

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS PASSO FUNDO
CURSO DE MEDICINA**

MARIA LUIZA CORÁ FETTER

**RELAÇÃO ENTRE POSITIVIDADE DE PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV) E
PRESENÇA DE VAGINOSE BACTERIANA (VB) EM MULHERES ATENDIDAS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

PASSO FUNDO, RS

2023

MARIA LUIZA CORÁ FETTER

**RELAÇÃO ENTRE POSITIVIDADE DE PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV) E
PRESENÇA DE VAGINOSE BACTERIANA (VB) EM MULHERES ATENDIDAS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

Trabalho de Curso de Graduação apresentado como
requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em
Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul,
Campus Passo Fundo - RS.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a. Jossimara Poletini

PASSO FUNDO, RS

2023

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Fetter, Maria Luiza Corá
RELAÇÃO ENTRE POSITIVIDADE DE PAPILOMA VÍRUS HUMANO
(HPV) E PRESENÇA DE VAGINOSE BACTERIANA (VB) EM MULHERES
ATENDIDAS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS) / Maria Luiza
Corá Fetter. -- 2023.
75 f.:il.

Orientadora: Prof.ª Drª Jossimara Polettini

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Passo Fundo,RS, 2023.

1. Ginecologia. 2. PCR. 3. Papilomavirus Humano
(HPV). 4. Vaginose Bacteriana (VB). I. , Jossimara
Polettini, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

MARIA LUIZA CORÁ FETTER

**RELAÇÃO ENTRE POSITIVIDADE DE PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV) E
PRESENÇA DE VAGINOSE BACTERIANA (VB) EM MULHERES ATENDIDAS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

Trabalho de Curso de Graduação apresentado como
requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em
Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul,
Campus Passo Fundo - RS.

Este Trabalho de Curso foi defendido e aprovado pela banca em:

28/06/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a. Jossimara Poletini
Orientadora

Prof.^a Me. Daniela Augustin Silveira

Prof.^a Lilian Canal

DEDICATÓRIA

A minha família, meu namorado e a Flora Maria.

APRESENTAÇÃO

Trata-se de um Trabalho de Curso (TC) de Graduação, elaborado pela acadêmica Maria Luiza Corá Fetter, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina pela Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), campus Passo Fundo- RS, sob orientação da Prof.^a. Dr.^a. Jossimara Polettini. O presente trabalho está redigido conforme as normas do Manual Acadêmico de Trabalhos Acadêmicos e com o Regulamento do TC do Curso. O volume final é composto por três capítulos, sendo o primeiro, o Projeto de Pesquisa, desenvolvido no Componente Curricular (CCR) de Trabalho de Curso I, durante o primeiro semestre letivo de 2022. O segundo capítulo, desenvolvido durante o segundo semestre letivo de 2022, inclui o relatório de pesquisa, que compreende os detalhes ocorridos desde a finalização do projeto de pesquisa até a conclusão da coleta de dados e trata de temas como trâmites éticos, e a coleta e análise de dados, tendo sido desenvolvido no CCR de Trabalho de Curso II. Por fim, o terceiro e último capítulo, elaborado durante o CCR de Trabalho de Curso III no primeiro semestre de 2023, inclui um artigo científico com a compilação dos resultados obtidos no estudo. Trata-se de um estudo epidemiológico, quantitativo, do tipo observacional, transversal, descritivo e analítico, desenvolvido no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e, também, no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFFS.

RESUMO

As infecções do trato genital inferior estão associadas a comorbidades da vida reprodutiva e saúde genital da mulher. A Vaginose Bacteriana (VB) é um quadro no qual se observa o aumento de bactérias anaeróbicas em substituição aos *Lactobacillus sp.* A infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) é a Infecção Sexualmente Transmissível (IST) que mais acomete mulheres jovens adultas e é fator associado à carcinogênese no colo uterino. Estudos recentes têm demonstrado que a VB pode atuar como fator importante na aquisição e persistência da infecção pelo HPV e assim o possível desenvolvimento de lesões neoplásicas. O objetivo do estudo foi determinar as características sociodemográficas, comportamentais e clínicas da população estudada, prevalência de HPV e VB e investigar uma possível relação entre ambas. Trata-se de estudo quantitativo, transversal, descritivo e analítico com amostra não probabilística, composta por conveniência, formada por pacientes atendidas no ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) na cidade de Passo Fundo, RS, submetidas ao exame citológico Papanicolaou. Este estudo é um recorte de uma pesquisa maior intitulada “Citologia cérvico vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”. As mulheres envolvidas no estudo foram previamente informadas quanto à finalidade da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após concordância, amostras cérvico vaginais e do terço médio vaginal foram coletadas durante o exame ginecológico. Os dados foram obtidos por meio de um questionário padronizado, no qual constam informações referentes a aspectos sociodemográficos, comportamentais e de saúde. A detecção de HPV foi realizada por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), e o diagnóstico de VB foi dado pela análise microscópica dos morfotipos bacterianos presentes no conteúdo vaginal por meio da técnica de coloração de GRAM. A análise estatística consistiu no método de distribuição de frequências. As relações entre variáveis foram obtidas por meio do teste de X^2 ou Teste Exato de Fischer, considerando um nível de significância de 5%. Foram encontradas altas prevalências de HPV e VB, entretanto não foi encontrada relação significativa entre HPV e VB. Além disso, observou-se as queixas de leucorreia e odor e o uso de anticoncepcional injetável estiveram relacionadas a uma maior positividade de VB na amostra.

