



**Universidade Federal do Maranhão**  
**Agência de inovação, empreendedorismo, pesquisa,**  
**Pós-graduação e internacionalização**  
**Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto**  
**Mestrado Acadêmico**



**DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM  
MULHERES INFECTADAS COM VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

**ANA CLÉA CUTRIM DINIZ DE MORAIS**

**São Luís**  
**2022**

**ANA CLÉA CUTRIM DINIZ DE MORAIS**

**DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM  
MULHERES INFECTADAS COM VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA  
HUMANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto

**Área de Concentração: Processos Biológicos em Saúde**

**Linha de Pesquisa: HPV e Câncer**

**Orientador: Prof.<sup>a</sup>Dr<sup>a</sup> Fernanda Ferreira Lopes**

**Co-Orientadora: Prof.<sup>a</sup>Dr<sup>a</sup>Sally Cristina Moutinho Monteiro**

**Coordenador: Prof. Dr. Marcelo Andrade**

**São Luís  
2022**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

DE MORAIS, ANA CLÉA CUTRIM DINIZ.  
DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM  
MULHERES INFECTADAS COM VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA /  
ANA CLÉA CUTRIM DINIZ DE MORAIS. - 2022.  
86 f.

Coorientador(a): Sally Cristina Moutinho Monteiro.  
Orientador(a): Fernanda Ferreira Lopes.  
Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,  
São Luís, 2022.

1. Coinfecção. 2. Papilomavírus Humano. 3. Vírus da  
Imunodeficiência Humana. I. Lopes, Fernanda Ferreira. II.  
Monteiro, Sally Cristina Moutinho. III. Título.

**ANA CLÉA CUTRIM DINIZ DE MORAIS**

**DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES INFECTADAS COM VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto

A Banca Examinadora da Defesa de Mestrado, apresentada em sessão pública, considerou o candidato aprovado em: \_\_/\_\_/\_\_.

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fernanda Ferreira Lopes**  
**Orientadora**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Flavia Castello Branco Vidal**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Carmen Nogueira da Cruz**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Selma do Nascimento Silva**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sally Cristina Moutinho Monteiro**  
**Co-orientadora**  
**Universidade Federal do Maranhão**

A minha mãe, Creusa Gaspar Cutrim (*in memoriam*) pelo amor incondicional, amizade, carinho e dedicação.

A minha filha Ana Júlia por seu amor tão puro.

Ao meu querido esposo Juliano por todo amor, incentivo, apoio e compreensão.

Aos meus irmãos Ana Stela e Thiago e meu sobrinho Israel pelo incentivo e apoio.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelas bênçãos em minha vida e por estar sempre ao meu lado durante minha caminhada.

A minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Fernanda Ferreira Lopes e a minha Co-Orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sally Cristina Moutinho Monteiro por sempre ter acreditado e depositado confiança em mim ao longo desse tempo de trabalho

Ao Programa de pós-graduação em saúde do adulto - PPGSAD pelo incentivo à formação de pesquisadores.

A FAPEMA pelo financiamento desta pesquisa.

A Banca examinadora pelas importantes contribuições.

Aos meus pais, especialmente a minha mãe Creusa Gaspar Cutrim (*in memoriam*) meu eterno agradecimento pelo amor, dedicação, proteção, companheirismo e por estar sempre ao meu lado acreditando e incentivando; minha gratidão, meu eterno amor e saudade.

A minha filha, razão da minha vida, Ana Júlia por despertar o amor maior e a vontade de cada dia ser uma pessoa melhor.

Ao meu marido Juliano meu amor e companheiro, obrigada por estar sempre ao nosso lado, pelo apoio e compreensão.

Aos meus amados irmãos, Ana Stela, Thiago, Maria Rita e Antônio Carlos (*in memoriam*) e meu amado sobrinho Israel sempre dispostos a incentivar e torcer por todos os meus projetos.

Aos colegas do mestrado em especial Alice de Sá e Alessandra pelo apoio mútuo.

A todos os colegas do ULAC (Unidade de Laboratório de Análises Clínicas) e do LEGH (Laboratório de estudos genômicos e histocompatibilidade) do HUUFMA (Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão) pela colaboração direta ou indireta neste trabalho e ainda à equipe do laboratório de biologia molecular da UFMA em especial o Pablo por estar sempre disponível a ajudar e ensinar.

A todos os amigos que de alguma forma fizeram parte dessa jornada eu agradeço com um forte abraço.

## RESUMO

**Introdução e objetivo:** O papilomavírus humano (HPV) e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) são as duas infecções sexualmente transmissíveis (IST) mais prevalentes no mundo inteiro. O vírus HIV é um dos fatores de risco para o contágio e persistência do HPV. Este estudo objetivou detectar o HPV e identificar os seus tipos específicos na mucosa cervical, anal e oral, de mulheres soropositivas para HIV e investigar a carga viral e contagem de linfócitos CD4 e CD8. **Métodos:** Trata-se de um estudo do tipo transversal, com abordagem quantitativa. A amostra foi composta por 86 mulheres HIV positivas em terapia antirretroviral. As participantes responderam um questionário sobre dados sociodemográficos, uso de contraceptivo, história sexual e reprodutiva. Contagem de células T CD4, CD8 e carga viral foram obtidas nos prontuários eletrônicos do serviço especializado. As amostras biológicas (cervical, anal e oral) foram coletadas utilizando swabs estéreis no serviço ambulatorial de atendimento ginecológico de rotina nas unidades de pesquisa. A extração de ácido nucleico foi realizada utilizando-se o kit QIAamp DNA Mini Kit™ (Qiagen<sup>R</sup>). A detecção de DNA-HPV foi realizada utilizando-se amplificação pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) do tipo Nested, utilizando iniciadores PGMY09/11. A genotipagem foi submetida à técnica de sequenciamento de Sanger. Os dados foram categorizados de acordo com presença ou ausência de DNA-HPV, presença de DNA-HPV em um sítio anatômico ou em mais e DNA-HPV baixo e alto risco oncogênico. Para análises considerou-se um p valor significativo < 0,05. Os testes foram realizados no programa estatístico IBM SPSS versão 24. **Resultados:** O DNA de HPV foi detectado em um total de 54,7%; sendo 65,9%, cérvico-vaginal, 63,8% no canal anal e 4,2% na mucosa oral; 29,8% canal cérvico-vaginal e anal concomitantemente e 2,12% em canal cérvico-vaginal, anal e oral simultaneamente. A carga viral  $\geq 75$  cópias HIV/ml associou-se a presença de HPV. Dentre as amostras genotipadas verificou-se maior prevalência do DNA-HPV do tipo 6, baixo risco (34,0%), seguido pelos tipos de alto risco oncogênico 59 (17,0%) e 16 (14,9%). O sítio cervical apresentou maior prevalência de HPV de alto risco. Verificou-se associação entre a carga viral e o HPV de baixo risco oncogênico. **Conclusão:** Houve elevada frequência de infecção por HPV em mulheres soropositivas para HIV, com destaque no sítio cervical e anal. O HPV 6 (baixo risco oncogênico) foi o mais frequente, seguido pelos HPVs do tipo 59 e 16 (alto risco).

**Palavras-Chaves:** Papilomavírus Humano. Vírus da Imunodeficiência Humana. Coinfecção.

## ABSTRACT

**Introduction and objective:** Human papillomavirus (HPV) and human immunodeficiency virus (HIV) are the two most prevalent sexually transmitted infections (STI) worldwide. The HIV virus is one of the risk factors for infection with HPV. This study aimed to detect HPV, identify its specific types in cervical, anal and oral mucosa of HIV-positive women, and investigate the viral load, CD4 and CD8. **Methods:** This is a cross-sectional study with a quantitative approach. The sample was composed of 86 HIV-positive women on antiretroviral therapy. The participants answered a survey about sociodemographic data, contraceptive use, sexual and reproductive history. CD4 and CD8 T cell counts and viral load obtained from the electronic medical records of the specialized service. Biological samples (cervical, anal and oral) were collected using sterile swabs in the routine gynecological outpatient service at the research units. Nucleic acid extraction performed using the QIAamp DNA Mini Kit™ (QiagenR). Detection of HPV-DNA performed by nested polymerase chain reaction (PCR) amplification using PGMY09/11 primers. Genotyping submitted to the Sanger sequencing technique. Data were categorized according to presence or absence of DNA-HPV, presence of DNA-HPV in one or more anatomical sites, and DNA-HPV low and high oncogenic risk. For analyses, a significant p value < 0.05 considered. The tests performed in the statistical program IBM SPSS version 24. **Results:** HPV DNA detected in 54.7%; being 65.9%, cervico-vaginal, 63.8% in anal canal and 4.2% in oral mucosa; 29.8% cervico-vaginal and anal canal concomitantly and 2.12% in cervico-vaginal, anal and oral canal simultaneously. Viral load  $\geq 75$  HIV copies/ml was associated with the presence of HPV. Among the genotyped samples there was a higher prevalence of DNA-HPV type 6, low risk (34.0%), followed by the types of high oncogenic risk 59 (17.0%) and 16 (14.9%). The cervical site showed higher prevalence of high-risk HPV. There was an association between viral load and HPV of low oncogenic risk. **Conclusion:** There was a high frequency of HPV infection in HIV-seropositive women, especially in the cervical and anal sites. HPV 6 (low oncogenic risk) was the most frequent, followed by HPV types 59 and 16 (high risk).

**Key words:** Human Papillomavirus. Human Immunodeficiency Virus. Co-infection.

## LISTA DE TABELA

Tabela 01 - Características sócio-demográficas de mulheres soropositivas para HIV com e sem coinfeção por DNA-HPV, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.....	19
Tabela 02 - Contagem de carga viral para HIV, de linfócitos TCD4 + e TCD8+ de mulheres soropositivas para HIV com e sem coinfeção por DNA-HPV, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.....	20
Tabela 03 - Contagem carga viral para HIV, de linfócitos TCD4 + e TCD8+ de mulheres soropositivas para HIV com coinfeção por DNA-HPV, por sítio anatômico, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.....	21
Tabela 04 - Distribuição dos genótipos de HPV de alto e baixo risco oncogênico, de acordo com o sítio anatômico, de mulheres soropositivas para HIV, São Luís, MA, Brasil, 2021-2022.....	22
Tabela 05 - Distribuição dos múltiplos genótipos de HPV em amostras cervicovaginal, de mulheres soropositivas para HIV, São Luís, MA, Brasil, 2021-2022.....	22
Tabela 6 - Contagem carga viral para HIV, de linfócitos TCD4 + e TCD8+ de mulheres soropositivas para HIV com coinfeção por DNA-HPV, distribuído por tipo de risco oncogênico, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.....	23

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do vírus da imunodeficiência humana (HIV).....	02
Figura 2 -Genoma do Papilomavírus humano (HPV).....	05
Figura 3 - Efeitos das oncoproteínas virais E6 e E7 nos processos celulares .....	08
Figura 4: Representação esquemática do desenvolvimento do câncer de colo de útero.....	09

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**AIDS:** Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

**CCU:** Câncer do Colo do Útero

**CEP:** Comitê de Ética e Pesquisa

**PCCU:** Preventivo de câncer de colo do útero

**DNA:** Ácido desoxirribonucleico

**E:** Proteína Viral Precoce (Early)

**gp120:** glicoproteína 120

**gp41:** glicoproteína 41

**HIV:** Vírus da Imunodeficiência Humana

**HPV:** Papilomavírus Humano

**HSIL:** Lesão Intraepitelial de alto grau

**HUUFMA:** Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

**IC:** Intervalo de Confiança

**INCA:** Instituto Nacional de Câncer

**IST:** Infecção sexualmente transmissível

**kDA:** Kilo Dalton

**L:** Proteína Viral Tardia (Late)

**LEGH:** Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade

**NIC:** Neoplasia Intraepitelial cervical

**OMS:** Organização Mundial da Saúde

**pb:** Pares de base

**PCR:** Reação em Cadeia da Polimerase

**PGMY:** Iniciadores de consenso para região L1

**PPGAD:** Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto

**PRb:** Retinoblastoma

**p53:** Proteína supressora de tumor de 53 Kilodaltons

**RNA:** Ácido ribonucleico

**SINAN:** Sistema de Informação de Agravos de Notificação

**SIV:** Vírus da imunodeficiência símia

**TAT:** Transativação de Transcrição

## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

**TARV:** Terapia Anti-retroviral

**TBE:** Tris/Borato/EDTA

**UNAIDS:** Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids

**μL:** Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>02</b>
<b>2.1 HIV: estrutura e epidemiologia.....</b>	<b>02</b>
<b>2.1.2 Patogenia do HIV .....</b>	<b>03</b>
<b>2.2 Papilomavírus Humano (HPV) .....</b>	<b>04</b>
<b>2.2.1 HPV e oncogênese .....</b>	<b>07</b>
<b>2.3 Coinfecção HIV/HPV.....</b>	<b>09</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>12</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>12</b>
<b>4 ARTIGO.....</b>	<b>13</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>28</b>
<b>REFERÊNCIAS DA DISSERTAÇÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO.....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO A – NORMAS DA REVISTA .....</b>	<b>40</b>
<b>ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....</b>	<b>61</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é um vírus pertencente à família *Papillomaviridae*, gênero *Papillomavirus*, constituído de DNA circular de dupla fita que infecta as células epiteliais da pele e de mucosas (Anal, Genital e Oral) (Kury *et al.*,2021), O HPV é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento das lesões pré-neoplásicas e neoplásicas intraepiteliais bem como do câncer de colo do útero (CCU) (WHO; 2016.)

A infecção por HPV pode ser considerada uma doença sexualmente transmissível, com uma prevalência de cerca de 11-12% a nível mundial, variando de 16% a 24% entre as mulheres (Forman D, *et al.*,2012; Bruni L,2019). De acordo com Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) (2015-2017) a prevalência de infecção por HPV no Brasil é de 53,6%. No que se refere ao Maranhão, o mesmo estudo, afirma que 60,2% da população de São Luís possui infecção por HPV. No Brasil a estimativa para cada ano do triênio 2020-2022 aponta que ocorrerão 16.590 casos de CCU, com um risco estimado de 15,43 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2020).

O HPV isoladamente ou em conjunto com outras infecções sexualmente transmissíveis (IST) pode levar a infertilidade, complicações na gestação, neoplasia intraepitelial e câncer de colo de útero. Porém, quando associado a imunossupressão, induzida pela infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), eleva-se o risco de risco de carcinoma invasivo em 6,8 vezes na mucosa cervical e 5,4 vezes na mucosa anal (FRISCH *et al.*, 2000; ZBAR *et al.*, 2002; GRASSI *et al.*, 2021).

O HIV é um retrovírus constituído por duas moléculas de RNA simples idênticas, cada uma dessas moléculas está ligada a proteína chamada de transcriptase reversa, importante na multiplicação do vírus. Este infecta os linfócitos TCD4+ por meio da sua interação com as glicoproteínas presentes na membrana plasmática. Essa interação produz alteração na quantidade de linfócitos no organismo do indivíduo, ocasionando comprometimento do sistema imunológico, fazendo com que o portador se torne suscetível a infecções oportunistas e ao desenvolvimento de neoplasias (COELHO AVC, *et al.*, 2019).

Ciceron e cols. (2022) observaram que mulheres soropositivas para HIV possuem risco quatro vezes maior quando comparadas às mulheres sem HIV de desenvolver câncer do colo do útero. Além disso, o estudo ressalta que o exame preventivo de câncer de colo

do útero (PCCU), em mulheres soropositivas para HIV, deveria ser realizado dentro de um ano após a sexarca.

Nesse contexto, há a necessidade de verificar a prevalência de HPV e seus tipos específicos nas mucosas cervico vaginal, oral e anal de mulheres soropositivas para HIV, com a finalidade de promover a prevenção em saúde; além de contribuir com a construção do conhecimento do perfil de genótipos de HPV, fornecendo dados para que políticas públicas de rastreio, monitoramento e de imunização possam ser implementadas, oportunizando cuidado em saúde e melhoria da qualidade de vida dessa população imunodeprimida.

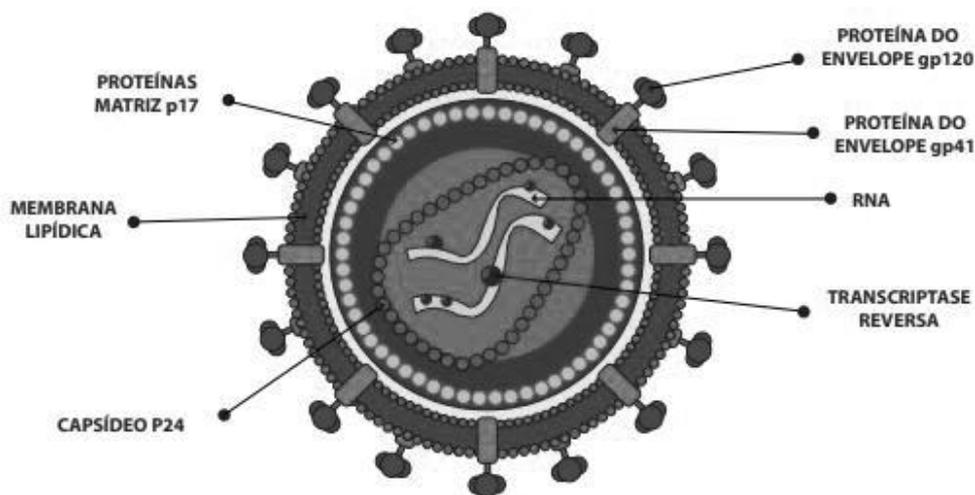
Além disso, no Brasil, poucos estudos foram realizados para analisar a presença do HPV em indivíduos soropositivos para HIV e não há dados que descrevem os principais genótipos virais encontrados nesse grupo específico no Estado do Maranhão (MA). Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi detectar a presença de papilomavírus humano e identificar os seus tipos específicos, na mucosa cervical, anal e oral, de mulheres soropositivas para o vírus da imunodeficiência humana.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 HIV: estrutura e epidemiologia**

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um retrovírus que possui capsídeo viral proteico, composto principalmente pela proteína p24. O nucleocapsídeo é formado pelas proteínas p7 e p9, associadas a duas moléculas de fita simples de RNA. Situada entre o envelope e o capsídeo está a matriz proteica, composta pela proteína p17 (Figura 1), que infecta principalmente os linfócitos TCD4+. A transmissão ocorre pela troca de uma variedade de fluidos corporais principalmente sexual (responsável por cerca de 75% das infecções), perinatais e por via sanguínea e compartilhamento de seringas (MENEZES *et al.*, 2018; COELHO *et al.*, 2019).

