R.P.; PAAVONEN, J.; IVERSEN, O.E.; OLSSON, S.E.; HOYE, J.; STEINWALL, M.; RIIS-JOHANNESSEN, G.; ANDERSSON-ELLSTROM, A.; ELFGREN, K.; KROGH, G.V.; LEHTINEN, M.; MALM, C.; TAMMS, G.M.; GIACOLETTI, K.; LUPINACCI, L.; RAILKAR, R.; TADDEO F. J.; BRYAN, J.; ESSER, M.T.; SINGS, H.L.; SAAH, A.J.; BARR, E. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like-particle through 5 year of follow-up. **British Journal of Cancer**, v. 95, N. 11, p. 1459-1466, Dez. 2006

VILLA, L. L.; DENNY, L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 94, n. 1, p. 71-80, 2006.

VOLKOW, P.; RUBI, S.; LIZANO, M. High prevalence of oncogenic human papillomavirus in the genital tract of women with human immunodeficiency virus. **Gynecology and Oncology**, v. 82, p. 27-31, 2001.

WALBOOMERS, J. M.; JACOBS, M. V.; MANOS, M. M.; BOSCH, F. X.; KUMMER, J. A.; SHAH, K. V.; SNIJDERS, P. J.; PETO, J.; MEIJER, C. J.; MUÑOZ, N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **Journal of Pathology**, v. 189, n. 1, v. 12-19, Sep. 1999.

WENTZENSEN, N.; VINOKUROVA, S.; DOEBERITZ, M. K. Systematic Review of Genomic Integration Sites of Human Papillomavirus Genomes in Epithelial Dysplasia and Invasive Cancer of the Female Lower Genital Tract. **Câncer research**, v. 64, n. 1, Jun.2004.

ZARIFFARD, M. R.; SAIFUDDIN, M.; SHA, B. E.; SPEAR, G.T.; Detection of bacterial vaginosis-related organisms by real-time PCR for Lactobacilli, Gardnerellavaginalis and Mycoplasma hominis. **FEMS Immunology Medical of Microbioly**, v. 13, n. 2, p. 234-246 Fev. 2002.

ZUR HAUSEN, H. Human genital cancer: synergism between a virus infection and initiating events? **The Lancet**, v. 2, n. 8312, p. 1370-1372, Dec. 1982.

ZUR HAUSEN, H. Human papillomavirus and their possible role in squamous cells carcinomas. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, Berlin, v. 78, n. 2, p. 1-30, Feb. 1977.

ANEXO A



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que autorizo a pesquisadora Larissa Zatorre Almeida a utilizar as amostras biológicas registradas no banco de amostras, sob minha responsabilidade, junto ao Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para a execução do projeto de pesquisa "Papilomavírus humano: co-infecção por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* em mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS".

Campo Grande 27 de junho de 2014


Profª. Dra. Ana Rita Coimbra Motta de Castro
CCBS/UFMS
Fone: (67) 3345-3181 E-mail: anacastro@fiocruz.br

Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias-FAMED/UFMS
Cidade Universitária, s/n . Fone: 067- 3345-3205
CEP 79070-900 * Campo Grande (MS) *
<http://www.ufms.br> e-mail: ppgdip.famed@ufms.br