Palavras-chave: Doenças Sexualmente Transmissíveis; Papilomavírus Humano; Vaginose Bacteriana; Neoplasia do Colo Uterino;

ABSTRACT

Lower genital tract infections are associated with comorbidities of women's reproductive life and genital health. Bacterial Vaginosis (BV) is a condition in which there is an increase in anaerobic bacteria replacing *Lactobacillus* sp. Human Papillomavirus (HPV) infection is the Sexually Transmitted Infection (STI) that most affects young adult women and is a factor associated with carcinogenesis in the uterine cervix. Recent studies have shown that BV can act as an important factor in the acquisition and persistence of HPV infection and thus the possible development of neoplastic lesions. The objective of the study was to determine the sociodemographic, behavioral and clinical characteristics of the studied population, prevalence of HPV and BV and to investigate a possible relationship between both. This is a quantitative, cross-sectional, descriptive and analytical study with a non-probabilistic sample, consisting of convenience, formed by patients treated at the Specialties outpatient clinic of the Federal University of Fronteira Sul (UFFS) in partnership with the Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) in the city of Passo Fundo, RS, submitted to Pap smear cytology. This study is part of a larger study entitled "Cytology of the cervix in liquid medium and detection of Human Papilloma Virus (HPV), sexually transmitted infections (STIs) and alteration of the vaginal microbiota in women assisted in the Unified Health System". The women involved in the study were previously informed about the purpose of the research and signed the Informed Consent Form (TCLE). After agreement, cervical-vaginal and mid-third-vaginal samples were collected during the gynecological examination. Data were obtained through a standardized questionnaire, which contained information regarding sociodemographic, behavioral and health aspects. The detection of HPV was performed using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, and the diagnosis of BV was given by microscopic analysis of the bacterial morphotypes present in the vaginal contents using the GRAM staining technique. Statistical analysis consisted of the frequency distribution method. Relationships between variables were obtained using the X² test or Fisher's Exact Test, considering a significance level of 5%. High prevalences of HPV and BV were found, however no significant relationship was found between HPV and BV. In addition, complaints of leucorrhea and odor were observed, and the use of injectable contraceptives were related to greater BV positivity in the sample.

Keywords: Sexually Transmitted Diseases; Human Papillomavirus; Vaginosis Bacterial; Uterine Cervical Neoplasms;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 DESENVOLVIMENTO.....	12
2.1 PROJETO DE PESQUISA.....	12
2.1.1 Tema	12
2.1.2 Problema(s).....	12
2.1.3 Hipóteses	12
2.1.4 Objetivos.....	12
2.1.4.1 Objetivo Geral	12
2.1.4.2 Objetivos Específicos	13
2.1.5 Justificativa.....	13
2.1.6 Referencial Teórico	14
2.1.6.1 Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST).....	14
2.1.6.2 Papilomavírus Humano (HPV).....	15
2.1.6.3 Microbiota Vaginal.....	17
2.1.6.4 Vaginose Bacteriana (VB).....	17
2.1.6.5 Exame de Papanicolau.....	19
2.1.7 Metodologia.....	20
2.1.7.1 Tipo de estudo	20
2.1.7.2 Local e período de realização	20
2.1.7.3 População e amostragem	20
2.1.7.4 Variáveis, instrumentos e coleta de dados.....	21
2.1.7.5 Processamento, controle de qualidade e análise de dados.....	22
2.1.7.6 Protocolos Laboratoriais.....	23
2.1.7.6.1 Consulta, coleta e técnica de citologia em meio líquido.....	23
2.1.7.6.2 Extração de DNA viral das amostras	24
2.1.7.6.3 Detecção e genotipagem do HPV.....	24
2.1.7.6.4 Detecção de Vaginose Bacteriana pelo método de Gram.....	25
2.1.7.6.5 Tratamento, controle de cura e seguimento	26
2.1.7.7 Aspectos Éticos	26
2.1.8 Recursos	26
2.1.9 Cronograma	27
REFERÊNCIAS	28

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)....	33
ANEXO B – INSTRUMENTO COLETA DE DADOS	36
ANEXO C - PARECER SUBSTÂNCIADO DO CEP	41
2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA	46
ANEXO D - INSTRUÇÕES PARA AUTORES: REVISTA BRASILEIRA DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA	49
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	56
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73

1 INTRODUÇÃO

O ambiente vaginal é considerado um ecossistema complexo e dinâmico, sendo que seu conteúdo é constituído por água, colesterol, lipídeos, mucina, carboidratos, aminoácidos, proteínas e sais inorgânicos. Ao longo da vida de uma mulher, essa microbiota é dinâmica e sofre mudanças, as quais estão associadas aos períodos reprodutivos de transição, como a puberdade e a menopausa (SMITH, RAVEL, 2017). A microbiota vaginal tem um padrão típico de colonização específico de cada mulher, sendo o gênero *Lactobacillus spp.* dominante. (LÓPEZ-MORENO, AGUILERA, 2021). Essa classe de bactérias é capaz de produzir ácido láctico, mantendo o pH ácido vaginal, o qual é responsável por inibir o crescimento de microrganismos não residentes, reduzindo assim a vulnerabilidade vaginal quanto a infecção por outros patógenos (O'HANLON, MOENCH, CONE, 2013).