**Figura 1:** Estrutura do vírus HIV-1



**Fonte:** Adaptado de Manual Técnico de Diagnóstico para Diagnóstico da Infecção por HIV (2013).

Através de estudos sorológicos, foram evidenciados dois tipos de vírus: HIV-1 e o HIV-2 que se diferenciam na organização de seu genoma, sendo o HIV-1 o mais virulento e de maior disseminação, já o HIV-2, caracteriza-se por apresentar menor patogenicidade em relação ao HIV-1, bem como seu curso da infecção leva mais tempo para progredir para a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Acredita-se que a patogenicidade reduzida do HIV-2 em humanos seja o resultado de níveis mais baixos de replicação do vírus, talvez refletindo a adaptação incompleta do vírus da imunodeficiência símia (SIV) de chimpanzés ao hospedeiro humano (SANTOS *et al.*, 2021).

De acordo com o Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAIDS, 2020), 37,7 milhões de pessoas, mundialmente, estavam vivendo com HIV em 2020. Além do mais, foram notificados 342.459 casos de infecção por HIV no Brasil no Sistema de Agravos e Notificações (SINAN). Em relação ao Maranhão, de acordo com o boletim epidemiológico HIV/AIDS, de 2021, a taxa de detecção de casos de Aids notificados no SINAN foi de 12,8%/10.000 habitantes em 2020.

### 2.1.2 Patogenia do HIV

O HIV infecta a célula humana em três processos: a ligação do vírus à célula, a ativação e a fusão. O complexo trimérico do envelope viral composto pelas proteínas heterodímeras, gp120 e gp41 favorecem o reconhecimento do vírus e sua ligação com a célula alvo. A gp120 liga-se à glicoproteína monomérica de 58 kDA chamada de CD4 sendo expressa na superfície celular dos linfócitos T, além disso, a célula CD4 tem como função ser um receptor do complexo principal de histocompatibilidade classe II (FANALES-BELASIO *et al.*, 2010).

Após a ligação da gp120 com o CD4 o complexo trimérico do vírus altera-se expondo o domínio específico na gp120 que se liga aos receptores de quimiocinas na membrana da célula, responsáveis pelo recrutamento de células do sistema imune. A dupla ligação da gp120 ao CD4 permite a fusão à membrana celular pelo peptídeo N-terminal gp41, após a fusão, o núcleo do vírus se reveste do citoplasma da célula alvo liberando o RNA viral (FANALES-BELASIO *et al.*, 2010).

Por meio de mecanismos provavelmente multidimensionais e ainda não totalmente definidos, o HIV causa perda progressiva de células T CD4+ e uma série de anormalidades imunológicas. Assim a contagem absoluta de T CD4+ é utilizada para orientar o manejo clínico da infecção pelo HIV-1 e para a quantificação da magnitude da restauração imune após o início do tratamento (MILANE'S-GUISADO *et al.*, 2018).

A célula T CD8+, se correlaciona com o declínio inicial da replicação viral, ou seja, da transmissão do HIV-1, visto que sem o CD8+ o HIV se replica de forma desordenada (SRINIVASULA *et al.*, 2011). A razão CD4/CD8 também tem sido utilizada para acompanhamento do tratamento, uma vez que está menos suscetível a variações em repetidas medições, diferentemente do CD4+ que possui alta variabilidade devido às variações fisiológicas do total de glóbulos brancos bem como das imprecisões dos testes (MILANE'S-GUISADO *et al.*, 2018).

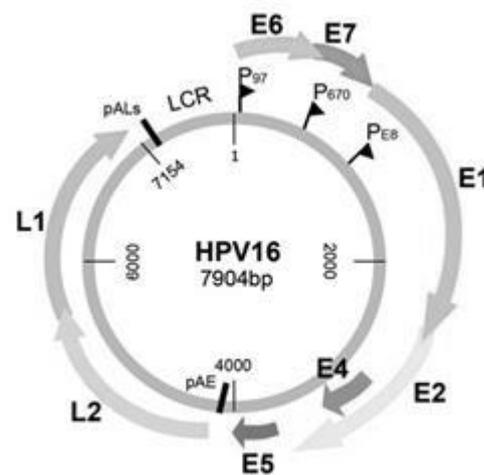
O HIV ocasiona o comprometimento do sistema imunológico e torna o portador do vírus suscetível a infecções oportunistas e ao desenvolvimento de neoplasias (CRUZ, 2017; COELHO *et al.*, 2019; MENEZES *et al.*, 2018).

### 2.2 Papilomavírus Humano (HPV)

O papilomavírus humano (HPV) é um vírus do gênero *Papillomavirus*, da família *Papillomaviridae*. São pequenos vírus com 55 nm de diâmetro, não envelopados e com

simetria icosaédrica, constituído por 8000 pares de base (ZUR HAUSEN, 1999). Possui genoma circular com dupla hélice de DNA envolto em um capsídeo proteico (“capa proteica”) (RODRIGUES *et al.*, 2016). O seu DNA está ligado à proteínas semelhantes a histonas, sendo a principal L1 e, outra com menor representação, a L2, que compõe mais internamente o capsídeo – Figura 2 (CÂMARA *et al.*, 2008; LETO *et al.*, 2011)

**Figura 2.** Genoma do Papilomavírus Humano.



**Fonte:** Adaptado de SPURGEON; LAMBERT, 2017.

Esses vírus são altamente tecido-específicos e infectam tanto o epitélio cutâneo quanto o mucoso (epiteliotrópicos). Com base na sequência genômica de L1, região do gene mais conservada e que codifica a principal proteína do capsídeo, mais de 200 tipos de HPV foram identificados e caracterizados conforme o potencial oncogênico (DOOBAR, *et al.*, 2012) em baixo risco e alto risco oncogênico. Os principais tipos virais estão descritos no Quadro 1 (CHELIMO *et al.*, 2012; ARMSTRONG, 2010; SCHIFFMAN, 2009).

**Quadro 1:** Classificação do HPV de acordo com o potencial oncogênico

Classificação	Tipo de HPV
Alto Risco	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82.
Baixo Risco	HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 70, 72, 81 e 89.
Risco Intermediário	HPV 26, 53 e 66.

**Fonte:** Adaptado de Serrano, *et al.*, 2018.

O HPV de baixo risco geralmente causa lesões hiperproliferativas benignas e raramente leva a lesões malignas. Dentre esses os tipos mais frequentes são o HPV-6 e HPV-11, responsáveis por 90% das verrugas genitais benignas (EGAWA, DOOBAR, 2017; FLORES-DIAS, *et al.*, 2017). Os genótipos de HPV de alto risco mais prevalentes são o HPV16, 18, 52, 31 e o 58. Os HPV-16 e HPV-18 que causam a maioria dos cânceres relacionados ao HPV e cerca de 70 a 80% dos cânceres cervicais e lesões cervicais pré-cancerosas (SCHIFFMAN, 2009; ARMSTRONG, 2010; CHELIMO *et al.*, 2012). Sendo assim, a determinação do genótipo é crucial para a avaliação do espectro e gravidade da doença.

A infecção pelo papilomavírus humano é a infecção sexualmente transmissível (IST) viral de maior frequência entre homens e mulheres sexualmente ativos. A principal via de contágio é a sexual (vagina, oral e/ou anal), não sendo necessário o sexo com penetração, pois o contato pele a pele também pode infectar (EGAWA, DOOBAR, 2017; BRASIL, 2018). O HPV também pode ser transmitido por via perinatal de mãe para filho, resultando em papilomatose respiratória recorrente no bebê (SABEENA, *et al.*, 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a incidência do HPV chega a ser maior que 528.000 casos, sendo mais de 270.000 das mortes causadas pelo câncer do colo do útero (SERRANO *et al.*, 2018). Estima-se ainda, que mundialmente 75% dos adultos sexualmente ativos terão pelo menos uma infecção por HPV 6 e 11 durante a vida, presentes em cerca de 80% das lesões orais e mais de 90% das lesões genitais (TROTIER e FRANCO, 2006). Aproximadamente 105 milhões de pessoas são portadoras de HPV dos tipos 16 e/ou 18 (Torres-Poveda e cols. (2019). Uma revisão sistemática demonstrou que a prevalência de HPV em lesões das mucosas em humanos é: 36,21% na região peniana, 25,68% na região anal, 24,11% na região cervical uterina e 11,89% na oral (COLPANI *et al.*, 2020).

A prevalência global do HPV em mulheres com citologia normal é estimada em 11,7% (IC 95%: 11.6 – 11.7), apesar de haver variações regionais significativas (SERRANO *et al.*, 2018). Oceania e África apresentam maior prevalência de HPV, entretanto na maioria delas (70 – 90%) a infecção é assintomática, sendo eliminada em até 1 – 2 anos pelo próprio sistema imune (SERRANO *et al.*, 2018). De acordo com o estudo do Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde e Ministério da Saúde, de maio 2021, a prevalência mundial de infecção por HPV apresenta taxas mais altas na África Subsaariana (24%), na Europa Oriental (21%) e na América Latina (16%).

Em relação à prevalência específica para a idade, nota-se um pico em jovens de menos de 25 anos e um rebote em idades mais avançadas (acima de 45 anos) nas Américas e na África.

No Brasil a prevalência de HPV geral foi de 53,6%, sendo que 35,2% apresentaram pelo menos um HPV de alto risco e 18,4% para outros tipos de HPV— Prevalência de HPV por região do país é de 58,09% no nordeste, centro-oeste 56,46%, norte 53,54%, sudeste 49,92% e sul 49,68% (BRASIL, 2020).

Embora a infecção pelo HPV seja muito frequente, ela é transitória, regredindo espontaneamente na maioria das vezes. Porém, a persistência da infecção, especialmente, de tipos virais de alto risco oncogênico, pode levar ao desenvolvimento de lesões precursoras, que se não forem identificadas e tratadas podem progredir para o câncer, não somente no colo do útero, mas também na vagina, vulva, ânus, pênis, orofaringe e cavidade oral. O que torna o vírus um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento das neoplasias nestes sítios (CENTURIONI *et al.*, 2005).

Na região anogenital, principalmente os HPV-16 e HPV-18, estão associados à patogênese dos tumores malignos, com envolvimento em praticamente 100% dos casos de câncer de colo de útero, 85% dos tumores anais, 50% dos tumores de pênis e vulva. (COLPANI *et al.*, 2020).

### **2.2.1 HPV e oncogênese**

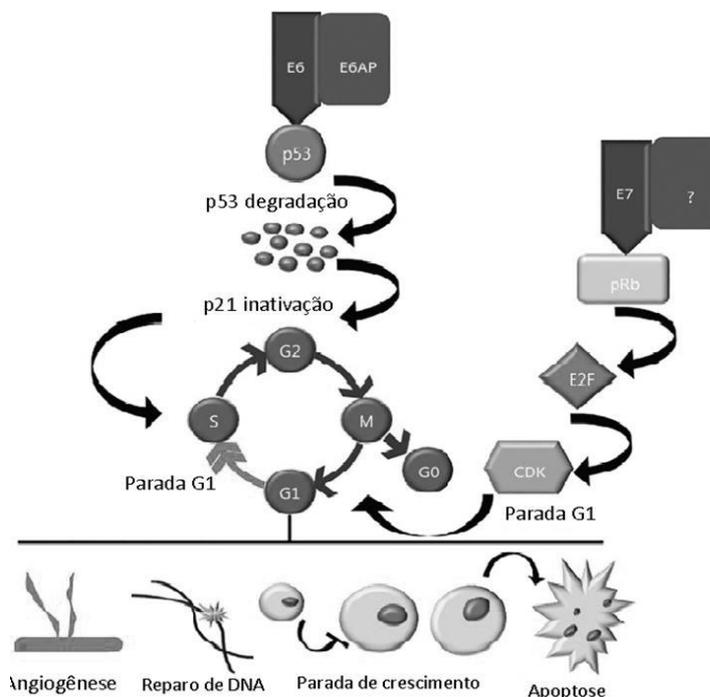
O ciclo de vida do vírus está intrinsecamente ligado ao programa de diferenciação celular, assim, o HPV precisa alcançar as células da camada basal do epitélio (células com atividade mitótica) para que uma infecção se estabeleça (ZUR HAUSEN, 2002). O vírus atinge a lâmina basal do epitélio estratificado pela interação das proteínas do capsídeo com receptores específicos da superfície celular, a partir de fissuras (microabrasões ou microlesões) ou pela junção escamo colunar (DOORBAR, *et al.* 2012; DOOBAR, *et al.*, 2015). Na zona de transformação cervical e no endocervice, pensa-se que o HPV pode também ser capaz de infectar células epiteliais colunares, a células de reserva epitelial, a infecção destes tipos de células pode estar associada a diferentes padrões de progressão da doença e ao desenvolvimento de adenocarcinoma (DOORBAR, *et al.* 2012). Uma vez dentro das células, o DNA viral é liberado do capsídeo, através da ação de enzimas nucleares, e é transportado até o núcleo celular para que seja replicado (HONG e LAIMINS, 2017).

O material genético do HPV pode permanecer quiescente na célula, antes ou depois de uma infecção produtiva, assim, as células infectadas funcionam como um reservatório viral, com a permanência de várias cópias de DNA-HPV na forma circular, não integrado ao genoma celular (forma epissomal) (WOODMAN; COLLINS; YOUNG, 2007). Nos estágios precoces da infecção, o DNA epissomal replica-se, na camada basal, concomitantemente ao DNA da célula hospedeira, gerando várias cópias de vírus por célula (fase proliferativa) (WOODMAN; COLLINS; YOUNG, 2007).

Após a maturação celular o HPV passa a expressar os genes E6 e E7. Eventualmente, os genes L1 e L2 passam a ser expressos e estão associados à produção de proteínas estruturais, que irão encapsular o genoma viral para formar novos vírions. Assim, os vírus formados conseguem iniciar um novo ciclo de infecção. Nas infecções por tipos de HPV associados ao câncer frequentemente há integração do DNA do vírus na célula hospedeira, bem como a interação dos oncogenes virais E6 e E7 (GANGULY; PARIHAR, 2009; DOORBAR, 2016; HONG; LAIMINS, 2017).

O mecanismo de transformação maligna está associado à carga viral, ao sítio anatômico e à persistência da infecção. As oncoproteínas virais (E6 e E7) levam a degradação de, respectivamente, p53 e pRb (retinoblastoma) resultando em alteração de vários processos celulares, incluindo reparo de DNA, angiogênese e/ou apoptose, que eventualmente resultam em carcinogênese (DOORBAR, 2016; SZYMONOWICZ; CHEN, 2020). Estudos indicam que o gene E6 interage com a proteína p53, promovendo sua degradação por ubiquitinação, o que leva a diminuição da função de p53 como supressora de tumor e o ciclo celular não é adequadamente regulado pela p21 (GANGULY; PARIHAR, 2009; HONG; LAIMINS, 2017; LI, *et al.*, 2019). Por sua vez, a E7 leva a degradação de pRb que também funciona como um supressor de tumor. Devido a inibição de pRb as células podem entrar prematuramente na fase S (ZUR HAUSEN, 2009; DOORBAR *et al.*, 2012) (Figura 3).

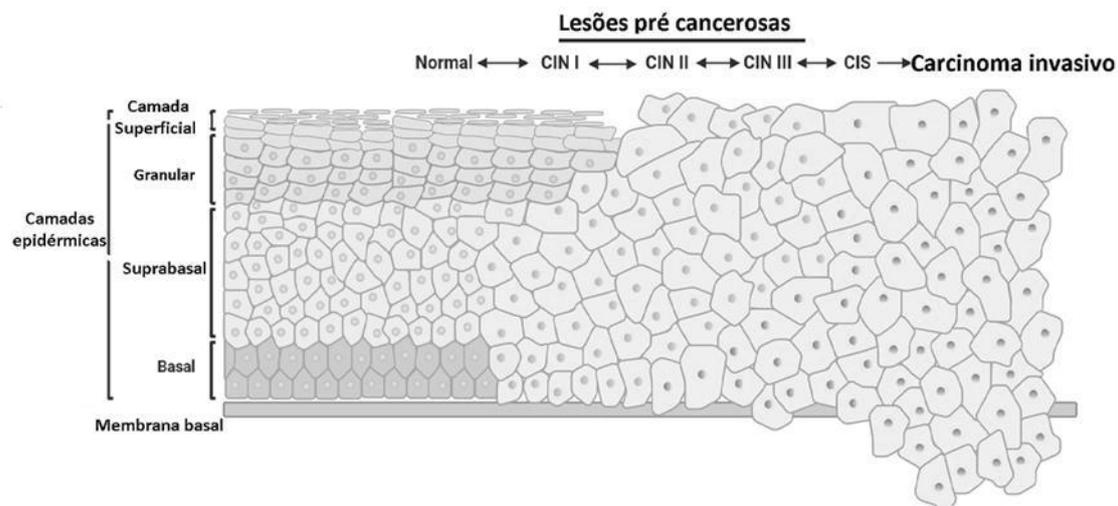
**Figura 3:** Efeitos das oncoproteínas virais E6 e E7 nos processos celulares.



**Fonte:** Adaptado de SZYMONOWICZ, CHEN, 2020.

Em geral, a degradação de p53 e pRb mediada por HPV de alto risco resulta em imortalização celular que presumivelmente leva ao desenvolvimento de displasia de alto grau (NIC 2 e 3), com potencial para evoluir para carcinoma invasivo (KALOF; COOPER, 2007; DOORBAR, 2015; SZYMONOWICZ; CHEN, 2020). No câncer de colo de útero geralmente há progressão da neoplasia intraepitelial (NIC). O NIC é classificado em três estágios com base na proporção do epitélio celular que apresenta anormalidades. O NIC 1 representa uma infecção transitória por HPV, enquanto o NIC 2 e 3 representa uma infecção persistente com risco de progressão para câncer (Figura 4).

**Figura 4:** Representação esquemática do desenvolvimento do câncer de colo de útero.



**Fonte:** Adaptado de SCARTH, *et al.*, (2021).

### 2.3 Coinfecção HIV/HPV

O sistema imune, na infecção por HIV, encontra-se comprometido, ocorrendo a imunossupressão do portador desse vírus, logo, mulheres HIV soropositivas, sobretudo aquelas com contagens baixas de células CD4 ( $< 200$  células/mm<sup>3</sup>), possuem maior risco de infecção e persistência do HPV, quando comparadas com mulheres HIV soronegativas, aumentando o risco de anormalidades nas células cervicais e desenvolvimento de câncer cervical (probabilidade de uma progressão mais rápida para a malignidade da lesão epitelial) (LEVI *et al.*, 2002; LIU *et al.*, 2018).

O estado do sistema imunológico é considerado um fator crucial nas infecções pelo HPV e pode determinar o desenvolvimento de persistência após a infecção primária, a replicação do HPV pode ser mais eficiente em um hospedeiro imunodeficiente, o que pode resultar em um aumento da taxa de detecção, bem como em uma maior chance de desenvolver infecção persistente pelo HPV (LEVI *et al.*, 2002).