ANEXO B



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



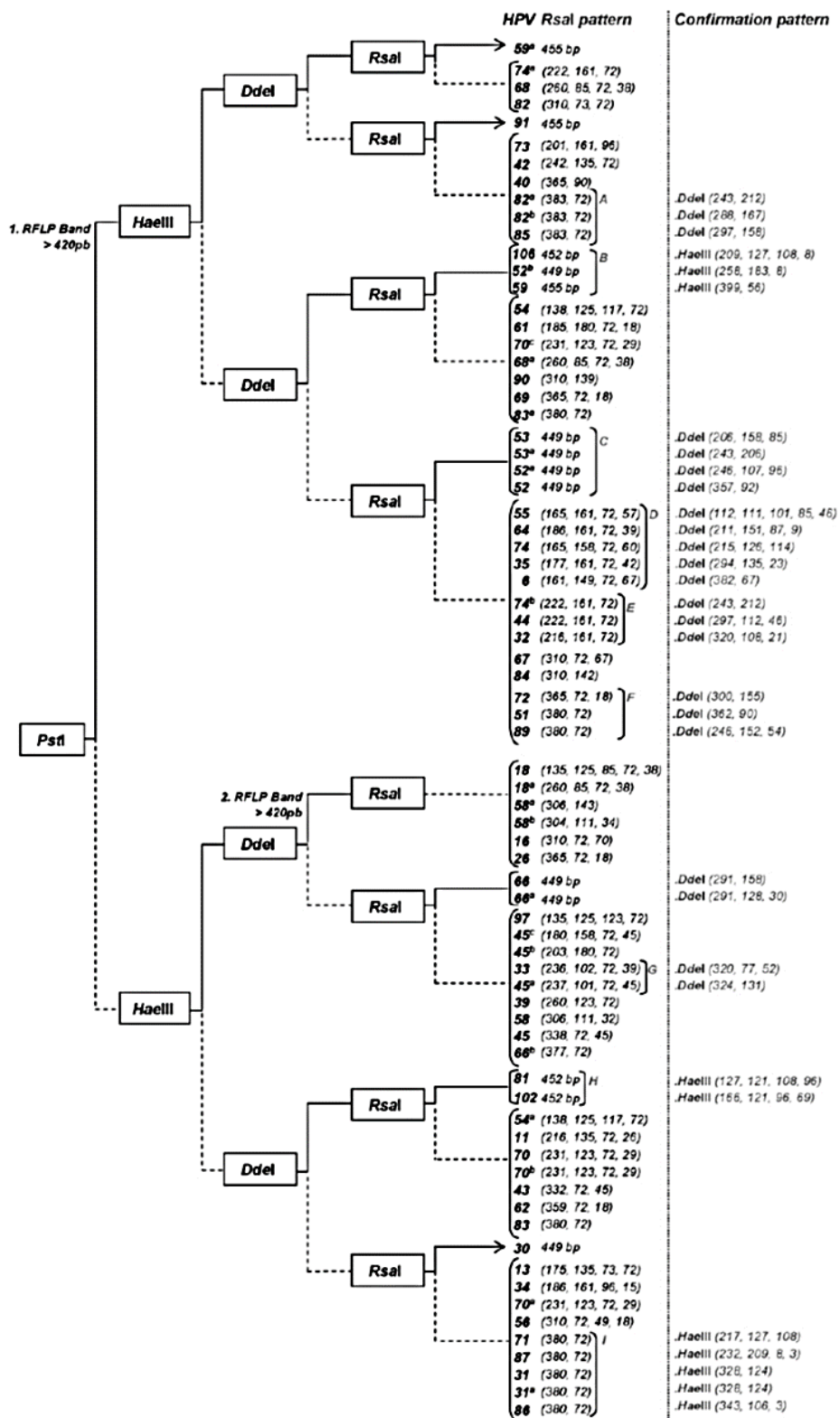
DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que autorizo a pesquisadora Larissa Zatorre Almeida para a execução do projeto de pesquisa "Papilomavírus humano: co-infecção por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* em mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS", a utilizar o banco de dados do projeto de pesquisa "Infecção pelo vírus das hepatites B e C: aspectos epidemiológicos, moleculares e da vacina contra hepatite B em profissionais do sexo em Campo Grande – MS, Brasil Central"

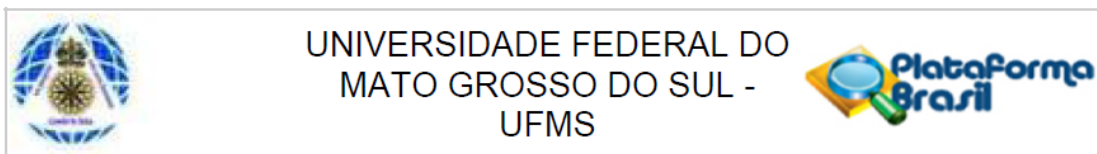
Campo Grande 27 de junho de 2014.