Uma importante alteração desse padrão de microbiota vaginal é denominada VB, a qual é caracterizada pela substituição dos morfotipos lactobacilares por uma microbiota predominantemente cocácea ou de bacilos curtos como *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Prevotella spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Ureaplasma sp.*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sp.* A prevalência de VB é altamente variável de acordo com a população estudada, sendo reportadas taxas variando entre 23% e 29% entre mulheres em idade reprodutiva da população geral (DIADHIOU *et al.*, 2019; PEEBLES *et al.*, 2019). Na clínica, a VB é diagnosticada a partir dos critérios de Amsel por meio de achados clínicos. Adicionalmente, podem ser utilizados os critérios microscópicos de Nugent, a partir da coloração de Gram, em que a pontuação de 7 a 10 caracteriza VB (WIJGERT *et al.*, 2014).

No contexto das infecções genitais, destaca-se a infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), que é, atualmente, a Infecção Sexualmente Transmissível (IST) mais prevalente em mulheres jovens adultas e tem uma clara contribuição no desenvolvimento de câncer de colo do útero (KING *et al.*, 2011). Sabe-se hoje, que em 99% dos cânceres cervicais é detectado algum dos tipos de HPV de alto risco (com alto potencial oncogênico), sendo os subtipos 16 e 18 os mais prevalentes, que em conjunto são responsáveis por cerca de 70% dos casos de câncer do colo do útero (BRASIL, 2015a).

A citologia cérvico-vaginal é um método de grande importância para o diagnóstico e prevenção das alterações citológicas compatíveis com infecção por HPV. Atualmente existem duas metodologias de coleta desse conteúdo: coleta convencional, na qual o material é distendido diretamente na lâmina, fixado imediatamente e encaminhado à coloração de

Papanicolau; e a coleta em meio líquido, que tem apresentado vantagens quanto à qualidade de representação das células epiteliais a serem analisadas (LONGATTO-FILHO *et al.*, 2015; ALVES *et al.*, 2004).

A infecção persistente e sintomática por HPV pode, também, provocar alterações imunológicas no ambiente vaginal que acabariam por desequilibrar a microbiota local e consequentemente levar à VB através de uma série de mecanismos de silenciamento e alterações de microambiente. (ANAHTAR *et al.*, 2015; LEBEAU *et al.*, 2022). Uma série de estudos têm demonstrado uma associação positiva entre HPV e VB, embora a direcionalidade ainda seja desconhecida devido à precariedade de estudos que façam um acompanhamento temporal. (KING *et al.*, 2011; MOSCICKI *et al.*, 2010; GILLET *et al.*, 2011). Outrossim, a reversibilidade da associação parece também ter importância. A VB tem sido associada como cofator para aquisição, incidência e persistência de infecção por HPV, bem como promotora de progressão para sua malignidade devido ao estresse oxidativo decorrente da disbiose microbiana (BRUSSELAERS *et al.*, 2018; GAO *et al.*, 2013).

Considerando o contexto acima, o presente estudo tem como objetivo principal de investigar qual a relação entre a positividade de HPV e a presença VB na amostra em questão uma vez que essa associação ainda não está bem consolidada. De forma adicional, objetiva-se descrever as características sociodemográficas e comportamentais das mulheres atendidas no ambulatório de ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Ainda, por meio da presente pesquisa, será possível ofertar às mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde nos ambulatórios de Ginecologia e Obstetrícia a análise citológica por meio da coleta em meio líquido (CML), que abrangerá a realização de testes moleculares de genotipagem de DNA-HPV para detecção dos subtipos virais de interesse, além de detectar outras alterações não visualizadas com o método de citologia convencional ofertado pelo sistema público.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 PROJETO DE PESQUISA

2.1.1 Tema

Relação entre a positividade do Papilomavirus Humano (HPV) e a presença de Vaginose Bacteriana (VB) em amostras cérvico-vaginais de mulheres atendidas em serviço de ginecologia do Sistema Único de Saúde (SUS) na cidade de Passo Fundo – RS.

2.1.2 Problema(s)

Qual a relação entre a positividade de Papilomavirus Humano (HPV) e a presença de Vaginose Bacteriana na amostra estudada?

Quais as características sociodemográficas, comportamentais e clínicas da população estudada?

Qual a prevalência de HPV e Vaginose Bacteriana na amostra estudada?

Quais as características sociodemográficas e comportamentais estão relacionadas à maior positividade de Vaginose Bacteriana?

2.1.3 Hipóteses

Existe uma relação positiva entre a infecção por HPV e a presença de Vaginose Bacteriana.

A população de estudo será composta na maioria por mulheres em idade reprodutiva, sexualmente ativas, de etnia branca, não tabagistas e não etilistas.

A prevalência de HPV na amostra estudada será em torno de 50%, enquanto a de Vaginose Bacteriana será de cerca de 30%.

As pacientes solteiras, tabagistas, na faixa etária dos 25 a 50 anos, sexualmente ativas apresentarão maior positividade de Vaginose Bacteriana.

2.1.4 Objetivos

2.1.4.1 Objetivo Geral

Determinar a relação entre a positividade de Papilomavirus Humano (HPV) e a presença de Vaginose Bacteriana (VB) em mulheres atendidas no SUS.

2.1.4.2 Objetivos Específicos

Determinar a relação entre a positividade de Papilomavirus Humano (HPV) e a presença de Vaginose Bacteriana na amostra estudada.

Descrever as características sociodemográficas, comportamentais e clínicas da amostra estudada.

Estimar a prevalência de infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) e de Vaginose Bacteriana (VB).

Determinar quais as características sociodemográficas e comportamentais estão associadas a uma maior positividade de Vaginose Bacteriana (VB).