O mecanismo de interação entre o HIV e o HPV ainda não está totalmente elucidado, mas a associação pode ser explicada pela imunossupressão que o HIV induz, que conseqüentemente aumenta a suscetibilidade a infecção pelo HPV, principalmente quando os níveis de CD4<sup>+</sup> estão baixos (ZIZZA *et al.*, 2021); além dos vírus

compartilharem fatores de risco epidemiológicos, como relação sexual precoce, múltiplos parceiros e presença de outras ISTs.

Outra teoria é que na coinfeção HIV/HPV ocorre alterações no gene do HPV. A proteína regulatória TAT-1 do HIV-1 possivelmente combina-se com proteína E2 do HPV oncogênico causando a ativação da região regulatória do HPV, estimulando a expressão dos genes E6/7 do HPV, isto ocorre, inclusive, em indivíduos que não apresentam imunodeficiência grave (BONILHA et al., 2009). Assim, há aumento da “penetração” do HPV nas células epiteliais basais, ocorrendo aumento da transcrição do HPV e dos oncogenes, bem como a expressão das proteínas do capsídeo L. Em suma, o HIV possui a capacidade de romper a coesão das junções epiteliais facilitando a penetração do HPV nas células epiteliais (ZIZZA *et al.*, 2021).

Na revisão sistemática com meta-análise de Liu e cols. (2018) foi demonstrado que mulheres HIV soropositivas apresentaram maior risco de desenvolver lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) quando comparadas com as mulheres sem a infecção por HIV. Além do mais, Whitham e cols. (2017) verificaram que o risco de progressão para HSIL na infecção por HPV foi três vezes maior em pacientes HIV soropositivas quando comparados a mulheres HIV soronegativas. Adler e cols. (2012) relatam que mulheres com a contagem de CD4 mais baixa possuem maior risco de progressão para diagnóstico de HSIL quando são HIV soropositivas.

Martins e cols. (2014) em sua coorte em três centros de pesquisa no Brasil verificaram que 47,5% das mulheres HIV soropositivas possuíam infecção por HPV. Assim também, Miranda e cols. (2017) em um estudo multicêntrico no Brasil, verificaram que dentre 802 mulheres HIV soropositivas, 28,4% apresentaram infecção por HPV. Da mesma forma, Kury e cols. (2021) em estudo com mulheres HIV soropositivas do Rio Janeiro, encontraram uma prevalência de 36% de infecção por HPV. Os estudos citados demonstraram a forte associação existente entre mulheres soropositivas para HIV e sua maior probabilidade de infecção por HPV.

Ressalta-se que os tipos de HPV de alto risco como o 16 e 18 possuem maior poder de invasão no sistema imunológico do hospedeiro, logo, pacientes HIV soropositivas possuem maior risco de adquirir HPV 16 e 18 (MBULAWA *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2018). Na meta-análise de Clifford e cols. (2016) o HPV 16 foi o tipo mais detectado nas amostras de câncer cervical em mulheres HIV soropositivas, seguido pelo HPV 18. O HPV 16 é considerado o tipo mais comum encontrado tanto em mulheres HIV

soropositivas quanto em mulheres soronegativas conforme aumenta a gravidade das lesões.

No estudo de Miranda e cols. (2017) foi encontrada uma prevalência de 8,1% HPV 16 e 3,7% de HPV 18 em mulheres brasileiras positivas para HIV. Kury e cols. (2021) citam que embora seja frequente ser encontrada uma alta frequência de infecção por múltiplos tipos de HPV, há uma tendência maior de infecção por HPV de alto risco oncogênico como o 16, 18, 31, 33 e 45. Na revisão sistemática de Paraná e cols. (2022) foi demonstrado que nos 51 artigos analisados o HPV 16 foi o genótipo mais prevalente em mulheres com ou sem HIV. Além disso, outros tipos oncogênicos prevalentes foram o HPV 58, HPV 31 e HPV 52.

Há fatores de risco que podem corroborar para a maior probabilidade de infecção por HPV em mulheres soropositivas para HIV. Miranda e cols. (2017) encontraram também no seu estudo que a idade entre 18 e 34 anos, uso de drogas ilícitas e citologia cervical anormal foram fatores de risco para a infecção por HPV em mulheres HIV soropositivas. De forma semelhante, Kury e cols. (2021) no seu estudo de coorte prospectivo com mulheres HIV soropositivas, também verificaram que fatores como idade, estado civil, número de filhos, número de parceiros sexuais e contagem de linfócitos CD4 foram fatores de risco para o desenvolvimento da infecção para HPV.

Considerando o crescimento relevante da quantidade de casos de positividade para HIV entre as mulheres e o aumento na prevalência da coinfeção HIV/HPV, em especial em países subdesenvolvidos (BRINGEL et al., 2021) e o impacto biológico significativamente negativo da coinfeção HIV/HPV faz-se importante entender qual a influência do HIV nesta relação, a fim de elucidar se ocorre aumento na sensibilidade para a infecção pelo HPV, ou se existe alteração nas interações entre os tipos de HPV e as lesões cervicais (BRINGEL et al., 2021).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Detectar o papilomavírus humano e identificar os seus tipos específicos, na mucosa cervical, anal e oral, de mulheres soropositivas para o vírus da imunodeficiência humana.

#### **3.2 Específicos**

- Descrever os dados sociodemográficos;
- Analisar dados de carga viral e de contagem de linfócitos T CD4+ e T CD8+;

- Identificar a prevalência de DNA-HPV nas amostras de escovado cervical, anal e oral;
- Obter a genotipagem do HPV;
- Relacionar a presença de HPV e seus tipos específicos com dados sociodemográficos, laboratoriais.

#### **4. RESULTADOS**

##### **ARTIGO ORIGINAL**

**Título:** DETECÇÃO E GENOTIPAGEM DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES INFECTADAS COM VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA: associação com carga viral e contagem de linfócitos.

Submissão para a Revista: Journal of Microbiology, Immunology and Infection

Fator de impacto / 2022: 4,399

Qualis 2013-2016: A2

Autores: Ana Cléa Cutrim Diniz de Moraes<sup>a</sup>, Alice de Sá Ferreira<sup>a</sup>, Carla Déa Trindade Barbosa<sup>a</sup>, Maria Fernanda Bezerra Lima<sup>a</sup>, Karina Donato Fook<sup>b</sup>, Mônica Machado de Carvalho<sup>b</sup>, Alessandra Costa de Sales Muniz<sup>b</sup>, Deborah Rocha de Araújo<sup>b</sup>, Pablo de Matos Monteiro<sup>c</sup>, Maria José Abigail Mendes Araújo<sup>b</sup>, Sally Cristina Moutinho Monteiro<sup>d</sup> Fernanda Ferreira Lopes<sup>d</sup>.

<sup>a</sup> Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto e Laboratório de Análises Clínicas e Histocompatibilidade do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

<sup>b</sup> e Laboratório de Análises Clínicas e Histocompatibilidade do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

<sup>c</sup> Farmacêutico e aluno do Programa de Oncobiologia Celular e Molecular - Instituto Nacional de Câncer (INCA)

<sup>d</sup> Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão

**Autor correspondente:** Ana Cléa Cutrim Diniz de Moraes.

**E-mail:** cutrim.ana@ufma.br

**Endereço:** Rua Engenheiro Brito Passos C3A Conjunto Elca - Monte Castelo

**Telefone:** (98) 988056319

## RESUMO

O presente estudo objetivou detectar o papilomavírus humano e identificar os seus tipos específicos, na mucosa cervical, anal e oral, de mulheres soropositivas para o vírus HIV e investigar a carga viral e contagem de linfócitos CD4 e CD8. **Métodos:** Trata-se de um estudo do tipo transversal, com abordagem quantitativa. A amostra foi composta por 86 mulheres HIV positivas em terapia antirretroviral. Coletou-se dados sociodemográficos e de saúde (contagem de células T CD4, CD8 e carga viral). As amostras biológicas (cervical, anal e oral) foram coletadas utilizando swabs estéreis. Os dados foram categorizados de acordo com presença ou ausência de DNA-HPV, presença de DNA-HPV em um sítio anatômico ou em mais, e DNA-HPV baixo e alto risco oncogênico. Para as análises, considerou-se um  $p$  valor  $<0,05$ . Os testes foram realizados no programa estatístico IBM SPSS versão 24. **Resultados:** A amostra foi composta por 86 mulheres soropositivas para HIV com 54,7% positivas para o DNA-HPV. A presença do HPV no sítio cervico-vaginal foi de 65,9%, no canal anal 63,8% e na mucosa oral 4,2%, sendo que 29,8% de mulheres apresentavam positividade para DNA-HPV em canal cérvico-vaginal e anal concomitantemente. A carga viral  $\geq 75$  cópias HIV/ml associou-se a presença de HPV. A contagem de TCD4 e TCD8 foi maior no grupo DNA-HPV negativo com  $p < 0,05$ . Dentre as amostras genotipadas verificou-se maior prevalência do DNA-HPV de baixo risco oncogênico, o tipo 6 (34,0%), seguido pelos tipos de alto risco oncogênico 59 (17,0%) e 16 (14,9%). O sítio anatômico com maior prevalência de HPV de alto risco foi cervical, com 50%. A carga viral e contagem de linfócitos T das participantes soropositivas para HIV e com presença de DNA-HPV genotipadas foram avaliados de acordo com o tipo de HPV (alto e baixo risco oncogênico) e verificou-se associação entre a carga viral e o HPV de baixo risco oncogênico. **Conclusão:** Houve elevada frequência de infecção por HPV em mulheres soropositivas para HIV, com destaque no sítio cervical e anal. O HPV 6 (baixo risco oncogênico) foi o mais frequente, seguido pelos HPVs do tipo 59 e 16 (alto risco).

**Palavras-Chaves:** Papilomavírus Humano. Vírus da Imunodeficiência Humana. Coinfecção.

## INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento das lesões pré-neoplásicas e neoplásicas intraepiteliais bem como do câncer de colo do útero (BADIAL, et al., 2018). Mulheres soropositivas para HIV apresentam uma incidência de 3 a 10 vezes maior de câncer cervical<sup>4</sup> e 15 a 25 vezes de câncer anal em comparação a mulheres soronegativas. Além disso, homens e mulheres soropositivos para HIV possuem um risco de 1,5 a 3 vezes maior de incidência de câncer de orofaringe.<sup>5-6</sup>

No Brasil, em estudo de coorte com três centros de pesquisa, verificou-se que 47,5% das mulheres HIV soropositivas possuíam infecção por HPV,<sup>8</sup> e em estudo mais recente com mulheres HIV soropositivas do Rio Janeiro, foi observada prevalência de infecção por HPV de 36%.<sup>9</sup> O HPV 16 (8,1%) e HPV 18 (3,7%) foram os mais prevalentes em mulheres positivas para HIV.<sup>10</sup> Em recente meta-análise com trinta e sete estudos envolvendo 8.436 mulheres com HIV revelou a prevalência combinada com HPV de 62%, com 40% sendo HPV de alto risco em amostras cervicais. Também houve grande variedade de genótipos de HPV de alto risco, sendo o 16 (16%) e HPV 58 (6%), os mais detectados, sendo a baixa contagem de CD4+ o fator mais associado ao HPV de alto risco.<sup>11</sup>

Todos esses estudos enfatizam a importância da triagem de HPV nessa população, pois o uso da terapia antirretroviral reduz as infecções oportunistas e certas neoplasias relacionadas a síndrome da imunodeficiência humana (AIDS)<sup>12</sup>, mas tem-se verificado o aumento de câncer associado a vírus, como câncer anal e cervical relacionados ao HPV, câncer hepático associado ao vírus da hepatite B e C, e ao linfoma de Hodgkin associado a infecção pelo vírus Epstein-Barr.<sup>13</sup>

No Brasil, há poucos estudos que relacionam a presença do HPV em indivíduos soropositivos para HIV com amostras biológicas em vários sítios além da região cervical, sobretudo, no Estado do Maranhão (MA). O cenário local, que contrasta com a realidade nacional, impulsiona estudos específicos nessa população. No Maranhão existe uma proporção de pessoas com CD4 < 200 células/mm<sup>3</sup> no momento do diagnóstico, 43% acima da proporção nacional<sup>17</sup>. Ademais, foi levantado o seguinte questionamento: como está a contagem de carga viral e de linfócitos nessas mulheres com coinfeção HIV/HPV?

Um dos principais entraves para direcionar políticas de prevenção tem sido a escassez de dados, a qual decorre, em parte, porque a triagem sorológica não inclui o rastreamento do HPV, ou, às vezes, ocorre a ausência da integração de dados clínicos dos pacientes. Além disso a genotipagem do HPV é um importante teste que pode contribuir para a prevenção do câncer cervical e anal e é essencial para o melhor conhecimento dos tipos de HPV de alto risco no estado do Maranhão e ainda para a introdução de um programa de imunização eficaz.

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi identificar a presença do papilomavírus humano e seus tipos específicos, através da genotipagem do HPV, na mucosa cervical, anal e oral, de mulheres soropositivas para o vírus da imunodeficiência humana, associando com a carga viral e contagem de linfócitos. E ainda, identificar a prevalência de DNA-HPV nas amostras cervical, anal e oral, relacionando sua presença e seus tipos específicos com dados sociodemográficos e laboratoriais.

## **METODOLOGIA**

### **Tipo e Local do Estudo**

Trata-se de um estudo do tipo transversal, prospectivo, quantitativo realizado no período de janeiro de 2020 a dezembro de 2021 nos Centros de Referência para tratamento de HIV na cidade de São Luís, Maranhão, região nordeste do Brasil (Ambulatório de Ginecologia e Laboratório de Análises Clínicas e Histocompatibilidade do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão e Ambulatório de pacientes do Serviço de Atendimento Especializado na Unidade Básica de Saúde do bairro de Fátima em São Luís do Maranhão).

Esta pesquisa foi aprovada no Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (CEP-HUUFMA), São Luís/MA, sob parecer de número 2.776.970 e CAAE 70989617.4.0000.5086, seguindo todas as diretrizes da Resolução CNS 466/12 e suas complementares.

### **População do Estudo**

Participaram deste estudo 86 mulheres HIV soropositivas acompanhadas por profissionais de saúde nos centros especializados. Foram incluídas no presente estudo somente as mulheres HIV soropositivas atendidas nos centros de referência para consulta de rotina, com idade entre 20 e 69 anos e que se encontravam em tratamento antirretroviral. Não foram incluídas gestantes, lactantes, mulheres imunocomprometidas

por agente biológico que não o HIV (previamente diagnosticada), histerectomizadas, em período menstrual e mulheres com contraindicação para o exame de Papanicolau (p. ex.: uso atual de óvulos vaginais, duchas vaginais nas últimas 24h que antecederam a coleta de amostra biológica).

### **Coleta de dados e Amostra biológica**

As coletas dos espécimes para pesquisa foram realizadas após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e resposta do questionário estruturado sobre dados sociodemográficos (idade, sexarca, estado civil, número de parceiros sexuais, quantidade de filhos), informações sobre tratamento medicamentoso. As informações sobre a contagem de células T CD4, CD8 (células/mm<sup>3</sup>) e carga viral (cópias/ml), foram obtidas nos prontuários eletrônicos do serviço especializado.

As coletas de espécimes clínicos foram realizadas através de escovado endocervical, anal e oral resumo e usados para análises laboratoriais. Estas amostras foram armazenadas em tampão Tris-EDTA pH 7,4 e mantidas em freezer a – 20°C e submetidas à pesquisa de HPV no Laboratório de Estudos Genômicos e de Histocompatibilidade (LEGH) e Laboratório de Biologia Molecular do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto (PPGSAD) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

### **Processamento das Amostras**

A extração de ácido nucleico foi realizada a partir dos swabs utilizando-se o kit QIAamp DNA Mini Kit™ (Qiagen), de acordo com o protocolo descrito no manual do fabricante. A detecção de DNA-HPV foi realizada utilizando-se DNA extraído e submetido à amplificação pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) do tipo Nested, utilizando dois conjuntos de iniciadores PGMY09 e 11 (amplificando sequências de 450 pb da região L1 do DNA viral) e GP+5 e GP+6 (amplificam sequências de 190pb da região L1 do DNA viral) (GRAVITT *et al.*, 2000), utilizando o termociclador Thermal Cycler PCR- VERITI Dx 96 well (Applied Biosystems, Thermo Scientific, Califórnia, USA). Como controle positivo da reação, utilizou-se amostras sabidamente positivas para HPV e, como controle negativo, água ultrapura.

Os produtos amplificados foram observados através de eletroforese em gel de agarose (1,5%), corados com intercalante de DNA Gel Red a 0,1% e visualizados em um transiluminador de luz ultravioleta (BIO-RAD Laboratories, EUA).

Os produtos de PCR-Nested positivos para o DNA-HPV foram purificados com o kit Genelute PCR Clean up de acordo com o protocolo do fabricante (Sigma-Aldrich, USA). As reações de genotipagem foram submetidas à técnica de sequenciamento de Sanger (1977) na empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. (Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS) utilizando o sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer equipado com capilares de 50 cm e polímero POP7 (Applied Biosystems). Os DNA-moldes foram purificados com o reagente ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup (Applied Biosystems) e quantificados no equipamento Nanodrop 2000 c (Thermo Scientific).

### **Análise dos dados**

Os dados foram categorizados em grupos mulheres soropositivas para HIV e negativas para DNA-HPV (DNA-HPV negativo) *versus* mulheres soropositivas para HIV e positivas para DNA-HPV (DNA-HPV positivas). Levando-se em consideração a existência de um conjunto de participantes DNA-HPV positiva com a presença do vírus em mais de um sítio anatômico, esse grupo foi subdividido em DNA-HPV em um sítio anatômico e DNA-HPV em mais de um sítio anatômico. E ainda no grupo DNA-HPV positivas, após a genotipagem, foi realizado a subdivisão em DNA-HPV baixo risco e DNA-HPV alto risco. Assim, as variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste do Qui-quadrado ou teste G enquanto as variáveis numéricas foram submetidas ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, tendo distribuição não paramétrica. Assim, utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparação entre dois grupos. Considerou-se valor de  $p$  significativo  $<0,05$ . Os testes foram realizados no programa IBM SPSS versão 24.