Prof. Dra. Ana Rita Coimbra Motta de Castro
CCBS/UFMS
Fone: (67) 3345-3181 E-mail: anacastro@fiocruz.br

Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias-FAMED/UFMS
Cidade Universitária, s/n, Fone: 067- 3345-3205
CEP 79070-900 * Campo Grande (MS) *
<http://www.ufms.br> e-mail: ppgdip.famed@ufms.br



ANEXO D



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Papilomavírus humano: co-infecção por Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis e Trichomonas vaginalis em mulheres profissionais do sexo, Campo Grande, MS

Pesquisador: Larissa Zatorre Almeida

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 34046914.0.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: FUND. DE APOIO E DE DESENV. DO ENSINO, CIENCIA E TECN. DO ESTADO DO MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 873.060

Data da Relatoria: 29/08/2014

Apresentação do Projeto:

O Papilomavírus humano (HPV) é o principal agente responsável pelo câncer cervical. Estudos apontam que outros patógenos, como por exemplo, Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis e Trichomonas vaginalis, quando presentes no microambiente cervical podem influenciar a instalação do HPV neste local bem como a persistência desta infecção. A aquisição destes patógenos ocorre principalmente pelo contato sexual e, portanto, as mulheres profissionais do sexo estão mais propensas a adquirir estas infecções. Sendo assim o objetivo deste trabalho será detectar a coinfeção por Papilomavírus humano, Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis ou Trichomonas vaginalis utilizando 79 amostras de cérvix uterina de mulheres profissionais do sexo, obtidas por autocoleta. Estes objetivos serão alcançados através de análises por Reação de Polimerização em Cadeia (PCR) e genotipagem por Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). Os resultados deste estudo poderão auxiliar na compreensão da associação de outros patógenos com o HPV e dessa forma contribuirão para a comunidade científica permitindo propostas mais eficientes no controle e vigilância destas infecções.

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** bioetica@propp.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Continuação do Parecer: 873.060

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Caracterizar a infecção pelo HPV, os principais tipos virais e a co-infecção por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* em mulheres profissionais, Campo Grande – MS.

Objetivo Secundário:

Estimar a frequência da infecção por HPV em mulheres profissionais do sexo, Campo Grande – MS; Detectar os tipos virais predominantes em amostras de cérvix uterina HPV positivas; Identificar a presença de co-infecção por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*; Identificar as características de risco presente, a infecção por HPV e co-infecções por *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*

e *Trichomonas vaginalis* na população analisada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Este estudo não apresenta nenhum tipo de risco para as pacientes envolvidas, sendo todos os materiais obtidos do banco de dados e amostras.

Benefícios:

Este estudo irá contribuir para a literatura fortalecendo os conceitos quanto à associação do HPV a estes micro-organismos, permitindo que novas estratégias para diagnóstico e prognóstico dessas infecções sejam estabelecidas. Levando em conta que, não há estudos descritos com este tipo de abordagem na população de mulheres profissionais do sexo em Mato Grosso do Sul, e ainda relacionando à técnica de auto-coleta, estas análises

irão conceber um ganho científico para nossa instituição e também os resultados poderão incentivar propostas mais eficientes no controle e vigilância destes patógenos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de relevância social

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

1- A pesquisadora propõe dispensa do TCLE, devido a natureza das amostras que serão utilizados de (Banco de amostras e dados secundários).

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Adequado

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Bairro: Caixa Postal 549

CEP: 79.070-110

UF: MS

Município: CAMPO GRANDE

Telefone: (67)3345-7187

Fax: (67)3345-7187

E-mail: bioetica@propp.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Continuação do Parecer: 873.060

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPO GRANDE, 14 de Novembro de 2014

Assinado por:
Edilson dos Reis
(Coordenador)

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Bairro: Caixa Postal 549

CEP: 79.070-110

UF: MS

Município: CAMPO GRANDE

Telefone: (67)3345-7187

Fax: (67)3345-7187

E-mail: bioetica@propp.ufms.br