2.1.5 Justificativa

A Vaginose Bacteriana é um quadro no qual se observa o aumento de bactérias anaeróbicas em substituição aos *Lactobacillus spp.*, causando uma elevação do pH vaginal e podendo levar a uma disbiose da microbiota vaginal. Além disso, sabe-se que o HPV é a infecção sexualmente transmissível que mais acomete as mulheres jovens adultas e já é bem documentado na literatura que os subtipos de alto risco, como 16 e 18, estão relacionados ao desenvolvimento do câncer de colo de útero. Estudos sugerem ainda, que exista uma associação entre HPV e VB, e que, quando associadas, eventualmente podem predispor ao câncer de colo de útero e outras doenças cérvico-vaginais.

A realização periódica do exame preventivo do colo do útero, conhecido como exame de Papanicolau, é a principal estratégia para rastreamento de lesões precursoras e do câncer do colo do útero, além de servir para detecção de HPV e outros microrganismos (BARBOSA, 2017). Atualmente, existem duas metodologias de coleta de material biológico para realização do exame: a coleta convencional e a coleta em meio líquido (CML). O método convencional apresenta sensibilidade para detectar lesões de alto grau num único exame relativamente baixa, em torno de 50%, apresentando assim, especificidade reduzida além de menor concordância cito-histológica (STABILE *et al.*, 2012). Por preservar a viabilidade celular, ao contrário da citologia convencional, a CML permite a pesquisa adicional para identificação de outros microrganismos para além do HPV, como *Lactobacillus spp.*, cocos, *Actinomyces spp.*, *Leptotrix vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* e *Candida spp.*, *Gardnerella vaginalis*, entre outros (ALVES *et al.*, 2004).

Diante disso, importante salientar que a citologia em meio líquido ofertada pelo presente estudo não faz parte dos exames tradicionalmente cobertos pelo Sistema de Único de Saúde (SUS). Logo, em condições normais, estas pacientes só poderiam ter acesso a eles buscando

laboratórios particulares. Assim, este estudo estará proporcionando a oferta de testes de alta tecnologia a um grupo social que talvez não pudesse acessá-los rotineiramente, permitindo o diagnóstico precoce e específico de doenças que podem trazer grande prejuízo a estas mulheres.

Nesse sentido, justifica-se esse estudo pela necessidade de uma análise criteriosa a respeito da relação entre a positividade de HPV e o diagnóstico de VB. Essa análise pode contribuir para o fortalecimento e redirecionamento das políticas públicas de controle do câncer do colo do útero, associado a outras infecções genitais, o que gera perspectiva de melhoria de atendimento e qualidade de vida das pacientes atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS).

2.1.6 Referencial Teórico

2.1.6.1 Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST)

As Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST) são causadas por mais de trinta agentes etiológicos diferentes pertencentes a classe dos vírus, bactérias, protozoários e fungos. Esse tipo de infecção tem sua via de transmissão principal o contato sexual, incluindo sexo vaginal, anal e oral. Destaca-se ainda, que a transmissão pode ocorrer também de maneira vertical, da mãe para a criança durante três momentos: gestação, parto e aleitamento. Salienta-se ainda, que as IST estão entre as cinco principais causas que levam à procura dos serviços de saúde no mundo e constituem-se como um problema de saúde pública (BRASIL, 2015b; BRASIL 2020).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 1 milhão de IST são adquiridas diariamente. Segundo a organização, estima-se que existem 374 milhões de novas infecções, sendo essas, por *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* e *Trichomonas vaginalis*. Além disso, cerca de 300 milhões de mulheres tem infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), sendo esse, merecedor de destaque uma vez que além de ser a IST de maior contágio, sendo superior às infecções de herpes genital e o Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV), é também um potencial oncogênico para o desenvolvimento de cânceres de colo de útero, em especial os genótipos 16 e 18 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015; CARVALHO *et al.*, 2021).

Salienta-se que a maioria das pessoas infectadas é assintomática, dificultando o diagnóstico e tratamento adequado dessas infecções. Estudos relatam que as IST são responsáveis por causar várias consequências negativas à saúde sexual, reprodutiva e gestacional das mulheres, sendo estas agravadas nos casos de não diagnóstico ou diagnóstico tardio. Alguns dos desfechos documentados são: prematuridade, ruptura precoce de membranas, baixo peso do recém-nascido, doença inflamatória pélvica (DIP), neoplasias do

colo do útero, além de aumentarem o risco de infecção pelo vírus do HIV. Segundo estudos, o risco de uma pessoa com IST e infecções genitais não ulcerativas se infectar por HIV é de cinco a dez vezes maior, sendo que o risco aumenta em dezoito vezes nos casos de infecções genitais ulcerativas (DIAS *et al.*, 2021; BELDA, SHIRATSU, PINTO, 2009; KYRGIU, MITRA, MOSCICKI, 2017).