### **RESULTADOS**

A amostra foi composta por 86 mulheres soropositivas para HIV em tratamento antirretroviral, onde 47 (54,7%) apresentaram positividade para o DNA-HPV. A mediana da idade do grupo das mulheres DNA-HPV negativo foi de 46,5 anos (IC95% 34,5-59,2), sendo superior a mediana de idade das DNA-HPV positivo (43,0 anos-IC95% 34-52,5), porém sem significância estatística ( $p>0,05$ ). A cor da pele autodeclarada foi predominantemente preta em ambos os grupos (DNA-HPV negativo -59% *versus* DNA-

HPV positivo - 57,4%), o estado civil sem companheiro (61,5%) e com companheiro (58,7%) foram preponderantes, respectivamente, nos grupos DNA-HPV negativo e DNA-HPV positivo. O número de parceiros sexuais igual ou superior a 2 obteve maior prevalência nos dois grupos, sendo 87,5% no grupo DNA-HPV negativo e 74,5% no grupo DNA-HPV positivo, contudo sem significância estatística ( $p>0,05$ ) (Tabela 01).

No que concerne a ter filhos, 89,7% no grupo DNA-HPV negativo e 91,5% no grupo DNA-HPV positivo declararam ter filhos, ainda, a idade da primeira relação sexual foi predominantemente maior ou igual a 12 anos em ambos os grupos, com 87,2% no grupo DNA-HPV negativo e 89,4% no grupo DNA-HPV positivo, contudo, sem significância estatística para as duas variáveis citadas ( $p>0,05$ ). Sobre o uso de método contraceptivo hormonal, 97,4% não utilizavam no grupo DNA-HPV negativo e 97,9% também não utilizavam no grupo DNA-HPV positivo, também sem apresentar significância estatística na diferença entre os grupos ( $p<0,05$ ) (Tabela 01).

**Tabela 01.** Características sócio-demográficas de mulheres soropositivas para HIV com e sem coinfeção por DNA-HPV, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.

<b>Variáveis</b>	<b>DNA-HPV negativo</b> Mediana (IC95%)	<b>DNA-HPV positivo</b> Mediana (IC95%)	<b>p-valor</b>
<b>Idade</b>	46,50 (34,5-59,2)	43,0 (34-52,5)	0,7*
<b>Variáveis</b>	<b>DNA-HPV negativo</b> <b>39 (45,3%)</b>	<b>DNA-HPV positivo</b> <b>47 (54,7%)</b>	<b>p-valor</b>
<b>Cor da pele</b>			
Preta	23 (59)	27 (57,4)	0,9
Branca	10 (25,6)	12 (25,5)	
Indígena	6 (15,4)	8 (17)	
<b>Estado Civil</b>			
Com companheiro	24 (61,5)	19 (41,3)	0,06
Sem companheiro	15 (38,5)	27 (58,7)	
<b>Número de parceiros sexuais</b>			
>2	5 (12,8)	12 (25,5)	0,1
≤2	34 (87,2)	35 (74,5)	
<b>Filhos</b>			
Sim	35 (89,7)	43 (91,5)	0,7
Não	4 (10,3)	4 (8,5)	
<b>Idade da 1º Relação Sexual</b>			
<12 anos	5 (12,8) 34 (87,2)	5 (10,6) 42 (89,4)	0,7

≥ 12 anos			
<b>Contraceptivo Hormonal</b>			
Sim	1 (2,6)	1 (2,1)	1,0
Não	38 (97,4)	46 (97,9)	

Dados analisados pelos testes Mann-Whitney, Teste-G, Qui-quadrado e Exato de Fisher.  $\alpha=0,05$

Em relação a positividade do DNA-HPV nos diferentes sítios anatômicos verificou-se que a presença no sítio cervicovaginal foi de 65,9%, no canal anal 63,8% e na mucosa oral 4,2%, sendo que 29,8% de mulheres apresentavam positividade para DNA-HPV em canal cervico-vaginal e anal concomitantemente e 2,12% com positividade em canal cervicovaginal, anal e oral simultaneamente.

Na avaliação da carga viral e contagem de linfócitos verificou-se que a carga viral <75 cópias HIV/ml foi preponderante em ambos os grupos, sendo 90% no grupo DNA-HPV negativo e 78,3% no grupo DNA-HPV positivo, com significância estatística ( $p<0,05$ ) na comparação entre os grupos. Dados apresentados na Tabela 02.

Na contagem de linfócitos constatou-se que o linfócito TCD4 apresentou maior valor de mediana no grupo DNA-HPV negativo (735,0; IC95% 601,75-888) quando comparado ao DNA-HPV positivo (591,0; IC95% 377,5-745,7), com significância estatística ( $p<0,05$ ). A contagem de TCD8 apresentou-se maior no grupo DNA-HPV negativo (812,0; IC95% 727-910) quando comparado ao DNA-HPV positivo (676,0; IC95% 414-895), com significância estatística ( $p<0,05$ ). Por sua vez, a relação CD4/CD8 demonstrou maior valor de mediana no grupo DNA-HPV negativo (0,88-IC95% 0,65-1,26) quando comparado ao grupo DNA-HPV positivo (0,84-IC95% 0,51-1,16), porém sem significância estatística ( $p>0,05$ ). Dados apresentados na Tabela 02.

**Tabela 02.** Contagem de carga viral para HIV, de linfócitos TCD4 + e TCD8+ de mulheres soropositivas para HIV com e sem coinfeção por DNA-HPV, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.

Variáveis	DNA-HPV negativo 30 (%)	DNA-HPV positivo 46 (%)	<i>p</i> -valor
<b>Carga Viral</b>			
< 75 cópias/ml	27 (90%)	36 (78,3%)	0,005
≥ 75 cópias/ml	3 (10%)	10 (21,7%)	

Variáveis	DNA-HPV negativo Mediana (IC95%)	DNA-HPV positivo Mediana (IC95%)	p-valor
CD4 céls/mm <sup>3</sup>	735,0 (601,75-888)	591,0 (377,5-745,7)	0,02
CD8 céls/mm <sup>3</sup>	812,0 (727-910)	676,0 (414-895)	0,02
CD4/CD8	0,88 (0,65-1,26)	0,84 (0,51-1,16)	0,6

Dados analisados pelos testes Mann-Whitney, Teste-G, Qui-quadrado e Exato de Fisher.  $\alpha=0,05$

Ao se realizar a análise dos parâmetros disponíveis, de carga viral e contagem de linfócitos T das participantes soropositivas para HIV e com presença de DNA-HPV em um ou mais sítios anatômicos verificou-se que a carga viral <75 cópias de HIV/ml foi preponderante em ambos os grupos (84% DNA-HPV em um sítio anatômico e 81,8% DNA-HPV em mais de um sítio anatômico), sem significância estatística ( $p>0,05$ ). A contagem de TCD4 (654,50 *versus* 692,0 –  $p = 0,4$ ), TCD8 (833,0 *versus* 895,0 –  $p = 0,09$ ) e a relação CD4/CD8 (0,87 *versus* 1,71 –  $p = 0,1$ ) também não apresentou significância estatística entre os grupos DNA-HPV em um ou em mais sítios biológicos, respectivamente. Dados apresentados na Tabela 03.

**Tabela 03.** Contagem carga viral para HIV, de linfócitos TCD4 + e TCD8+ de mulheres soropositivas para HIV com coinfeção por DNA-HPV, por sítio anatômico, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.

Variáveis	DNA-HPV positivo em um sítio anatômico (25)	DNA-HPV positivo em mais sítios anatômicos (11)	p-valor
<b>Carga Viral</b> < 75 cópias/ml ≥ 75 cópias/ml	21 (84%) 4 (16%)	9 (81,8%) 2 (18,2%)	0,8
Variáveis	DNA-HPV positivo em um sítio biológico Mediana (IC95%) (N=34)	DNA-HPV positivo em mais de um sítio biológico Mediana (IC95%) (N=13)	p-valor
CD4 céls/mm <sup>3</sup>	652,5 (415-844)	692,0 (283-1091)	0,4
CD8 céls/mm <sup>3</sup>	833,0 (461-1286)	895,0 (615-1085)	0,09
CD4/CD8	0,87 (0,49-1,78)	1,71 (0,89-18,00)	0,1

Dados analisados pelos testes Mann-Whitney, Teste-G, Qui-quadrado e Exato de Fisher.  $\alpha=0,05$ .

Dentre as 47 amostras genotipadas verificou-se maior prevalência do DNA-HPV do tipo 6 (34,0%), baixo risco oncogênico, seguido pelos tipos de alto risco 59 (17,0%) e 16 (14,9%).

A classificação da genotipagem quanto ao risco oncogênico demonstrou que 59,57% eram de baixo risco. Dentre os HPVs de baixo risco, o mais predominante foi o tipo 6 (72,7%), seguido do 70 (10,71%) e 83 (10,71%). Por sua vez, o HPV de alto risco prevaleceu o tipo 59 (38,1%) seguido por 16 (33,3%). O sítio anatômico com maior prevalência de HPV de alto risco foi cervical, com 50%.

Os genótipos de HPV encontrados no sítio cervical foram 16, 51, 59 (HPV de alto risco) e 6, 54, 70, 72, 81 e 83 (HPV de baixo risco) e o HPV 66 de risco intermediário; no sítio anal os genótipos encontrados foram 18, 45, 59 (HPV de alto risco) e 6, 62, 70 (HPV de baixo risco) e o 66 de risco intermediário e finalmente no sítio oral o HPV 6 de baixo risco e o HPV 16 de alto risco. O HPV 6 foi encontrado concomitantemente nos sítios anal, cervical e oral; o HPV 16 foi encontrado nos sítios cervical e oral ao mesmo tempo; e o HPV 66 e 70 foram encontrados simultaneamente nos sítios Anal e cervical. Na Tabela 04 estão evidenciados os HPVs de alto e baixo risco oncogênico, de acordo com o sítio anatômico.

**Tabela 04:** Distribuição dos genótipos de HPV de alto e baixo risco oncogênico, de acordo com o sítio anatômico, de mulheres soropositivas para HIV, São Luís, MA, Brasil, 2021-2022.

<b>Variáveis</b>	<b>DNA-HPV alto risco oncogênico</b>	<b>DNA-HPV de baixo risco oncogênico</b>	<b>Total de Amostras Genotipadas</b>
<b>Cervical</b>	10 (45,5%)	11 (50%)	22 (100%)*
<b>Anal</b>	10 (43,5%)	12 (52,2%)	23 (100%)**
<b>Oral</b>	1 (50%)	1 (50%)	02 (100%)

\*01 mulher com HPV de risco intermediário (HPV 66); \*\*01 mulher possui HPV de risco intermediário (HPV66).

Ainda sobre a classificação de risco oncogênico foi possível observar que amostras cervicovaginal de 06 participantes (12,7%) apresentaram múltiplos tipos de HPV, sendo que apenas 1 mulher não tinha o tipo de alto risco (Tabela 05).

**Tabela 05:** Distribuição dos múltiplos genótipos de HPV em amostras cervicovaginal, de mulheres soropositivas para HIV, São Luís, MA, Brasil, 2021-2022.

<b>Amostras cérvico-vaginal</b>	<b>Tipo de HPV alto risco oncogênico</b>	<b>Tipo de HPV de baixo risco oncogênico</b>
<b>01</b>	51	54
<b>02</b>	16, 51	81
<b>03</b>	59	6
<b>04</b>	59	6
<b>05</b>	59	6
<b>06</b>	-	6, 51, 72

Os parâmetros disponíveis, de carga viral e contagem de linfócitos T das participantes soropositivas para HIV e com presença de DNA-HPV genotipadas foram avaliados de acordo com o tipo de HPV (alto e baixo risco oncogênico). O grupo soropositivo para HIV com DNA-HPV de baixo risco oncogênico (DNA-HPV de baixo risco) apresentou 70,6% das participantes com carga viral < 75 cópias de HIV/ml e a carga viral no grupo DNA-HPV de alto risco < 75 cópias de HIV/ml esteve presente em 94,7% das participantes, demonstrando significância estatística ( $p < 0,05$ ) na comparação entre ambos os grupos.

No que concerne a contagem de linfócitos TCD4, o grupo DNA-HPV de baixo risco demonstrou maior valor de mediana (627; IC95% 474-853) quando comparado ao grupo DNA-HPV alto risco (576; IC95% 151-775), porém sem significância estatística ( $p > 0,05$ ). Da mesma forma, a contagem de linfócitos CD8 também apresentou maior valor de mediana no grupo DNA-HPV de baixo risco (715; IC95% 439-744) quando comparado ao grupo DNA-HPV alto risco (615; IC95% 388-914), contudo sem significância estatística ( $p > 0,05$ ). A relação CD4/CD8 evidenciou maior valor do grupo DNA-HPV de alto risco (1,0; IC95% 1,0-1,0), porém sem significância estatística ( $p > 0,05$ ). Dados apresentados na Tabela 06.

**Tabela 6:** Contagem carga viral para HIV, de linfócitos TCD4 + e TCD8+ de mulheres soropositivas para HIV com coinfeção por DNA-HPV, distribuído por tipo de risco oncogênico, São Luís, Maranhão, Brasil, 2021-2022.

<b>Variáveis</b>	<b>HIV + HPV baixo risco</b>	<b>HIV + HPV alto risco</b>	<b>p valor</b>
<b>Carga Viral</b> < 75 cópias/ml ≥ 75 cópias/ml	12 (70,6%) 5 (29,4%)	18 (94,7%) 1 (5,3%)	0,04
<b>Variáveis</b>	<b>HIV + HPV baixo risco</b>	<b>HIV + HPV alto risco</b>	<b>p-valor</b>
<b>CD4 céls/mm<sup>3</sup></b>	627 (474-853)	576 (151-775)	0,2
<b>CD8 céls/mm<sup>3</sup></b>	715 (439-744)	615 (388-914)	0,9
<b>Relação CD4/CD8</b>	0,81 (0,28-1,10)	1,0 (1,0-1,0)	0,09

Dados analisados pelos testes Mann-Whitney, Teste-G, Qui-quadrado e Exato de Fisher.  $\alpha=0,05$

## DISCUSSÃO

No Brasil, a epidemiologia de HPV, segundo Miranda e cols. (2017)<sup>10</sup> em um estudo multicêntrico, verificaram que dentre 802 mulheres HIV soropositivas, 28,4% apresentaram infecção por HPV. Frequência menor que a observada no presente estudo, pois mais da metade das participantes (54,7%) apresentaram DNA-HPV positivo, resultados próximos aos dados de genotipagem do HPV em 213 mulheres HIV soropositivas de Mbeya (Tanzania), das quais 57% tinham coinfeção pelo HPV.<sup>24</sup> Outros estudos como os de Teixeira e cols. (2018)<sup>14</sup> e de Monteiro e cols. (2021)<sup>15</sup> também encontraram elevada prevalência de HPV em mulheres HIV soropositivas, sendo 31,1% (Amazonas, Brasil) e 63% (Pará, Brasil), respectivamente. Na revisão de Bogale (2020)<sup>16</sup> houve uma prevalência de 63% de infecção por HPV, ainda, na revisão sistemática e meta-análise de Verrier e cols. (2020)<sup>7</sup> a prevalência de HPV foi de 42,6 %, enquanto há relatos que no Brasil, a prevalência de HPV geral foi de 53,6%, sendo que 35,2% apresentaram pelo menos um HPV de alto risco e 18,4% para outros tipos de HPV.<sup>17</sup>

Os dados deste estudo apresentaram maior prevalência de HPV cervical em relação à infecção nos sítios oral e anal. O sítio oral foi o que demonstrou menor

prevalência, podendo ser explicado pela hostilidade da cavidade oral em estabelecer agentes infecciosos devido a mecanismo de digestão.<sup>18</sup> Porém, no estudo de Suehiro e cols. (2020)<sup>18</sup>, somente com pacientes do sexo feminino, verificou que a taxa de infecção oral por HPV em mulheres soropositivas para HIV foi de 14,8%, sendo superior à de mulheres soronegativas (9,4%), além disso, nesse mesmo estudo, 41% das pacientes soropositivas apresentaram HPV positivos nos sítios cervical e oral. Destaca-se que múltiplas infecções por HPV são detectadas no mesmo indivíduo em diferentes áreas anatômicas, podendo ser explicado pela disseminação heterogênea dos tipos virais em todos os tipos de células e sua distribuição em padrões irregulares<sup>19</sup> o que pode explicar os resultados aqui apresentados, que se encontrou DNA-HPV positivo em mais sítios anatômicos.

Neste trabalho também foi visto que a carga viral de pacientes com coinfeção para HPV/HIV foi predominantemente menor que 75 cópias, sendo que em 10% no grupo DNA-HPV negativo e 21,7% no grupo DNA-HPV positivo apresentaram carga viral  $\geq 75$  cópias/ml, com significância estatística ( $p < 0,05$ ) na comparação entre os grupos. Este resultado torna-se relevante, pois, foi encontrada uma associação entre a carga viral do HIV e a ocorrência de lesões cervicais, demonstrando que a carga viral pode aumentar significativamente o risco de desenvolvimento de lesões cervicais<sup>20</sup>. Desse modo, a carga viral favorece a infecção persistente por HPV, além de possibilitar a recorrência da lesão cervical.<sup>20-22</sup>

No presente estudo, como todas as participantes estavam sob tratamento de antirretroviral e eram acompanhadas por profissionais de saúde nos centros especializados, obteve-se a mediana da contagem de células TCD4+ mais elevada que o padrão para o início da terapia antirretroviral (ART) que é entre  $< 350$  a  $< 500$  células por  $\mu\text{L}$ .<sup>23</sup>

Por outro lado, observou-se um declínio moderado na frequência mediana das células TCD4+ em mulheres HIV soropositivas com coinfeção por HPV em comparação com as sem coinfeção<sup>24</sup>, com significância estatística ( $p < 0,05$ ). Assim, ratificando que as mulheres HIV soropositivas, sobretudo aquelas com contagens baixas de células TCD4+ ( $< 200$  células/ $\text{mm}^3$ ), possuem maior risco de infecção e persistência do HPV, quando comparadas com mulheres HIV soronegativas.<sup>2-3</sup>

Ademais, Grinsztejn e cols. (2009)<sup>23</sup> demonstraram que a contagem de TCD4+  $< 100$  células/ $\mu\text{L}$  foi relacionado à presença de infecção cervical por HPV em mulheres soropositivas para HIV, sugerindo que a contagem baixa de TCD4 pode ser considerada

um fator de risco para a infecção de HPV de alto risco, como o do tipo 16.<sup>25</sup> Paralelamente, a contagem de TCD4 + maior que 500/ $\mu$ L foi indicada como um fator protetor contra o desenvolvimento de lesões cervicais.<sup>26</sup>

A infecção por HIV induz a perda sistêmica de células TCD4+ aumentando as chances de desenvolvimento de infecções oportunistas como o HPV. Dessa forma, a baixa contagem de TCD4+ em mulheres com coinfeção para HIV e HPV é devido a imunossupressão do HIV e não do HPV, podendo a baixa contagem de TCD4+ estar associada a uma disfunção imunológica, e, assim, aumentando o risco de infecção por HPV.<sup>24</sup>

As participantes HPV negativas e as portadoras de HPV baixo risco apresentaram maior contagem de células TCD8+. Tal resultado pode encontrar explicação na correlação entre a célula TCD8+ com o declínio inicial da replicação viral, visto que sem a presença de células do tipo TCD8+, o HIV pode se replicar de forma desordenada.<sup>27</sup>

No presente estudo, as células TCD8+ também foram associadas com a infecção por HPV, ou seja, mulheres com coinfeção para HIV e HPV apresentaram menor contagem de células T CD8 +. O estudo de Mondatore e cols. (2022)<sup>28</sup> corrobora com os dados aqui apresentados, uma vez que encontraram relação entre a redução de células TCD8 + em mulheres soropositivas para HIV e as lesões cervicais. As células TCD8+ possuem uma alta capacidade citotóxica e são associadas ao controle da replicação viral e a uma progressão retardada do HIV, sua depleção pode contribuir para uma maior probabilidade de infecção por HPV bem como para a persistência da infecção.<sup>29</sup>

A relação CD4/CD8 em mulheres HIV soropositivas é refletida na mucosa cervical, podendo a destruição progressiva das células TCD4+ e a perda de imunidade mediada por células na população HIV soropositivas comprometer a resposta à infecção pelo HPV e potencialmente atuar no aceleração do processo neoplásico.<sup>30</sup>

Pode-se citar como pontos fortes do presente estudo, o emprego de técnicas de sequenciamento para determinação do tipo de HPV em amostras biológicas avaliados em diferentes sítios anatômicos, não somente no cervical, da mesma participante da pesquisa. Adicionalmente, foram obtidos dados da carga viral e contagem de células T CD4 e CD8, que permitiu fazer diversas análises, mesmo com limitações no número de participantes (86) e a seleção desta amostra ter sido por conveniência; importante ressaltar que o número de amostras coletadas foi de 258, visto que cada participante contribuiu com material cervical, anal e oral, o que possibilitou um incremento na quantidade das amostras analisadas.