2.1.6.2 Papilomavírus Humano (HPV)

O Papilomavírus Humano (HPV) é um vírus de DNA da família Papillomaviridae, sendo atualmente descritos mais de 200 subtipos agrupados de acordo com seu potencial oncogênico. Os subtipos 6, 11, 42, 43 e 44 são classificados como HPV de baixo risco, enquanto os subtipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 46, 51, 52, 56, 58, 59 e 68 são classificados como alto risco (ABREU *et al.*, 2018). Sabe-se também, que a contaminação pelo HPV é a infecção sexualmente transmissível (IST) mais comum entre as mulheres jovem-adultas. Além disso, a infecção pelos subtipos de alto risco, sendo principalmente os subtipos 16 e 18, é fator de risco para o desenvolvimento de câncer de colo de útero, estando relacionado a aproximadamente 65% a 75% dos casos (RODRIGUEZ-CERDEIRA, SANCHEZ-BLANCO, ALBA, 2012; KYRGIU, MITRA, MOSCICKI, 2017). A forma mais comum de transmissão do HPV é por meio de relações sexuais, durante a penetração, embora o contato genital na ausência de penetração também possa causar contaminação. (GAVILLON *et al.*, 2010; MOSCICKI *et al.*, 2012)

Padrões de ocorrência de infecção revelam que a colonização com um único subtipo de HPV de baixo risco pode predispor à infecção por outros subtipos de alto risco. Nesse âmbito, sabe-se também que a coinfeção com múltiplos subtipos de HPV é um claro fator de risco para aquisição de subtipos adicionais e também para a persistência da infecção pelo HPV (BRUSSELAERS *et al.*, 2018).

Em cerca de 90% das infecções, o vírus é eliminado do organismo em cerca de até 18 meses. No entanto, nos casos em que há persistência viral, uma série de fatores parece estar relacionada. Recentemente, estudos científicos apontaram para o papel da microbiota vaginal na aquisição e persistência de HPV e risco de desenvolvimento de câncer de colo de útero (DI PAOLA *et al.*, 2017). Um estudo de meta-análise evidenciou que mulheres sexualmente ativas com disbiose vaginal são mais propensas à persistência do vírus no corpo e tem um risco aumentado para a progressão da infecção para doença maligna, a neoplasia intraepitelial cervical (NIC) (BRUSSELAERS *et al.*, 2018). Outro estudo que propôs o sequenciamento de microbiota e HPV realizado na Coreia analisou amostras cérvico-vaginais de 68 mulheres das

quais 23 eram HPV-positivo e 45 HPV-negativo; a análise demonstrou que mulheres HPV-positivo apresentavam maior diversidade microbiana com menor proporção de *Lactobacillus spp.* do que as mulheres HPV-negativo, confirmando a tese de que o HPV pode influenciar em um desequilíbrio de microbiota (LEE *et al.*, 2013). Adicionalmente, um estudo recente descreveu que a concentração bacteriana cérvico-vaginal de *Gardnerella spp.* está aumentada em mulheres imunocompetentes com infecção persistente pelo papilomavírus humano de alto risco (BELLETI *et al.*, 2022)

Outrossim, estudos demonstraram que a infecção da membrana basal da mucosa vaginal pelo vírus inicia uma cascata de mecanismos relacionados à inflamação com ativação de citocinas pró inflamatórias, interferons, macrófagos, células NK e integração do DNA viral. Todas essas reações podem, por sua vez, impactar na microbiota vaginal e desequilibrá-la (KYRGIU, MITRA, MOSCICKI, 2017).

Nesse sentido, baseado na literatura disponível, entende-se que a infecção pelo HPV é necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento das doenças cervicais pré invasivas e invasivas, de maneira que, a coexistência de outros fatores como o tabagismo, multiplicidade de parceiros sexuais, multiparidade, uso de contraceptivo oral e o próprio desequilíbrio da microbiota vaginal interferem no padrão da infecção viral (INTERNATIONAL COLLABORATION OF EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF CERVICAL CANCER, 2007; 2009; BRUSSELAERS *et al.*, 2018; SUEHIRO *et al.*, 2021).

Nos países desenvolvidos a incidência de câncer de colo do útero caiu cerca de 80% nas últimas duas décadas, muito devido ao diagnóstico precoce a partir de uma triagem eficaz e a partir do desenvolvimento das vacinas contra o HPV. Entretanto, as mesmas taxas permaneceram estáveis em países em desenvolvimento (RAVEL *et al.*, 2011). No Brasil, o Programa Nacional de Vacinação contra o HPV começou apenas no ano de 2014, com a vacinação para meninas de 9 a 14 anos e meninos de 11 a 14 anos. Essa vacina protege contra os tipos 6, 11, 16 e 18 do HPV. Devido ao programa de vacinação ainda ser recente, são poucos os dados para se determinar qual o efeito da vacinação nas taxas de HPV (SANTOS, 2017; INCA, 2021). No entanto, como um dos primeiros estudos sobre tal efeito, Wendland et al (2021) demonstraram recentemente evidências sobre a eficácia da vacinação no Brasil. Em estudo multicêntrico com a maioria dos estados do país (Estudo POP-Brasil), os autores avaliaram 5.945 mulheres adultas jovens e reportaram que o uso da vacina quadrivalente diminuiu estatisticamente a prevalência dos tipos de HPV 6, 11, 16 e 18 em quase 60,0%, o que demonstra a importância dessa abordagem vacinal preventiva.

2.1.6.3 Microbiota Vaginal

O corpo humano é habitado por uma série de microrganismos, na sua maioria bactérias, que, quando em condições ideais são responsáveis por manter a homeostase. Assim como no restante do corpo, o sistema reprodutor feminino também é colonizado por diversos organismos que vivem em simbiose, constituindo assim a microbiota vaginal. Além dos microrganismos residentes, a microbiota vaginal é constituída também de água, colesterol, lipídeos, mucina, carboidratos, aminoácidos, proteínas e sais inorgânicos. A homeostase dessa microbiota local é necessária para que o hospedeiro tenha mecanismos de defesa contra a infecção de microrganismos patogênicos e parasitas que possam vir a colonizar esse ambiente (ZHANG *et al.*, 2019). A microbiota do trato genital inferior feminino é predominantemente colonizada por espécies de lactobacilos e, nessa condição, é considerada normal (SWEET, 2000). Essas bactérias, tem papel crucial na manutenção do pH ácido vaginal – variando entre 3,8 e 4,5 - e na proteção contra patógenos através da produção de substâncias como ácido lático, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas, que tem o papel de inibir o crescimento de microrganismos danosos (O'HANLON, MOENCH, CONE, 2013).