Outro achado importante neste trabalho foi a alta prevalência de infecção pelo tipo de HPV 59 de alto risco, pouco relatado na literatura, com frequência similar ao HPV 16. Reitera-se que o genótipo do HPV, é importante para a epidemiologia e implementação do programa correto de vacinação contra o HPV.<sup>31</sup> Atualmente, no Brasil, as duas vacinas disponíveis somente possuem cobertura para os tipos 6,11, 16 e 18, logo, a alta prevalência de HPV 59 neste estudo pode corroborar para perspectivas futuras de ampliação da cobertura vacinal, principalmente quando se referir a pacientes soropositivos, justificando-se a importância de serem realizados estudos de genotipagem do vírus antes da implementação de programas de imunização contra o HPV.<sup>31</sup>

## **CONCLUSÃO**

Este estudo detectou que a presença do HPV é comum nas mulheres soropositivas para o vírus da imunodeficiência humana, ratificando que mulheres HIV soropositivas possuem maior risco de infecção e persistência do papilomavírus humano. E mostra a importância da realização do rastreamento do HPV através do teste de diagnóstico molecular destacando importante achado do genótipo HPV 59 de alto risco na população desse Estado.

## REFERÊNCIAS

- 1- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). ICO. Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Human papillomavirus and related cancers in world. Summary Report 2016. Geneva: WHO; 2016. [Cited 2017 July 3]. Available from: [http://betterhealthcareforafrica.org/blog/wp-content/uploads/2017/01/WHO\\_ICO\\_Report\\_HPV\\_ZW2016.pdf](http://betterhealthcareforafrica.org/blog/wp-content/uploads/2017/01/WHO_ICO_Report_HPV_ZW2016.pdf).
- 2- LEVI, J. E. et al. High presence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in Human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 9, p. 3341-3345, 2002.
- 3- LIU, Gui et al. HIV-positive women have higher risk of human papilloma virus infection, precancerous lesions, and cervical cancer. *Aids*, v. 32, n. 6, p. 795-808, 2018.
- 4- MBULAITEYE, Sam M. et al. Spectrum of cancers among HIV-infected persons in Africa: The Uganda AIDS-Cancer Registry Match Study. *International Journal of Cancer*, v. 118, n. 4, p. 985-990, 2006.
- 5- CHATURVEDI, Anil K. et al. Risk of human papillomavirus-associated cancers among persons with AIDS. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, v. 101, n. 16, p. 1120-1130, 2009.
- 6- SHIELS, Meredith S. et al. A meta-analysis of the incidence of non-AIDS cancers in HIV-infected individuals. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, v. 52, n. 5, p. 611, 2009.
- 7- VERRIER, Florian; LE COEUR, Sophie; DELORY, Tristan. Cervical Human Papillomavirus Infection (HPV) and High Oncogenic Risk Genotypes among Women Living with HIV in Asia: A Meta-Analysis. *Journal of clinical medicine*, v. 10, n. 9, p. 1911, 2021.
- 8- MARTINS, Albert Eduardo Silva et al. Prevalence of human papillomavirus infection, distribution of viral types and risk factors in cervical samples from human immunodeficiency virus-positive women attending three human immunodeficiency virus-acquired immune deficiency syndrome reference centers in northeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 109, p. 738-747, 2014.
- 9- KURY, Miguel Haddad Charbell et al. Human papillomavirus prevalence, genomic diversity and related risk factors in HIV-positive women from a countryside city in the state of Rio de Janeiro. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, v. 17, n. 3, p. 838-844, 2021.
- 10- MIRANDA, Angelica E. et al. High-risk papillomavirus infection among women living with human Immunodeficiency virus: Brazilian multicentric study. *Journal of medical virology*, v. 89, n. 12, p. 2217-2223, 2017.
- 11- DA SILVA, Brenda Evelin Barreto et al. Prevalence of human papillomavirus infection in Brazilian women living with HIV: a systematic review and meta-analysis. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, v. 20, n. 4, p. 611-620, 2022.

- 12- SILVERBERG, Michael J. et al. Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. **Clinical infectious diseases**, v. 54, n. 7, p. 1026-1034, 2012.
- 13- ENGELS, Eric A. et al. Trends in cancer risk among people with AIDS in the United States 1980–2002. **Aids**, v. 20, n. 12, p. 1645-1654, 2006.
- 14- TEIXEIRA, Monique Figueiredo et al. High-risk human papillomavirus prevalence and genotype distribution among women infected with HIV in Manaus, Amazonas. **Virology journal**, v. 15, n. 1, p. 1-12, 2018.
- 15- MONTEIRO, Jacqueline Cortinhas et al. Prevalence of high risk HPV in HIV-infected women from Belém, Pará, Amazon region of Brazil: a cross-sectional study. **Frontiers in Public Health**, v. 9, 2021.
- 16- BOGALE, Agajie Likie et al. Molecular epidemiology of human papillomavirus among HIV infected women in developing countries: systematic review and meta-analysis. **Virology Journal**, v. 17, n. 1, p. 1-15, 2020.
- 17- BRASIL. Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecção pelo HPV (POP-BRASIL) - 2015-2017 / Associação Hospitalar Moinhos de Vento. – Porto Alegre, 2020. 89 p.
- 18- SUEHIRO, Tamy Taianne et al. Cervical and oral human papillomavirus infection in women living with human immunodeficiency virus (HIV) and matched HIV-negative controls in Brazil. **Infectious agents and cancer**, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2020.
- 19- HERNÁNDEZ-ROSAS, Fabiola et al. The heterogeneity of Human Papilloma Virus genotypes in the oropharyngeal cavity, anus, and urogenital sites. **The new microbiologica**, v. 45, n. 1, p. 73-81, 2022.
- 20- BADIAL, Rodolfo Miglioli et al. Detection and genotyping of human papillomavirus (HPV) in HIV-infected women and its relationship with HPV/HIV Co-infection. **Medicine**, v. 97, n. 14, 2018.
- 21- HEARD, I. et al. Characteristics of HPV infection over time in European women who are HIV-1 positive. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 120, n. 1, p. 41-49, 2013.
- 22- CAMARGO, Milena et al. Human papillomavirus detection in women with and without human immunodeficiency virus infection in Colombia. **BMC cancer**, v. 14, n. 1, p. 1-10, 2014.
- 23- GRINSZTEJN, Beatriz et al. Factors associated with increased prevalence of human papillomavirus infection in a cohort of HIV-infected Brazilian women. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 72-80, 2009.
- 24- MBUYA, Wilbert et al. Depletion and activation of mucosal CD4 T cells in HIV infected women with HPV-associated lesions of the cervix uteri. **Plos one**, v. 15, n. 10, p. e0240154, 2020.

- 25- KAUFMAN, Elaina et al. “Identifying risk factors for prevalent anal human papillomavirus type 16 infection in women living with HIV.” *PloS one* vol. 17, 5 e0268521. 19 May. 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0268521
- 26- DENNY, Lynette et al. Human papillomavirus infection and cervical disease in Human Immunodeficiency Virus-1–infected women. *Obstetrics & Gynecology*, v. 111, n. 6, p. 1380-1387, 2008.
- 27- SRINIVASULA, Sharat et al. Differential effects of HIV viral load and CD4 count on proliferation of naive and memory CD4 and CD8 T lymphocytes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, v. 118, n. 2, p. 262-270, 2011.
- 28- MONDATORE, Debora et al. Persistence of High Percentage of Peripheral Activated CD8+ T Cells Predict Cytologic HPV-Related Dysplasia in cART-Treated, HIV-Positive Subjects. In: *Open forum infectious diseases*. US: Oxford University Press, 2022. p. ofac046.
- 29- PERDOMO-CELIS, Federico et al. An altered cytotoxic program of CD8+ T-cells in HIV-infected patients despite HAART-induced viral suppression. *PLoS One*, v. 14, n. 1, p. e0210540, 2019.
- 30- BRITO, Maria José et al. CD4+ and CD8+ cell populations in HIV-positive women with cervical squamous intra-epithelial lesions and squamous cell carcinoma. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 103, p. 370-377, 2021.
- 31- SURESH, Alka et al. Prevalence of high-risk HPV and its genotypes—Implications in the choice of prophylactic HPV vaccine. *Journal of Medical Virology*, v. 93, n. 8, p. 5188-5192, 2021.
- 32 - BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico - Aids e DST**. Ano V, no 1, 27a a 53a semanas epidemiológicas, julho a dezembro de 2015. Ano V, no 1, 01a a 26a, semanas epidemiológicas, janeiro a junho de 2016. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

## **5 CONCLUSÃO DA DISSERTAÇÃO**

Neste estudo foi possível verificar elevada prevalência de infecção por HPV em mulheres soropositivas para HIV no sítio cervical e anal. Os genótipos HPV6 (baixo risco), bem como HPV59 e HPV16 (alto risco) foram mais prevalentes na população de estudo. Além disso, observou-se que a carga viral em pacientes com coinfeção para HPV e HIV foi inferior a 75 cópias/ml e não houve diferença na contagem de linfócitos CD4, CD8 e na relação CD4/CD8 entre os grupos.

Estes dados podem fornecer valiosas informações acerca da coinfeção HIV-HPV no estado do Maranhão, onde programas relacionados à prevenção e manejo da infecção por HPV em mulheres soropositivas para HIV ainda são escassos. Portanto, a detecção precoce da infecção pelo HPV é essencial para que medidas terapêuticas mais eficazes sejam realizadas a fim de direcionar estratégias de prevenção, criação e implementação de novas políticas de rastreio para o monitoramento desta população de risco.

## 6 REFERÊNCIAS DA DISSERTAÇÃO

ADLER, David H. et al. Increased regression and decreased incidence of human papillomavirus-related cervical lesions among HIV-infected women on HAART. **AIDS (London, England)**, v. 26, n. 13, p. 1645, 2012.

ARMSTRONG, Edward P. Prophylaxis of cervical cancer and related cervical disease: a review of the cost-effectiveness of vaccination against oncogenic HPV types. **Journal of managed care pharmacy**, v. 16, n. 3, p. 217-230, 2010.

BADIAL, Rodolfo Miglioli et al. Detection and genotyping of human papillomavirus (HPV) in HIV-infected women and its relationship with HPV/HIV Co-infection. **Medicine**, v. 97, n. 14, 2018.

BOGALE, Agajie Likie et al. Molecular epidemiology of human papillomavirus among HIV infected women in developing countries: systematic review and meta-analysis. **Virology Journal**, v. 17, n. 1, p. 1-15, 2020.

BONILHA, Jane Lopes et al. Incidência de HPV em colo do útero de gestantes HIV positivas atendidas no Hospital de Base de São José do Rio Preto, SP. **Einstein (São Paulo)**, v. 7, n. 3, p. 334-40, 2009.

BRASIL. Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecção pelo HPV (POP-BRASIL) - 2015-2017 / Associação Hospitalar Moinhos de Vento. – Porto Alegre, 2020. 89 p.

BRASIL. Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV em adultos e crianças. 2017a. disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2017/dezembro/27/Manual-Tecnico-para-o-Diagnostico-da-Infeccao-pelo-HIV---Revisao-2017--4-edicao-30102017---Consulta-publica.pdf>. Acessado em: 9 de novembro de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST/Aids. Aids: **Boletim Epidemiológico**. Semana Epidemiológica 27º a 53º, jul/2017 a jun/2018. 2018.

BRINGEL, Kamilla Azevedo; BRINGEL, Karina Maria Azevedo; DOS SANTOS BARROS, Cláudia Renata. Fatores associados à infecção pelo HPV entre mulheres vivendo com HIV. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 4, p. 17802-17819, 2021.

BRITO, Maria José et al. CD4+ and CD8+ cell populations in HIV-positive women with cervical squamous intra-epithelial lesions and squamous cell carcinoma. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 103, p. 370-377, 2021.

CÂMARA, G. N. N. L. et al. Os papilomavírus humanos–HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 149-158, 2008.

CAMARGO, Milena et al. Human papillomavirus detection in women with and without human immunodeficiency virus infection in Colombia. **BMC cancer**, v. 14, n. 1, p. 1-10, 2014.

CENTURIONI, Maria G. et al. Prevalence of human papillomavirus cervical infection in an Italian asymptomatic population. **BMC Infectious diseases**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2005.

CHATURVEDI, Anil K. et al. Risk of human papillomavirus–associated cancers among persons with AIDS. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 101, n. 16, p. 1120-1130, 2009.

CHELIMO, Carol et al. Risk factors for and prevention of human papillomaviruses (HPV), genital warts and cervical cancer. **Journal of Infection**, v. 66, n. 3, p. 207-217, 2013.

CICERON, Annie Coriolan et al. HPV knowledge, screening barriers and facilitators, and sources of health information among women living with HIV: perspectives from the DC community during the COVID-19 pandemic. **BMC Women's Health**, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2022.

CLIFFORD, Gary M. et al. Effect of HIV infection on human papillomavirus types causing invasive cervical cancer in Africa. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 73, n. 3, p. 332, 2016.

COELHO, Antonio Victor Campos et al. HIV-1 mother-to-child transmission in Brazil (1994-2016): a time series modeling. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 23, p. 218-223, 2019.

COLPANI, Veronica et al. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 15, n. 2, p. e0229154, 2020.

CRUZ, K. O. Perfil epidemiológico de HIV/AIDS na região metropolitana do Cariri cearense: estudo comparativo. **Revista e ciência**, v. 4, p. 53-62, 2016.

DA SILVA, Brenda Evelin Barreto et al. Prevalence of human papillomavirus infection in Brazilian women living with HIV: a systematic review and meta-analysis. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 20, n. 4, p. 611-620, 2022.

DENNY, Lynette et al. Human papillomavirus infection and cervical disease in Human Immunodeficiency Virus-1–infected women. **Obstetrics & Gynecology**, v. 111, n. 6, p. 1380-1387, 2008.

DOORBAR, John et al. Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Reviews in medical virology**, v. 25, p. 2-23, 2015.

DOORBAR, John et al. The biology and life cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, p. F55-F70, 2012.

EGAWA, Nagayasu; DOORBAR, John. The low-risk papillomaviruses. **Virus research**, v. 231, p. 119-127, 2017.

ENGELS, Eric A. et al. Trends in cancer risk among people with AIDS in the United States 1980–2002. **Aids**, v. 20, n. 12, p. 1645-1654, 2006.

FANALES-BELASIO, Emanuele et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 46, p. 5-14, 2010.

FLORES-DÍAZ, Ema et al. HPV-6 molecular variants association with the development of genital warts in men: The HIM Study. **The Journal of infectious diseases**, v. 215, n. 4, p. 559-565, 2017.

Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M, et al. Carga global do papilomavírus humano e doenças relacionadas. *Vacina* PMID: 23199955. 2012. 20 de novembro; 30 (Supl. 5): F12-23. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.07.055.

FRISCH, Morten; BIGGAR, Robert J.; GOEDERT, James J. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. **Journal of the national cancer institute**, v. 92, n. 18, p. 1500-1510, 2000.

GANGULY, Niladri; PARIHAR, Suraj P. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. **Journal of biosciences**, v. 34, n. 1, p. 113-123, 2009.

GRASSI, Vera Mileide Trivellato et al. Análise da infecção por Chlamydia trachomatis e fatores associados em mulheres portadoras do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e alto índice de coinfeção por Papilomavírus humano (HPV) no Maranhão Analysis of Chlamydia trachomatis infection and associated factors in. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 54921-54934, 2021.

GRAVITT, P. E. et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol*, v. 38, n. 1, p. 357-61, Jan 2000. ISSN 0095-1137.

GRINSZTEJN, Beatriz et al. Factors associated with increased prevalence of human papillomavirus infection in a cohort of HIV-infected Brazilian women. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 72-80, 2009.

HEARD, I. et al. Characteristics of HPV infection over time in European women who are HIV-1 positive. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 120, n. 1, p. 41-49, 2013.

HERNÁNDEZ-ROSAS, Fabiola et al. The heterogeneity of Human Papilloma Virus genotypes in the oropharyngeal cavity, anus, and urogenital sites. **The new microbiologica**, v. 45, n. 1, p. 73-81, 2022.

HONG, Shiyuan; LAIMINS, Laimonis A. Manipulation of the innate immune response by human papillomaviruses. **Virus research**, v. 231, p. 34-40, 2017.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Estimativa 2016. Incidência de Câncer no Brasil. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/campanhas/dia-nacional-de-combate-ao-cancer/2015/estimativa-2016-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em 28 abril de 2022.