Com base na presença ou ausência de determinada espécie de *Lactobacillus* é possível classificar a microbiota vaginal em cinco tipos de estado de comunidade (CSTs), sendo as classificações existentes: I, II, III e V sendo dominados por *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* e *L. jensenii* respectivamente, e CST IV (bactérias associadas à vaginose bacteriana) inversamente, é um grupo heterogêneo caracterizado pela depleção de *Lactobacillus* spp. com a presença de espécies estritamente anaeróbicas, como *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Sneathia* e *Prevotella* (RAVEL *et al.*, 2011).

O equilíbrio desse ambiente vaginal é de suma importância para o não desenvolvimento de possíveis quadros patológicos. Um desequilíbrio da microbiota vaginal é capaz de alterar o pH local e criar um ambiente favorável para a proliferação de agentes patogênicos. Uma importante alteração desse padrão de microbiota vaginal é denominada VB, caracterizada pela substituição dos lactobacilos residentes da microbiota vaginal por bactérias (NERY, 2018; ZIMMERMANN *et al.*, 2019).

2.1.6.4 Vaginose Bacteriana (VB)

A Vaginose bacteriana é a alteração mais comum de microbiota vaginal dentre as mulheres em idade reprodutiva, com uma prevalência de cerca de 30% (MARCONI *et al.*, 2015). Essa condição é caracterizada por uma comunidade bacteriana consistente com CST IV,

isto é, uma depleção dos *Lactobacillus spp.* presentes na microbiota vaginal e cervical e um crescimento aumentado de inúmeras outras espécies de bactérias, em sua maioria anaeróbicas, como *Mobiluncus spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Prevotella spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Ureaplasma sp.*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sp* (MITCHELL, MARRAZZO, 2014; WIJGERT *et al.*, 2014; MITRA *et al.*, 2016).

A VB pode ser definida através do escore de Nugent por meio avaliação microscópica pós-coloração pelo método Gram, ou clinicamente através dos critérios de Amsel. O primeiro, muito utilizado no âmbito da pesquisa e considerado padrão-ouro, baseia-se na microscopia de três morfotipos bacterianos no esfregaço vaginal em que uma pontuação de 0 a 3 é considerada normal, 4 a 6 uma microbiota intermediária e 7 a 10 caracterizam a Vaginose bacteriana (NUGENT, KROHN, HILLIER, 1991; ANUKAM, IDEMOH, OLISE, 2014). Já na prática clínica utilizam-se os critérios de Amsel, em que são necessários a presença de três de quatro dos critérios: corrimento vaginal de aspecto bolhoso, branco ou acinzentado; pH vaginal maior que 4,5; positividade no teste das aminas – *Whiff Test* –; presença de células guias, chamadas *clue cells*, em exame a fresco ou esfregaço do corrimento vaginal corado pelo método Gram (AMSEL *et al.*, 1983).

A VB é caracterizada por não ser uma alteração inflamatória, e por isso, acaba por ser assintomática na maioria das vezes e, devido a esse fato, é denominada como uma vaginose e não vaginite (WIJGERT *et al.*, 2014). Cerca de 50% das mulheres com VB é assintomática, o que representa um empecilho para sua identificação na prática clínica. Entretanto, entre as mulheres sintomáticas, os sintomas mais reportados incluem corrimento vaginal e mau odor vaginal, esse último podendo ser detectado pelo *Whiff Test* - caracterizado pela presença de odor de peixe causado pelas aminas voláteis após a adição de duas gotas de hidróxido de potássio a 10% ao conteúdo vaginal - (SWEET, 2000).

Já é bem estabelecido que a VB está relacionada a uma série de complicações tanto ginecológicas como obstétricas, incluindo doença inflamatória pélvica (DIP), infecções pós cirúrgicas, bem como risco aumentado de aquisição de IST's, como clamídia, gonorreia, tricomoníase, HPV e HIV. No âmbito da obstetrícia, a VB é relacionada com complicações como aborto, trabalho de parto prematuro e baixo peso ao nascer (PEEBLES *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2013).

Estudos indicam que a prevalência da VB com base no diagnóstico nos critérios de Amsel, varia entre 24% e 30% (BROTMAN, 2011). Além disso, uma série de estudos e meta-análises sugerem que a infecção pelo HPV é afetada pela microbiota vaginal. Há evidências que sugerem que o risco de infecção por esse vírus e a sua persistência no organismo feminino

é mais esperado naquelas mulheres em que há uma disbiose vaginal. Além disso, uma revisão sistemática e meta-análise publicada recentemente correlaciona a infecção por HPV e o desequilíbrio da microbiota vaginal com um risco aumentado para o desenvolvimento de lesões pré malignas e malignas do colo uterino (BRUSSELAERS *et al.*, 2018). Em outra meta-análise, também foi associada a presença de VB a taxas mais altas de HPV (12 estudos; odds ratio (OR) 1,43, IC 95% 1,11 a 1,84), sugerindo assim uma correlação positiva entre alteração de microbiota e infecção por HPV (KYRGIU, MITRA, MOSCICKI, 2017).