- KAUFMAN, Elaina et al. "Identifying risk factors for prevalent anal human papillomavirus type 16 infection in women living with HIV." *PloS one* vol. 17, 5 e0268521. 19 May. 2022, doi: 10.1371/journal.pone.0268521
- KURY, Miguel Haddad Charbell et al. Human papillomavirus prevalence, genomic diversity and related risk factors in HIV-positive women from a countryside city in the state of Rio de Janeiro. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, v. 17, n. 3, p. 838-844, 2021.
- LETO, MGP, et al. Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 86, n. 2, p. 306-317, 2011.
- LEVI, J. E. et al. High presence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in Human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 40, n. 9, p. 3341-3345, 2002.
- LI, Siying et al. Ubiquitination of the HPV oncoprotein E6 is critical for E6/E6AP-mediated p53 degradation. *Frontiers in microbiology*, v. 10, p. 2483, 2019.
- LIU, Gui et al. HIV-positive women have higher risk of human papilloma virus infection, precancerous lesions, and cervical cancer. *Aids*, v. 32, n. 6, p. 795-808, 2018.
- MARTINS, Albert Eduardo Silva et al. Prevalence of human papillomavirus infection, distribution of viral types and risk factors in cervical samples from human immunodeficiency virus-positive women attending three human immunodeficiency virus-acquired immune deficiency syndrome reference centers in northeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 109, p. 738-747, 2014.
- MBULAITEYE, Sam M. et al. Spectrum of cancers among HIV-infected persons in Africa: the Uganda AIDS-Cancer Registry Match Study. *International Journal of Cancer*, v. 118, n. 4, p. 985-990, 2006.
- MBULAWA, Zizipho ZA; COETZEE, David; WILLIAMSON, Anna-Lise. Human papillomavirus prevalence in South African women and men according to age and human immunodeficiency virus status. *BMC infectious diseases*, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2015.
- MBUYA, Wilbert et al. Depletion and activation of mucosal CD4 T cells in HIV infected women with HPV-associated lesions of the cervix uteri. *Plos one*, v. 15, n. 10, p. e0240154, 2020.
- MENEZES, Ana Maria Fernandes et al. Perfil epidemiológico das pessoas soropositivas para HIV/AIDS. *Revista de Enfermagem UFPE on line*, v. 12, n. 5, p. 1225-1232, 2018.
- MILANÉS-GUISADO, Yusnelkis et al. Absolute CD4+ T cell count overstate immune recovery assessed by CD4+/CD8+ ratio in HIV-infected patients on treatment. *PloS one*, v. 13, n. 10, p. e0205777, 2018.

MIRANDA, Angelica E. et al. High-risk papillomavirus infection among women living with human Immunodeficiency virus: Brazilian multicentric study. **Journal of medical virology**, v. 89, n. 12, p. 2217-2223, 2017.

MONDATORE, Debora et al. Persistence of High Percentage of Peripheral Activated CD8+ T Cells Predict Cytologic HPV-Related Dysplasia in cART-Treated, HIV-Positive Subjects. In: **Open forum infectious diseases**. US: Oxford University Press, 2022. p. ofac046.

MONTEIRO, Jacqueline Cortinhas et al. Prevalence of high risk HPV in HIV-infected women from Belém, Pará, Amazon region of Brazil: a cross-sectional study. **Frontiers in Public Health**, v. 9, 2021.

PARANÁ, Victoria C. et al. Anal and cervical human papillomavirus genotypes in women co-infected with human immunodeficiency virus: A systematic review. **International journal of STD & AIDS**, v. 33, n. 6, p. 530-543, 2022.

PERDOMO-CELIS, Federico et al. An altered cytotoxic program of CD8+ T-cells in HIV-infected patients despite HAART-induced viral suppression. **PLoS One**, v. 14, n. 1, p. e0210540, 2019.

RODRIGUES, B. G. et al. Infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres portadoras de HIV/AIDS. **Enfermería Global**, v. 15, n. 4, p. 1-36, 2016.

ROMAN, Benjamin R.; ARAGONES, Abraham. Epidemiology and incidence of HPV-related cancers of the head and neck. **Journal of Surgical Oncology**, v. 124, n. 6, p. 920-922, 2021.

SABEENA, Sasidharanpillai et al. Possible non-sexual modes of transmission of human papilloma virus. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 43, n. 3, p. 429-435, 2017.

SANTOS NS, et al. *Virologia Humana*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda, 2021; 760p.

SCHIFFMAN, M. *et al.* Classification of weakly human papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline. **Infect Ag Cancer**4:8, 2009.

SERRANO, Beatriz et al. Epidemiology and burden of HPV-related disease. **Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology**, v. 47, p. 14-26, 2018.

SHIELS, Meredith S. et al. A meta-analysis of the incidence of non-AIDS cancers in HIV-infected individuals. **Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)**, v. 52, n. 5, p. 611, 2009.

SILVERBERG, Michael J. et al. Risk of anal cancer in HIV-infected and HIV-uninfected individuals in North America. **Clinical infectious diseases**, v. 54, n. 7, p. 1026-1034, 2012.

SPURGEON, Megan E.; LAMBERT, Paul F. Human papillomavirus and the stroma: bidirectional crosstalk during the virus life cycle and carcinogenesis. **Viruses**, v. 9, n. 8, p. 219, 2017.

SRINIVASULA, Sharat et al. Differential effects of HIV viral load and CD4 count on proliferation of naive and memory CD4 and CD8 T lymphocytes. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 118, n. 2, p. 262-270, 2011.

SUEHIRO, Tamy Taianne et al. Cervical and oral human papillomavirus infection in women living with human immunodeficiency virus (HIV) and matched HIV-negative controls in Brazil. **Infectious agents and cancer**, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2020.

SURESH, Alka et al. Prevalence of high-risk HPV and its genotypes—Implications in the choice of prophylactic HPV vaccine. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n. 8, p. 5188-5192, 2021.

SZYMONOWICZ, Klaudia Anna; CHEN, Junjie. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. **Cancer biology & medicine**, v. 17, n. 4, p. 864, 2020.

TEIXEIRA, Monique Figueiredo et al. High risk human papillomavirus prevalence and genotype distribution among women infected with HIV in Manaus, Amazonas. **Virology journal**, v. 15, n. 1, p. 1-12, 2018.

TORRES-POVEDA, KIRVIS et al. High-risk HPV infection prevalence and associated cofactors: a population-based study in female ISSSTE beneficiaries attending the HPV screening and early detection of cervical cancer program. **BMC cancer**, v. 19, n. 1, p. 1-12, 2019.

VERRIER, Florian; LE COEUR, Sophie; DELORY, Tristan. Cervical Human Papillomavirus Infection (HPV) and High Oncogenic Risk Genotypes among Women Living with HIV in Asia: A Meta-Analysis. **Journal of clinical medicine**, v. 10, n. 9, p. 1911, 2021.

VILLA, L.L. Human papillomavirus and cervical cancer. *Adv Cancer Res.* 71: 321-41, 1997.

WHITHAM, Hilary K. et al. A Comparison of the Natural History of HPV Infection and Cervical Abnormalities among HIV-Positive and HIV-Negative Women in Senegal, Africa The Impact of HIV on the Natural History of HPV. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 26, n. 6, p. 886-894, 2017.

WOODMAN, Ciaran BJ; COLLINS, Stuart I.; YOUNG, Lawrence S. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, n. 1, p. 11-22, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). ICO. Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). Human papillomavirus and related cancers in world. Summary Report 2016. Geneva: WHO; 2016. [Cited 2017 July 3]. Available from: [http://betterhealthcareforafrica.org/blog/wp-content/uploads/2017/01/WHO\\_ICO\\_Report\\_HPВ\\_ZW2016.pdf](http://betterhealthcareforafrica.org/blog/wp-content/uploads/2017/01/WHO_ICO_Report_HPВ_ZW2016.pdf).

ZBAR, A. *et al.* The pathology and molecular biology of anal intraepithelial neoplasia: comparisons with cervical and vulvar intraepithelial carcinoma. **International journal of colorectal disease**, [s. l.], v. 17, n. 4, p. 203-215, 2002.

ZIZZA, Antonella *et al.* Efficacy and safety of human papillomavirus vaccination in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021.

ZUR HAUSEN, Harald. Immortalization of human cells and their malignant conversion by high-risk human papillomavirus genotypes. In: **Seminars in cancer biology**. Academic Press, 1999. p. 405-411.

ZUR HAUSEN, Harald. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. **Nature reviews cancer**, v. 2, n. 5, p. 342-350, 2002.





Q35. Se sim, quantas vezes? |\_|\_|\_|

Q36. Quem foi a pessoa?

1. Alguém de sua família, um adulto      2. Alguém de sua família, um jovem  
3. Um conhecido                              4. Um desconhecido                              5. Várias pessoas.

Q37. Você já engravidou?

1. Nunca                      2. Uma vez                      3. Várias vezes                      4. Não se aplica

Q38. Se sim, qual era sua idade na primeira gravidez? |\_|\_| anos

Q39. Número: Filhos ( )                      Abortos espontâneos ( )                      Abortos provocados ( )

Q40. Você está grávida?

1. Sim                      2. Não                      3. Não se aplica

#### V-SAÚDE, DST E AIDS

Q41. Qual foi a última vez que você fez exame ginecológico (preventivo)? |\_|\_| meses

Q42. Você sabe dizer se você já teve alguma doença transmitida sexualmente?

1. Sim                      2. Não

Q43. Se sim para Q42, qual? \_\_\_\_\_

Q44. Como você descobriu essa doença/infecção?

1. Seu parceiro lhe disse que estava infectado  
2. Você apresentou sintomas que a levaram procurar um serviço de saúde  
3. Durante uma consulta de rotina ou por outro motivo

Q45. Na ocasião dessa doença você procurou?

1. Ninguém                      2. Um médico/ Unidade do PSF                      3. Uma farmácia  
4. Serviço de DST

Q46. Você avisou a seu parceiro que você tinha uma DST?

1. Sim                      2. Não

Q47. Após o diagnóstico da DST você utilizou mais frequentemente o preservativo?

1. Sim                      2. Não

Q48. Após o diagnóstico da DST você reduziu sua atividade sexual? 1. Sim      2. Não

Q49. Você saberia dizer se seu parceiro:

1. Tem outras parceiras      2. Usa drogas                      3. Já esteve preso  
4. História de IST                      5. É HIV positivo

Q50. Em que momento você fez o teste anti-HIV?

1. Por iniciativa própria      2. Durante uma hospitalização                      3. Durante o pré-natal  
4. Durante atendimento em clínica DST                      5. Em outras circunstâncias

Q51. Você tem algum dos seguintes sintomas?

- |                  |   |                      |
|------------------|---|----------------------|
| 1.Dor pélvica    | 2.Sangramentos genitais frequentes        | 3. Coceiras          |
| 4.Corrimentos    | 5.Adenopatia inguinal (ínguas na virilha) | 6.Ardência ao urinar |
| 7.Ferida genital | 8.Verruga                                 | 9.Outras: _____      |

## ANEXO A

## ANEXO A – NORMAS DA REVISTA

# Jornal de Microbiologia, Imunologia e Infecção

## Guide for Authors

### Aims and scope

Journal of Microbiology, Immunology and Infection, launched in 1968, is the official bi-monthly publication of the Taiwan Society of Microbiology, the Chinese Society of Immunology, the Infectious Diseases Society of Taiwan and the Taiwan Society of Parasitology.

The journal is an open access journal, committed to disseminating information on the latest trends and advances in microbiology, immunology, infectious diseases and parasitology. Articles on clinical or laboratory investigations of relevance to microbiology, immunology, infectious diseases, parasitology and other related fields that are of interest to the medical profession are eligible for consideration. Article types considered include perspectives, review articles, original articles, short communication and correspondence.

The Editorial Board of the Journal comprises a dedicated team of local and international experts in the field of microbiology, immunology, infectious diseases and parasitology. All members of the Editorial Board actively guide and set the direction of the journal. With the aim of promoting effective and accurate scientific information, an expert panel of referees constitutes the backbone of the peer-review process in evaluating the quality and content of manuscripts submitted for publication.

JMII is open access and indexed in SCIE, PubMed, MEDLINE, EMBASE, Scopus, AIDS & Cancer Research, CABI, BIOSIS Previews, Biological Abstracts, EBSCOhost, and Cancer Lit, Reactions Weekly (online), Chemical Abstracts, Health STAR, Global Health, and ProQuest.

The Editorial Board requires authors to be in compliance with the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (URMs); current URMs are available at <http://www.icmje.org>.

## Types of article

### 1. Perspectives

These are comments on recent news or groundbreaking work and should provide a short review of the current state of research and explain the importance of the new findings. Perspectives on papers previously published in the JMII should add a different viewpoint to the research and should not merely be a repetitive summary of the original paper. Although many of the Perspectives published in the Journal are normally invited, unsolicited Perspectives are welcome and will be given due consideration. As these are meant to express a personal commentary, with rare exceptions, Perspectives should have no more than 3 authors.

#### Format guide:

- Word limit: 1000 words (excluding the abstract and references).
- References: 10 or less.
- Tables/Figures: 1 table or figure.

### 2. Review Articles

These should aim to provide the reader with a balanced overview of an important and topical subject in the field, and should be systematic and critical assessments of literature and data sources. They should cover aspects of a topic in which scientific consensus exists as well as aspects that remain controversial and are the subject of ongoing scientific research. All articles and data sources reviewed should include information about the specific type of study or analysis, population, intervention, exposure, and tests or outcomes. All articles or data sources should be selected systematically for inclusion in the review and critically evaluated. We welcome viewpoints that present the opinions of the authors rather than new experimental data or literature reviews.

Format guide:

- Word limit: 3500 words (excluding the abstract and references).
- References: 50 or less.
- Abstract: Up to 250 words, unstructured.
- Tables/Figures: Data in the text should not be repeated extensively in tables or figures.

### 3. Original Articles

These articles typically include randomized trials, intervention studies, studies of screening and diagnostic tests, laboratory and animal studies, cohort studies, cost-effectiveness analyses, case-control studies, and surveys with high response rates, which represent new and significant contributions to the field.

Section headings should be Abstract, Introduction, Methods, Results, Discussion, Conflicts of Interest Statement (if any), Acknowledgments (if any) and References. The Introduction should provide a brief background to the subject of the paper, explain the importance of the study, and state a precise study question or purpose.

The Methods section should describe the study design and methods (including the study setting and dates, patients/participants with inclusion and exclusion criteria, or data sources and how these were selected for the study, patient samples or animal specimens used, explain the laboratory methods followed), and state the statistical procedures employed in the research.

The Results section should comprise the study results presented in a logical sequence, supplemented by tables and/or figures. Take care that the text does not repeat data that presented in tables and/or figures. Only emphasize and summarize the essential features of any interventions, the main outcome measures, and the main results.

The Discussion section should use to emphasize the new and important aspects of the study, placing the results in context with published literature, the implications of the findings, and the conclusions that follow from the study results.

Format guide:

- Word limit: 3000 words (excluding the abstract and references).
- References: 40 or less.
- Abstract: Up to 250 words, structured.
- Tables/Figures: Data in the text should not be repeated extensively in tables or figures.

#### 4. Short Communications

Short Communications should present unusual aspects of common problems or novel perspectives upon, or solutions to, clinically relevant issues.

Format guide:

- Word limit: 1500 words (excluding the abstract and references).
- References: 10 or less.
- Abstract: Up to 50 words, unstructured format
- Tables/Figures: 1 table and figure.

#### 5. Correspondence

Correspondences include letter to Editor, and comments that respond to a recently published article in JMII or address an issue of interest to JMII readers. Replies will be published in the same issue as the letter, and invited at the discretion of the Editor.

Format guide:

- Word limit: 500 words.
- Tables/Figures: 1 figure or table.
- References: 5 or less.
- No subheadings.
- Begin with 'Dear Editor'.

## Editorial Office

Journal of Microbiology, Immunology and Infection

Department of Laboratory Medicine, National Taiwan University Hospital No. 7,  
Zhongshan S. Road, Zhongzheng District

Taipei City 100, Taiwan (R.O.C.) Tel: 886-2-23123456 ext 65396

Fax: 886-2-23955072

E-mail: [jmiieditorialoffice@gmail.com](mailto:jmiieditorialoffice@gmail.com)

## Basic Criteria

Articles should be written in English (using American English spelling) and meet the following basic criteria: the material is original, the information is important, the writing is clear and concise, the study methods are appropriate, the data are valid, and the conclusions are reasonable and supported by the data.

## Manuscript Submission Online submission

Authors may submit manuscripts to EES at <http://ees.elsevier.com/jmii/>.

If assistance needed, the Editorial Office can be contacted for any help necessary.

## Important Information

- The corresponding author will be notified by the editorial office when the manuscript is accepted and sent to the Publisher. The corresponding author will receive a PDF proof by e-mail from the Publisher within the next 2 months. JMII reserves the right to rescind our provisional decision of acceptance if no response is received from the author by the date given by the Publisher.
- Articles submitted should be in Microsoft Word document format and prepared in the simplest form possible. We will add in the correct font, font size, margins and so on according to the journal's style.
- You may use automatic page numbering, but do NOT use other kinds of automatic formatting such as footnotes, endnotes, headers and footers.
- Put text, references, and table/figure legends in one file.

- Figures must be submitted as separate picture files, at the correct resolution of a minimum of 600 dpi. The files should be named according to the figure number and format, e.g. "Fig1.tif", "Fig2.jpg".

Please ensure that the following documents are included (refer also to the checklist that follows these author instructions):

- (1) A cover letter. It must include your name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address (both of the first author and corresponding author), and state that the manuscript has never been submitted, in whole or in part, to other journals. Your signature and those of ALL your coauthors must be included.
- (2) An authorship and conflicts of interest statement. Each author's contribution to the manuscript should be listed. Any and all potential and actual conflicts of interest should also be listed (see relevant section below for more information). Please use the JMII Authorship and Conflicts of Interest Statement form that follows these author instructions. The corresponding author must sign on behalf of all the listed authors in the manuscript.
- (3) A copyright transfer agreement. In the event that your manuscript is accepted for publication in the JMII, you are required to transfer all copyright ownership in and relating to the work to the Taiwan Society of Microbiology. Please use the JMII Copyright Transfer Agreement form that follows these author instructions. The corresponding author must sign on behalf of all the listed authors in the manuscript.
- (4) An ethics statement. A letter of approval must accompany articles covering the use of human or animal samples in research, or human or animal experiments from the relevant review committee or authorities (see relevant section below).
- (5) Articles where human subjects can be identified in descriptions, a signed statement of informed consent to publish (in print and online) the descriptions, photographs, must accompany photographs or pedigrees and pedigrees from each subject who can be identified (see relevant section below).
- (6) Copyright permission. If you have reproduced or adapted material from other copyrighted sources, the letter(s) of permission from the copyright holder(s) to reproduce or adapt the copyrighted sources must be supplied. Otherwise, such material must be removed from your manuscript.

## Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

## Studies in humans and animals

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms sex and gender should use correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines were followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

## Disclosure of Conflicts of Interest

A conflict of interest occurs when an individual's objectivity is potentially compromised by a desire for financial gain, prominence, professional advancement or a successful outcome. JMII Editors strive to ensure that what is published in the Journal is as balanced, objective and evidence-based as possible. Since it can be difficult to distinguish between an actual conflict of interest and a perceived conflict of interest, the Journal requires authors to disclose all and any potential conflicts of interest.

Conflicts of interest may be financial or non-financial. Financial conflicts include financial relationships such as honoraria; educational grants; participation in speakers bureaus; membership, employment, consultancies, stock ownership, or other equity interest; expert testimony or patent-licensing arrangements. Non-financial conflicts include personal or professional relationships, affiliations, academic competition, intellectual passion, knowledge or beliefs that might affect objectivity.

Please ensure that any conflicts of interest and sources of funding fully declared on page 2 of the JMII Authorship and Conflicts of Interest Statement form.

#### Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. a summary declaration of interest statement in the title page file (if double blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

#### Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-

holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

#### Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing, which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

#### Changes to authorship

Authors expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

#### Reporting clinical trials

Randomized controlled trials should be presented according to the CONSORT guidelines. At manuscript submission, authors must provide the CONSORT checklist accompanied by a flow diagram that illustrates the progress of patients through the trial, including recruitment, enrollment, randomization, withdrawal and completion, and a detailed

description of the randomization procedure. The CONSORT checklist and template flow diagram are available online.

#### Registration of clinical trials

Registration in a public trials registry is a condition for publication of clinical trials in this journal in accordance with International Committee of Medical Journal Editors recommendations. Trials must register at or before the onset of patient enrolment. The clinical trial registration number should be included at the end of the abstract of the article. A clinical trial is defined as any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects of health outcomes. Health-related interventions include any intervention used to modify a biomedical or health-related outcome (for example drugs, surgical procedures, devices, behavioural treatments, dietary interventions, and process-of-care changes). Health outcomes include any biomedical or health-related measures obtained in patients or participants, including pharmacokinetic measures and adverse events. Purely observational studies (those in which the assignment of the medical intervention is not at the discretion of the investigator) will not require registration.

#### Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

#### Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

The JMII is the official peer-reviewed publication of the Taiwan Society of Microbiology. Manuscripts published in the JMII become the permanent property of the Taiwan Society of Microbiology. All articles published in the Journal are protected by copyright, which covers the exclusive rights to reproduce and distribute the article, as well as translation rights. No JMII article, in part or whole, may be reproduced, stored in any retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, by

photocopying, recording, or otherwise, without prior written permission from the Taiwan Society of Microbiology.

#### Open Access

All articles will be available Open Access on ScienceDirect. Permitted (re)use is that outlined by the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND) license, which states that for non-commercial purposes, others may distribute and copy the article, and include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

This is an open access journal: all articles will be immediately and permanently free for everyone to read and download. To provide open access, this journal has an open access fee (also known as an article publishing charge APC) which needs to be paid by the authors or on their behalf e.g. by their research funder or institution. Permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

#### Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

#### Open access

Please visit our Open Access page from the Journal Homepage for more information.

The open access fee for this journal is Original article - USD\$1,000 for members, and USD \$1,350 for non-members; Short Communications - USD\$800; Review articles - USD\$1,500; excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy.

#### Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

### Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's Author Services.

### Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/jmii/>.

### Manuscript Preparation

Text should be typed double-spaced on one side of white A4 (297 × 210 mm) paper, with outer margins of 2.5 cm. A manuscript should include a title page, abstract, text, conflicts of interest statement (if any), acknowledgments (if any), references, and figures and tables as appropriate. Each section of the manuscript should begin on a new page. Pages should be numbered consecutively, beginning with the title page.

### Title Page

The title page should contain the following information (in order, from the top to bottom of the page):

- category of paper
- article title
- names (spelled out in full) of all authors\*, and the institutions with which they are affiliated
- running title not exceeding 50 characters
- corresponding author details (name, e-mail, mailing address, telephone and fax numbers)

\*The name of each author should be written with the family name last, e.g. Jing-Long Huang. Authorship is restricted only to direct participants who have contributed significantly to the work.

## Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions are typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. More information on types of peer review.

## The Editorial and Peer Review Process

As a general rule, the receipt of a manuscript will be acknowledged within 2 weeks of submission, and authors will be provided with a manuscript reference number for future correspondence. If such an acknowledgment is not received in a reasonable period of time, the author should contact the Editorial Office.

Manuscripts are reviewed by the Editorial Office to ensure that the submission contains all parts. The Editorial Office will not accept a submission if the author has not supplied all parts of the manuscript as outlined in this document.

Manuscripts are then forwarded to the Editor-in-Chief, who makes an initial assessment of it. If the manuscript does not appear to be of sufficient merit or is not appropriate for the Journal, then the manuscript will be rejected without review. Rejected manuscripts will not be returned to authors unless requested.

Manuscripts that appear meritorious and appropriate for the Journal are reviewed by at least two Editorial Board members or expert consultants assigned by the Editor-in-Chief. Authors will usually be notified within 10 weeks of whether the submitted article is accepted for publication, rejected, or subject to revision before acceptance. However, do note that delays are sometimes unavoidable.

## Article structure Main Text

The text for Original Articles should be organized in sections as follows: Introduction, Methods, Results, and Discussion. Sections for Case Reports are: Introduction, Case Report, and Discussion. Each section should begin on a new page.

## Abbreviation

Where a term/definition will be continually referred to, it must be written in full when it first appears in the text, followed by the subsequent abbreviation in parentheses.

Thereafter, the abbreviation may be used. An abbreviation should not be first defined in any section heading; if an abbreviation has previously been defined in the text, then the abbreviation may be used in a subsequent section heading. Restrict the number of abbreviations to those that are absolutely necessary and ensure consistency of abbreviations throughout the article.

#### Numbers

Numbers that begin a sentence or those that are less than 10 should be spelled out using letters. Centuries and decades should be spelled out, e.g., the Eighties or nineteenth century . Laboratory parameters, time, temperature, length, area, mass, and volume should be expressed using digits.

#### Units

Système International (SI) units must be used, with the exception of blood pressure values which are to be reported in mmHg. Please use the metric system for the expression of length, area, mass, and volume. Temperatures are to be given in degrees Celsius.

#### Names of Drugs, Devices and Other Products

Use the Recommended International Non-proprietary Name (rINN) for medicinal substances, unless the specific trade name of a drug is directly relevant to the discussion. Generic drug names should appear in lowercase letters in the text. If a specific proprietary drug needs to be identified, the brand name may appear only once in the manuscript in parentheses following the generic name the first time the drug is mentioned in the text.

For devices and other products, the specific brand or trade name, the manufacturer and their location (city, state, country) should be provided the first time the device or product is mentioned in the text, for example, KIBM SPSS Statistics 21.0 was used (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Thereafter, the generic term (if appropriate) should be used.

#### Gene nomenclature

Current standard international nomenclature for genes should be adhered to. For human genes, use genetic notation and symbols approved by the HUGO Gene Nomenclature Committee (<http://www.genenames.org>). You may also refer to the resources available on PubMed at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/genes-expression>. The Human

Genome Variation Society has a useful site that provides guidance in naming mutations at <http://www.hgvs.org/mutnomen/index.html>. In your manuscript, genes should be typed in italic font and include the accession number.

### Statistical Requirements

Statistical analysis is essential for all research papers except Case Reports. Use correct nomenclature for statistical methods (e.g., two sample t test, not unpaired t test).

Descriptive statistics should follow the scales used in data description. Inferential statistics are important for interpreting results and should be described in detail. All p values should be presented to the third decimal place for accuracy. The smallest p value that should be expressed is  $p > 0.99$ .

### Personal communications and unpublished data

These sources cannot be included in the references list but may be described in the text. The author(s) must give the full name and highest academic degree of the person, the date of the communication, and indicate whether it was in oral or written (letter, fax, e-mail) form. A signed statement of permission should be included from each person identified as a source of information in a personal communication or as a source for unpublished data.

### Abstracts and Keywords

Abstracts should be no more than 250 words in length. Abstracts for Original Articles should be structured, with the section headings: Background/Purpose(s), Methods, Results, Conclusion. Abstracts for Case Reports are unstructured, but should include the significance and purpose of the case presentation, the diagnostic methods of the case, the key data, and brief comments and suggestions with regard to the case. For all article categories, 3-5 relevant keywords should also be provided in alphabetical order.

### Acknowledgments

After the Conflicts of Interest Statement and/or Funding/Support Statement, general acknowledgments for consultations and statistical analyses should be listed concisely, including the names of the individuals who were directly involved. Consent should be obtained from those individuals before their names are listed in this section. Those

acknowledged should not include secretarial, clerical or technical staff whose participation was limited to the performance of their normal duties.

All financial and material support for the research and work from internal or external agencies, including commercial companies, should be clearly and completely identified. Ensure that any conflicts of interest are explicitly declared.

### Figures

The number of figures should be restricted to the minimum necessary to support the textual material. They should have an informative figure legend and be numbered in the order of their citation in the text. All symbols and abbreviations should be defined in the legend. Items requiring explanatory footnotes should follow the same style as that described for tables.

Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details (such as their name and date of birth) of the patient must be removed. If their face is shown, use a black bar to cover their eyes so that they cannot be identified (for further information, see [www.elsevier.com/patientphotographs](http://www.elsevier.com/patientphotographs)).

All lettering should be done professionally and should be in proportion to the drawing, graph or photograph. Photomicrographs must include an internal scale marker, and the legend should state the type of specimen, original magnification and stain.

Figures must be submitted as separate picture files (ex. TIF, JPG, etc.) at the correct resolution of a minimum of 600 dpi. The files should be named according to the figure number and format, e.g., "Fig1.tif", "Fig2.jpg".

### Tables

Tables should supplement, not duplicate, the text. They should have a concise table heading, be self-explanatory, and numbered consecutively in the order of their citation in the text. Information requiring explanatory footnotes should be denoted using superscripted lowercase letters (a, b, c, etc.), with the footnotes arranged alphabetically by the superscripts. Asterisks (\*, \*\*) are used only to indicate the probability level of tests of significance. Abbreviations used in the table must be defined and placed after the footnotes. If you include a block of data or table from another source, whether published or unpublished, you must acknowledge the original source.

## References

Authors are responsible for the accuracy and completeness of their references and for correct in-text citation.

In the main text, tables, figure legends

- References should be identified using superscripted numbers, and numbered consecutively in order of appearance in the text and placed after punctuation.
- References cited in tables or figure legends should be included in sequence at the point where the table or figure is first mentioned in the main text.
- Do not cite uncompleted work or work that has not yet been accepted for publication (i.e., "unpublished observation", "personal communication") as references.
- Do not cite abstracts unless they are the only available reference to an important concept.

In the references list

- References should be limited to those cited in the text and listed in numerical order, NOT alphabetical order.
- References should include, in order, author names, article title, journal name, year, volume and inclusive page numbers. The last names and initials of all the authors up to 6 should be included, but when authors number 7 or more, list the first 6 authors only followed by "et al".
- Abbreviations for journal names should conform to those used in MEDLINE.
- If citing a website, provide the author information, article title, website address and the date you accessed the information.
- Reference to an article that is in press must state the journal name and, if possible, the year and volume.

Examples of the most common reference types are provided below. (Please pay particular attention to the formatting, word capitalization, spacing and style.)

Reference to a journal publication:

1. Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2000;163:51-59.

Reference to a book:

2. Strunk Jr W, White EB. The elements of style. 3rd ed. New York: Macmillan; 1979.

Reference to a chapter in an edited book

3. Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. Introduction to the electronic age. New York: E- Publishing Inc; 1999, p. 281-304.

### Conflicts of Interest Statement and/or Funding/Support Statement

Since it is difficult to distinguish between an actual conflict of interest and a perceived conflict of interest, the JMII requires authors to disclose all and any potential conflicts of interest and let readers judge for themselves. Therefore, please ensure that you provide information about any potential financial and non-financial conflicts of interest in a concise paragraph after the main text.

All financial and material support for the research, work, writing and editorial assistance from internal or external agencies, including commercial companies, should be clearly and completely identified in a Funding/Support Statement.

### Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-microbiology-immunology-and-infection>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

## Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data page](#).

## Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

## Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity

to upload your relevant datasets directly to Mendeley Data. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

#### Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for Data in Brief as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to Data in Brief where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, Data in Brief. Please note an open access fee of 600 USD is payable for publication in Data in Brief. Full details can be found on the Data in Brief website. Please use this template to write your Data in Brief.

#### Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect.

For more information, visit the [Data Statement page](#).

#### Publication Charges

Starting from 2019, the authors of accepted articles will be required to pay an Article Publishing Charge when their papers are accepted by Journal of Microbiology, Immunology and Infection: Original article - USD\$1,000 for the members of the

Taiwan Society of Microbiology, the Chinese Society of Immunology, the Infectious Diseases Society of Taiwan and the Taiwan Society of Parasitology; USD\$1,350 for non-

members; Short Communications - USD\$800; Review articles - USD\$1,500; Upon acceptance, the author will be asked to pay the Article Publishing Charge.

#### Preparation for Publication

Once a manuscript has been accepted for publication, the authors should submit the final version of their manuscript through Elsevier's online submission system-EES.

Accepted manuscripts are copyedited according to the journal's style and the galley proofs in the form of a PDF file are e-mailed by the Publisher to the corresponding author for final approval. Authors are responsible for all statements made in their work, including changes made by the copy editor.

Please note that the proof corrections are to be returned within 3 days of receipt of the proof. A reminder letter will be sent on the 4th day. If the proof corrections are not returned by the 5th day, then the article will be processed further without any notification.

#### Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

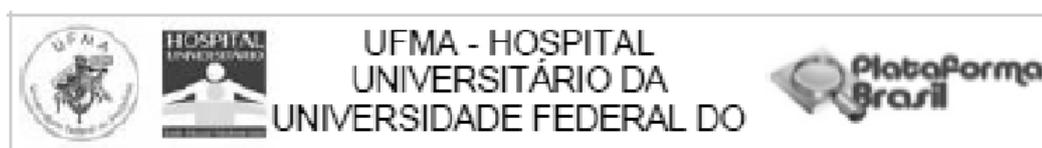
If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the email we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and

correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication.

Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

## ANEXO B



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** PREVALÊNCIA DOS TIPOS DE HPV E VARIANTES DE HPV16 ENCONTRADOS EM ESPÉCIMES ORAIS, CERVICAIS, ANAIS, VULVARES DE UMA POPULAÇÃO SOROPOSITIVA PARA HIV ATENDIDA EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

**Pesquisador:** MARIA JOSE ABIGAIL MENDES ARAUJO

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP:);

**Versão:** 6

**CAAE:** 70989617.4.0000.5086

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

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO MARANHÃO - FAPEMA

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.776.970

**Apresentação do Projeto:**

**Introdução:** Câncer é um conjunto de doenças que tem em comum o crescimento anormal de células causada por várias alterações na expressão gênica, provocando um desequilíbrio entre processos naturais da célula como a replicação e a morte celular. O câncer é uma questão de saúde pública, pois está entre as principais causas de óbitos a nível mundial e é a segunda no Brasil, com tendência de crescimento nos próximos anos. (INCA, 2016; WHO, 2010). Intrigantemente, cerca de um terço dos tipos de câncer poderia ser evitado. Os tipos de câncer fortemente associados a infecção pelo papiloma vírus humano (HPV) vêm ganhando destaque no cenário científico, pois ainda que existam estratégias profiláticas, a cobertura vacinal ainda é recente e de espectro limitado, assim como informações e demais estratégias de prevenção são pouco acessadas o que tem levado ao crescimento das taxas de incidência destas neoplasias, inclusive nos países desenvolvidos. (FERLAY et al, 2012)A taxa global de incidência de câncer associado ao HPV tem ficado em torno de 0-3 casos a cada 100.000 habitantes para vulva, 0-1,5 para vagina, 0-3,7 para pênis, 0,1-2,8 em homens e 0-2,2 em mulheres na região anal, e na região da orofaringe e tonsilas 0,3-21,5 em homens e 0-2,8 em mulheres. As taxas de detecção do genótipo viral nessas neoplasias são de 2-23%, 64-91%, 31-

**Endereço:** Rua Barão de Itapary nº 227

**Bairro:** CENTRO

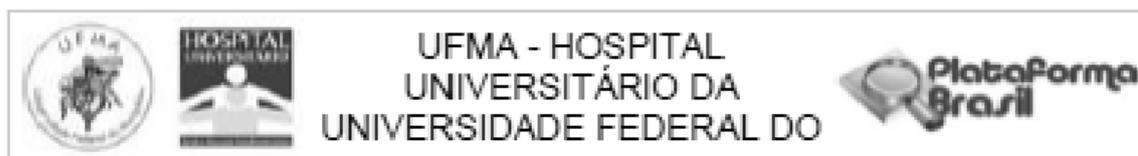
**CEP:** 65.020-070

**UF:** MA

**Município:** SAO LUIS

**Telefone:** (98)2109-1250

**E-mail:** cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.776.970

35%, >80%, 33-72%, respectivamente. (GIULIANO et al., 2008)O HPV é um vírus de transmissão sexual muito comum em indivíduos jovens e sexualmente ativos de ambos os sexos. Embora a infecção pelo HPV seja muito frequente, mas transitória, regredindo espontaneamente na maioria das vezes, a persistência da infecção, especialmente, de tipos virais de alto risco oncogênico, pode levar ao desenvolvimento de lesões precursoras, que se não forem identificadas e tratadas podem progredir para o câncer, não somente no colo do útero, mas também na vagina, vulva, ânus, pênis, orofaringe e boca. O que torna o vírus um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento das neoplasias nestes sítios (CENTURIONI et al., 2005). Outros fatores de risco que participam da progressão da lesão para o câncer estão relacionados ao hospedeiro, como exposição a outras infecções sexualmente transmissíveis (IST), principalmente pelo HIV (TROTIER & FRANCO, 2006; FEDRIZZI et al., 2008; LIMA et al., 2006).É sabido que mulheres soropositivas para o vírus da imunodeficiência humana (HIV), principalmente aquelas com contagens de células CD4 mais baixas, têm maior prevalência de infecção por HPV em comparação com mulheres HIV negativas (LEVI et al., 2002; LIMA et al., 2014 e MADEDDU et al., 2014). Além disso, a imunossupressão causada pelo HIV aumentar a persistência de HPV e o risco de lesões e de câncer no colo do útero e outros sítios, como o ânus e a mucosa oral (BEACHLER et al., 2012; HESSOL et al., 2013; MCDONALD et al., 2014; PARK et al., 2014).Os testes moleculares para detecção do HPV tornaram-se essenciais na aplicação clínica favorecendo: (I) triagem de mulheres com alterações citológicas de baixo grau ou significado indeterminado; (II) acompanhamento de mulheres com resultados anormais na triagem porém negativos na colposcopia/biopsia; (III) prognóstico do resultado terapêutico após o tratamento de Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NICs); (IV) rastreamento primário com teste para detecção de DNA do HPV, isoladamente ou em combinação com Papanicolaou, para detectar precursores do câncer de colo de útero (CUZICK et al., 2008); (V) obter informações sobre a persistência de certos tipos de HPV (PANNIER-STOCKMAN et al., 2008); e (VI) investigações de prevalência regional de genótipos de HPV para avaliar o impacto global da vacinação no futuro (BRUNI et al., 2010). Essas metodologias moleculares permitem a estratificação precoce de pacientes em diferentes categorias de risco para o desenvolvimento de lesões precursoras e câncer, possibilitando que sejam criados protocolos de manejo das pacientes, onde os primeiros casos sejam aplicados um monitoramento para evitar a progressão tumoral e, no segundo, propor tratamentos mais adequados (CENTURIONI et al., 2005). Considerando que o HPV é a IST mais comum em todo

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

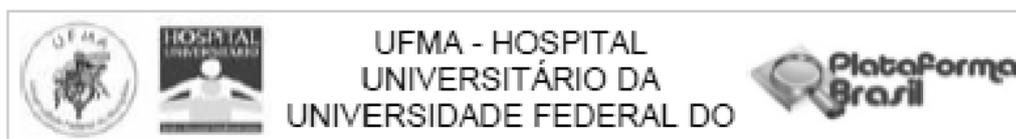
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2100-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.778.970

o mundo, que a infecção persistente por HPV de alto risco no ânus ou colo do útero pode levar ao carcinoma invasivo e que as mulheres infectadas pelo HIV possuem um risco 65.0 5,4 vezes maior de desenvolverem o câncer de colo de útero e 6,8 vezes maior para câncer anal do que as mulheres não infectadas (FRISCH et al., 2000; ZBAR et al., 2002), este estudo pretende caracterizar os tipos de HPV presentes no colo do útero, ânus, vulva e mucosa oral (apenas no grupo de crianças), e descrever as variantes gênicas do HPV16 e o impacto desses achados na população soropositivas e soronegativas para HIV.