Seguindo as diretrizes internacionais de tratamento para VB baseado no *guideline* de tratamento das infecções sexualmente transmissíveis de 2021 produzido pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), a intervenção medicamentosa é indicada para mulheres sintomáticas e estabelece benefícios quanto ao alívio dos sintomas e sinais de infecção. De acordo com o CDC, o tratamento indicado é a administração de Metronizadol 500mg via oral duas vezes ao dia durante 7 dias (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2021). O Ministério da Saúde, por meio do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis recomenda tratamento para mulheres sintomáticas, grávidas com comorbidades associadas e/ou potencial risco de complicações também com o Metronidazol 500mg via oral duas vezes ao dia durante 7 dias como primeira linha de tratamento (BRASIL, 2015b).

2.1.6.5 Exame de Papanicolau

A citologia cervical foi introduzida na década de 1940 por Geórgios Papanikolauou e Traut a partir da publicação de um estudo que discutia a preparação para o esfregaço cervical e vaginal, as mudanças citológicas durante o período menstrual, os efeitos de várias condições patológicas e as mudanças celulares observadas com a presença de câncer no cérvix, no endométrio e no útero (THOMS, 1943). Sabe-se também, que antes disso, em 1928, o médico romano Aurel Babes tinha feito descobertas semelhantes, porém utilizando outra técnica.

O exame que mais tarde viria a se tornar conhecido como Teste de Papanicolau, consagrou-se como o mais bem-sucedido método preventivo e diagnóstico para o câncer de colo uterino. O rastreamento por meio da realização do exame citopatológico é indicado para mulheres na faixa etária entre 25 e 64 anos e que já tiveram atividade sexual. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Desde a introdução da citologia da cérvix uterina como exame de rastreamento houve uma grande redução da mortalidade desencadeada por esse tumor (MOURA *et al.*, 2014). Na atualidade existem duas metodologias de coleta de material biológico para realização do exame: a coleta convencional, na qual o material é distendido

diretamente na lâmina, fixado imediatamente e encaminhado à coloração específica; e a coleta em meio líquido (CML), que possibilita a realizações de testes adicionais histoquímicos e de biologia molecular (STABILE *et al.*, 2012).

O exame em citologia líquida foi desenvolvido com objetivo de reduzir as falhas da citologia tradicional, facilitando a interpretação, reduzindo o número de glóbulos vermelhos, exsudatos inflamatórios e muco e ainda com a possibilidade de se confeccionar lâmina adicionais em caso de necessidade (ABREU *et al.*, 2018). O teste de diagnóstico de HPV por métodos moleculares que buscam o DNA do vírus em conjunto com a citologia melhora a eficácia do rastreo, encontrando-se sensibilidade dessa associação, Papanicolau combinado com teste de DNA-HPV, de 93,3% e valor preditivo negativo de 98,8% (CLAVEL *et al.*, 1999).

Entretanto, embora as vantagens já destacadas da coleta em meio líquido, o Sistema Único de Saúde (SUS) oferece apenas o exame de citologia convencional. A possibilidade de implementação do meio líquido no atendimento pelo Sistema Único de Saúde poderá promover maior rastreo da positividade de HPV nessa população, o que tem sido demonstrado ser um método mais eficiente no rastreo e acompanhamento da evolução da infecção viral comparado à citologia isolada (OGILVIE *et al.*, 2018).

2.1.7 Metodologia

2.1.7.1 Tipo de estudo

Estudo epidemiológico, quantitativo, do tipo observacional, transversal, descritivo e analítico.

2.1.7.2 Local e período de realização

O estudo será realizado na cidade de Passo Fundo – RS no período entre agosto de 2022 e julho de 2023.

2.1.7.3 População e amostragem

Este estudo será um recorte de uma pesquisa maior intitulada “Citologia cérvico vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, cujo início se deu em 01 de dezembro de 2019.

Neste recorte serão incluídas mulheres com idade entre 25 e 64 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização do exame de citologia cérvico-vaginal de acordo com a faixa etária determinada pelo Ministério da Saúde para realização do exame ginecológico

preventivo de rotina e/ou maiores de 18 anos que buscam atendimento por leucorreia/prurido/queixas menstruais que são submetidas ao exame especular. A amostra, não probabilística, composta por conveniência, será formada por pacientes atendidas no Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul e no Ambulatório do SUS do Hospital São Vicente de Paulo, ambos locais situados na cidade de Passo Fundo – RS, no período de dezembro de 2019 a dezembro de 2022, encaminhadas ao exame citológico (Papanicolau) e/ou exame especular em caso de queixa ginecológica. Os referidos ambulatórios fazem parte do Sistema Único de Saúde (SUS) e atendem paciente através do sistema SISCAN/SICOLO. Estima-se o tamanho amostral de 300 pacientes, considerando o número de atendimento nos referidos ambulatórios (n=1000/ano).

Crítérios de inclusão: Serão incluídas no estudo mulheres acima de 18 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal de rotina e/ou que buscam atendimento por leucorreia/prurido/queixas menstruais, que não estejam em uso de antibióticos por pelo menos 40 dias e estejam em abstinência sexual de pelo menos 72 horas.

Crítérios de exclusão: Serão excluídas as amostras que não estiverem adequadas para análise, como material biológico em ressecamento na lâmina do conteúdo vaginal, DNA insuficiente para as análises moleculares e dados sociodemográficos e clínicos incompletos.