Hipótese: trata-se de um estudo descritivo que acredita-se ser ampla a associação da coinfeção de HPV em pacientes soropositivos para HIV.

Metodologia Proposta: Trata-se de um observacional, transversal e retrospectivo com análise do tipo caso controle realizado em espécimes de escovado cervical, vulvar, anal e oral obtidas das populações soropositivas e soronegativas para HIV, atendidas em um Centro de Referência de São Luís, MA, no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2016. Aspectos Éticos. A coleta das amostras biológicas e dos dados será iniciada apenas após a aprovação do projeto e a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE com todos os pacientes e responsáveis para pacientes com idade abaixo de 18 anos que concordaram em participar da pesquisa, em consonância com o que dispõe a Resolução 466/12 do CNS/MS. Sendo a amostra de mulheres adolescentes e adultas admitidas no estudo serão submetidas a um questionário clínico-epidemiológico padronizado coleta de sangue periférico e coleta dos sítios a serem estudados. As amostras serão coletadas a partir de convites a participação - quatro grupos amostrais da população maranhense, levando em consideração o atendimento no Hospital Universitário. O grupo A: composto por mulheres não grávidas soropositivas e soronegativas para HIV. O grupo B: mulheres grávidas soropositivas e soronegativas para o HIV. O grupo C: adolescentes não grávidas soropositivas e soronegativas para HIV. O grupo D com crianças de 0 a 5 anos de idade soropositivas e soronegativas para HIV atendidas pelo SAE. A amostra deste estudo será determinada após o levantamento dos casos com base nos grupos avaliados. Para tanto, estima-se um total de 300 participantes estudados, visto que a média anual de atendimentos é igual a 70 pacientes. Processamento da Amostra: 1. Análise citológica por lâminas retrospectivas do arquivo do hospital. 2. Extração de DNA por Kit. 3. Amplificação e Purificação do

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

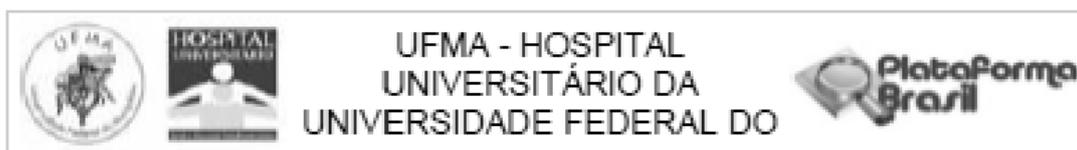
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SÃO LUÍS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.776.970

DNA. 4. Determinação Genotípica - Todos os espécimes positivos para HPV serão submetidos à técnica de RLB para determinação do genótipo viral. RFLP e sequenciamento gênico serão realizados para os casos em que o tipo não foi evidenciado por RLB. 5. Determinação das Variantes - todas as amostras identificadas como HPV16 serão submetidas a uma reação de PCR com iniciadores para a região LCR do HPV16 que amplifica um fragmento comum às variantes. Para identificar as alterações nucleotídicas específicas de cada variante, será realizada a técnica de sequenciamento de Sanger, conforme previamente descrito. As sequências obtidas serão editadas utilizando-se software Bioedit software v7.2.5 (HALL, 1999), e então alinhadas com as sequências referência de HPV16 para cada sublinhagem (BURK et al., 2013) utilizando o programa SeaView v4.5.4. A construção da árvore filogenética de todas as sequências alinhadas, pelo método de Neighbor-joining, será realizada pelo software MEGA v6.0 (TAMURA et al., 2013).

**Critério de Inclusão:** Grupo A: Serão incluídas na pesquisa todas as voluntárias que a) compreender e assinar o TCLE; b) soronegativas para HIV atendidas no centro de referência para consulta de rotina, onde as mulheres HIV negativas realizarão teste rápido para detecção do HIV c) pacientes soropositivas recrutadas que estarão em acompanhamento pelo serviço e serão confirmadas positivas para Infecção pelo vírus previamente no prontuário; d) retorno a unidade em 6 meses para exame citopatológico e) tiver idade entre 20 e 65 anos f) tiver disponibilidade de dados referentes a infecção por HIV (carga viral e contagem de CD4+); g) tiver disponibilidade de dados citopatológicos cervical prévio; h) tiver disponibilidade de dados relativos ao tratamento antirretroviral; i) responder ao questionário estruturado. Grupo B: Serão incluídas na pesquisa todas as voluntárias que a) compreender e assinar o TCLE; b) grávidas após o primeiro trimestre soronegativas para HIV atendidas no centro de referência para consulta de rotina, onde as mulheres HIV-negativas realizarão teste rápido para detecção do HIV c) pacientes grávidas após primeiro trimestre soropositivas recrutadas que estarão em acompanhamento pelo serviço e serão confirmadas positivas para Infecção pelo vírus previamente no prontuário; d) retorno a unidade em 6 meses para exame citopatológico e) tiver idade entre 20 e 49 anos f) tiver disponibilidade de dados referentes a infecção por HIV (carga viral e contagem de CD4+); g) tiver disponibilidade de dados citopatológico cervical prévio; h) tiver disponibilidade de dados relativos ao tratamento antirretroviral; i) responder ao questionário estruturado. Grupo C:

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

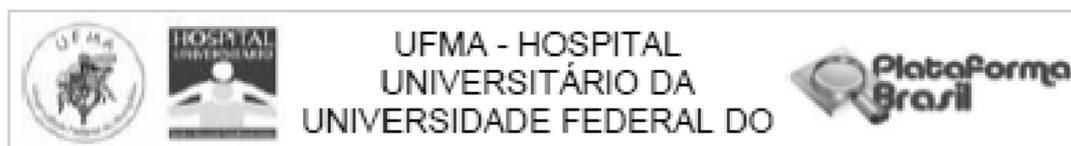
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2100-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.778.970

Serão incluídas na pesquisa todas as voluntárias que a) compreender e assinar o TCLE; b) adolescentes grávidas soronegativas para HIV atendidas no centro de referência para consulta de rotina, onde as adolescentes HIV-negativas realizarão teste rápido para detecção do HIV; c) pacientes grávidas após o primeiro trimestre soropositivas recrutadas que estarão em acompanhamento pelo serviço e serão confirmadas positivas para infecção pelo vírus previamente no prontuário; d) retorno a unidade em 6 meses para exame citopatológico e) tiver idade entre 10 e 19 anos; f) tiver disponibilidade de dados referentes a infecção por HIV (carga viral e contagem de CD4+); g) tiver disponibilidade de dados citopatológico cervical prévio; h) tiver disponibilidade de dados relativos ao tratamento antirretroviral; i) responder ao questionário estruturado. Grupo D: Serão incluídas na pesquisa todas as voluntárias que a) cujos pais e/ou responsáveis compreender e assinar o TCLE; b) crianças soronegativas para HIV atendidas no centro de referência para consulta de rotina, onde as crianças HIV-negativas realizarão teste rápido para detecção do HIV c) crianças soropositivas recrutadas que estarão em acompanhamento pelo serviço e serão confirmadas positivas para infecção pelo vírus previamente no prontuário; d) tiver idade entre 0 e 05 anos e) tiver disponibilidade de dados referentes a infecção por HIV (carga viral e contagem de CD4+); f) tiver disponibilidade de dados relativos ao tratamento antirretroviral.

**Critério de Exclusão:** Grupo A: Serão critérios de exclusão a gravidez, pacientes hysterectomizadas, ou que relatarem o desejo de desistir da pesquisa. Além disso, os casos que não apresentarem informações adequadas quanto à identificação do paciente, dados mínimos das variáveis em questão nos prontuários e nas fichas laboratoriais. Grupo B: Serão critérios de exclusão as pacientes que relatarem o desejo de desistir da pesquisa. Além disso, os casos que não apresentarem informações adequadas quanto à identificação do paciente, dados mínimos das variáveis em questão nos prontuários e nas fichas laboratoriais. Grupo C: Serão critérios de exclusão pacientes que relatarem o desejo de desistir da pesquisa. Além disso, os casos que não apresentarem informações adequadas quanto à identificação do paciente, dados mínimos das variáveis em questão nos prontuários e nas fichas laboratoriais. Grupo D: Serão critérios de exclusão pacientes que relatarem o desejo de desistir da pesquisa. Além disso, os casos que não apresentarem informações adequadas quanto à identificação do paciente, dados mínimos das variáveis em questão nos prontuários e nas fichas laboratoriais.

**Metodologia de Análise de Dados:** Será realizada análise descritiva, incluindo distribuição de

Endereço: Rua Barão de Itapery nº 227

Bairro: CENTRO

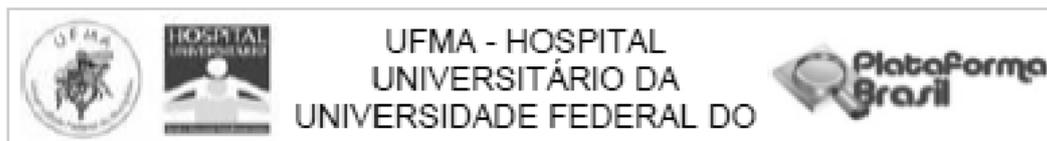
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: csp@hufma.br



Continuação do Parecer: 2.776.970

frequência para variáveis qualitativas (dados demográficos, clínicos e comportamentais) e cálculo de média e desvio-padrão para variáveis quantitativas (Idade e escolaridade). As possíveis associações entre as variáveis serão testadas por meio de testes de qui-quadrado, com correção de Yates ou teste de Fisher, quando apropriado. Frequências de HPV das amostras não pareadas (oral) e pareadas (cervical, vulvar e anal) serão comparadas utilizando o teste de McNemar. Odds Ratio e Intervalos de confiança serão calculados em análises bivariadas para estimar o grau de associação entre Infecção e as variáveis demográficas. Valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Será gerado um banco de dados para análise estatística e estabelecimento de correlações entre os parâmetros estudados, entre eles: prevalência da infecção por HPV em na população HIV positiva; frequência dos genótipos de HPV nessa população; frequência das variantes do HPV-16; prevalência de lesões cervicais e anais associadas à infecção por HPV; relação entre os marcadores da infecção pelo HIV, presença de infecção pelo HPV e laudo citopatológico; relação entre tratamento anti-retroviral, a presença de infecção por HPV e o laudo citopatológico. Será utilizado o programa estatístico SPSS–data entry (Statistical Package for the Social Sciences), 20.0.

Financiamento: FAPEMA

#### Objetivo da Pesquisa:

##### Objetivo Primário:

Investigar a prevalência dos tipos de HPV e variantes de HPV16 encontrados em espécimes cervicais, anais, vulvar e oral dos pacientes soropositivos ou soronegativos para HIV, atendidas em um Hospital Universitário.

##### Objetivos Secundários:

- Identificar e relacionar os tipos de HPV e variantes de HPV16 encontrados em espécimes cervicais, anal, vulvar e oral da amostra estudada;
- Identificar transmissão vertical do HPV em gestantes e as possíveis complicações associadas a esta infecção para o RN;
- Comparar a positividade da infecção genital e oral pelo HPV na população HIV-positivo e negativo;
- Classificar os fatores de risco relacionados à infecção por HPV cervical, anal, vulvar;

Endereço: Rua Barão de Itapery nº 227

Bairro: CENTRO

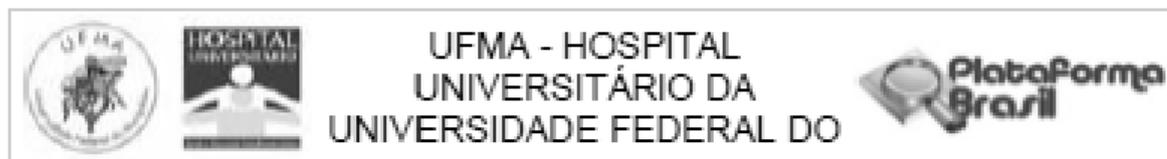
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.778.970

- Classificar os fatores de risco relacionados à Infecção por HPV oral em crianças;
- Associar a prevalência dos tipos virais de alto e baixo riscos entre os grupos;
- Relacionar a oncogenicidade dos tipos virais encontrados com dados socioeconômicos, clínico, citopatológico, laboratorial e uso de terapia antirretroviral combinada (TARVC).

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

De acordo com o descrito no PB\_online:

**Riscos:**

Os riscos que envolvem os participantes da pesquisa são pequenos (considerando as dimensões psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual), uma vez que: a) para coleta de sangue periférico serão utilizados materiais novos e descartáveis que serão abertos somente no momento do exame, e depois de utilizados, serão jogados no lixo adequado; o exame será realizado por profissional capacitado e treinado; b) os dados referentes ao sexo, idade e outras informações serão extraídos dos prontuários médicos e dos questionários.

**Benefícios:**

Os benefícios estarão baseados na avaliação da incidência da Infecção pelo HPV em pacientes com citologia normal ou não, podendo comparar os dados obtidos com os nacionais e internacionais de incidência assim como avaliar os tipos virais mais prevalentes especificamente na região maranhense. Desta maneira, será possível traçar estratégias de prevenção entre os grupos a serem estudados e associar com os fatores de riscos avaliados para o conhecimento do perfil de genótipos de HPV nesses grupos, além disso, os dados direcionarão novas políticas de rastreio para o monitoramento dessa população de risco.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa de grande relevância para área de saúde da mulher e ações preventivas em saúde.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O protocolo apresenta documentos referente aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Orçamento financeiro detalhado, Cronograma com etapas detalhadas, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), Autorização do Gestor responsável do local para a realização da coleta de dados e Projeto de Pesquisa Original na íntegra em Word.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

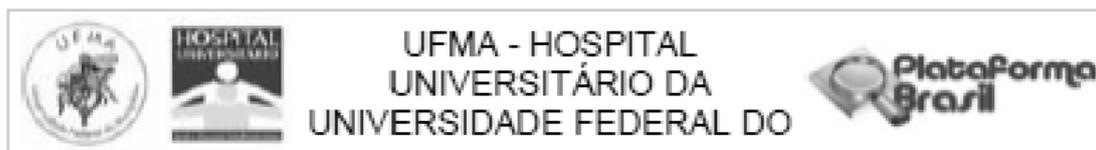
CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.776.970

O protocolo apresenta ainda as declarações de anuência e termo de compromisso com a utilização dos dados resguardando o sigilo e a confidencialidade.

**Recomendações:**

Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA solicita que se possível os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O PROTOCOLO atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares, sendo considerado APROVADO.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Comitê de Ética em Pesquisa-CEP-HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_957840.pdf	25/06/2018 13:28:49		Acelto
Cronograma	cronograma.pdf	25/06/2018 13:28:14	Sulayne Janayna Araujo Guimaraes	Acelto
Outros	cartaresposta.pdf	25/06/2018 13:28:04	Sulayne Janayna Araujo Guimaraes	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.doc	25/06/2018 13:23:39	Sulayne Janayna Araujo Guimaraes	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclesetale.doc	16/05/2018 17:52:29	Sulayne Janayna Araujo Guimaraes	Acelto

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

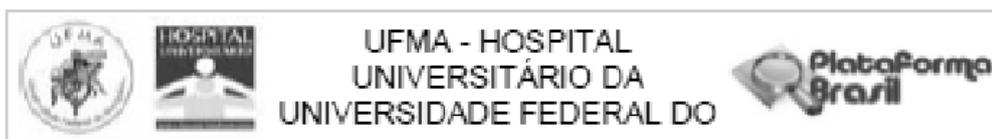
UF: MA

Telefone: (98)2109-1250

Município: SAO LUIS

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.776.970

Orçamento	orcamento22.pdf	22/02/2018 14:03:48	CARLA DEA TRINDADE BARBOSA	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	ParecerComic_HPV_HIV.pdf	06/07/2017 15:28:33	MARIA JOSE ABIGAIL MENDES ARAUJO	Acelto
Declaração do Patrocinador	formulariofapemaauxilioaprovado.pdf	06/07/2017 15:16:29	MARIA JOSE ABIGAIL MENDES ARAUJO	Acelto
Declaração de Pesquisadores	termodeanuenciaHPV_HIV.pdf	06/07/2017 15:11:49	MARIA JOSE ABIGAIL MENDES ARAUJO	Acelto
Folha de Rosto	FolhadeRostoPB_HIV_HPV.pdf	06/07/2017 12:05:23	MARIA JOSE ABIGAIL MENDES ARAUJO	Acelto

Situação do Parecer:  
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:  
Não

SAO LUIS, 19 de Julho de 2018

Assinado por:  
Rita da Graça Carvalho Frazão Corrêa  
(Coordenador)

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227  
Bairro: CENTRO CEP: 65.020-070  
UF: MA Município: SAO LUIS  
Telefone: (98)2109-1250 E-mail: cep@hufma.br