2.1.7.4 Variáveis, instrumentos e coleta de dados

Serão consideradas como variáveis independentes: presença de HPV detectada por PCR convencional, questões sociodemográficas (idade, cor de pele, se sabe ler e escrever e situação conjugal), comportamentais (se é ou não fumante, se tem costume de beber bebidas alcoólicas, atividade sexual e número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses) e clínicas (teste de Schiller, *Whiff test*, teste de pH vaginal e queixas ginecológicas). A variável dependente do estudo será a presença de Vaginose Bacteriana.

As pacientes em consulta regular atendidas no Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo (RS) e Ambulatório do SUS do Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo (RS), encaminhadas ao exame citológico (Papanicolau) de rotina serão convidadas a participar da pesquisa. As pacientes que estiverem de acordo em participar do estudo e tiverem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado (Anexo A) serão entrevistadas pela equipe de pesquisa e terão coletadas informações através de um questionário padronizado, pré-testado e pré-codificado desenvolvido para este estudo (Anexo B). O questionário será aplicado em sala privada com o intuito de preservar a

privacidade das pacientes. Após aplicação do questionário a paciente será submetida à consulta normal e o material endocervical será coletado. As pacientes serão atendidas pela equipe médica da Universidade Federal da Fronteira Sul – RS, composta por residentes, médicos preceptores e docentes da instituição, e, serão examinadas de acordo com o protocolo ginecológico padrão e submetidas ao exame citológico em sala reservada garantindo a privacidade.

A acadêmica da equipe de pesquisa, devidamente paramentada se deslocará ao Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da UFFS e ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFFS nas terças-feiras, quinzenalmente, das 8:30 min as 17:00h.

Os passos seguintes à coleta e análise do material no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular estarão melhor explanados no item Protocolos Laboratoriais. Neste mesmo laboratório ocorrerão as análises de PCR e leitura das lâminas citológicas, pela acadêmica da pesquisa com auxílio da orientadora Prof.^a Dr.^a. Jossimara Poletini. Estas análises serão realizadas nas terças-feiras, quinzenalmente em momento posterior às coletas no ambulatório. Após a análise, os resultados serão registrados no questionário (Anexo B) na categoria “resultado dos testes”, e em seguida, serão registrados no sistema de banco de dados da pesquisa.

A equipe do ambulatório de referência será responsável por entrar em contato com a paciente para agendar um retorno de maneira que, esse retorno, servirá para apresentar os resultados obtidos e realizar o encaminhamento clínico caso necessário.

2.1.7.5 Processamento, controle de qualidade e análise de dados

As respostas obtidas nos questionários e os resultados de HPV e Vaginose Bacteriana obtidos respectivamente através da PCR e Coloração de Gram serão duplamente digitadas em banco de dados a ser criado no *software* EpiData versão 3.1, de distribuição livre, para posterior análise. A análise estatística descritiva será realizada no *software* PSPP, também de distribuição livre, e, consistirá de distribuição de frequências (prevalência das variáveis dependentes e proporções das variáveis independentes). A análise estatística será realizada com o cálculo de *Odds ration (OR)* para a associação das variáveis, considerando-se intervalos de confiança de 95% (IC 95%), sendo $P < 0,05$ considerado estatisticamente significativo.

2.1.7.6 Protocolos Laboratoriais

2.1.7.6.1 Consulta, coleta e técnica de citologia em meio líquido

Durante a consulta ginecológica será realizado um exame especular não invasivo, empregando-se o espéculo bi-valvo de Collins esterilizado e isento de qualquer lubrificante para afastamento das paredes vaginais. O pH vaginal será aferido utilizando-se fitas comerciais que serão colocadas em contato com a parede vaginal e comparadas ao padrão oferecido pelo fabricante. Amostras do conteúdo vaginal serão coletadas do terço médio da parede vaginal utilizando-se *swabs* (hastes com pontas de algodão) estéreis para a confecção de esfregaços vaginais em lâminas de vidro em duplicata e o *whiff test*, através da adição de 1 ou 2 gotas de KOH a 10% ao conteúdo vaginal. Esses dados, juntamente com outras informações relevantes dos aspectos clínicos das pacientes serão informados em formulário específico (Anexo B).

As lâminas serão utilizadas para realização do exame microscópico corado pela técnica de Gram e identificação do padrão de microbiota: análise quanto à morfologia, coloração e quantidade de bactérias nos esfregaços vaginais e atribuição de escores, variando de 0 a 10, segundo critérios de Nugent (NUGENT, KROHN, HILLIER, 1991) para classificação da microbiota em normal (escore de 0 a 3), intermediária (escore de 4 a 6) ou Vaginose Bacteriana (escore de 7 a 10).

As amostras cérvico-vaginais serão obtidas pela técnica de citologia em meio líquido (CML). As coletas das citologias serão realizadas por um único profissional, sendo utilizada espátula de avre e escova cervical para coleta do material que posteriormente serão mergulhadas no meio líquido com agitação manual vigorosa para liberação das células escamosas e glandulares no frasco contendo fluido preservador CellPreserv® (Kolplast) previamente identificado. As amostras serão mantidas à temperatura ambiente e transportadas ao laboratório de acordo com a rotina.

Previamente à preparação das lâminas para avaliação citológica coletada em meio líquido, 1mL do conteúdo coletado será separado em microtubo para posterior extração de DNA e pesquisa de DNA-HPV, seguindo descrição a seguir. Esse material será enviado aos laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, Campus Passo Fundo, segundo as normas de controle de qualidade interno.

Para o processamento e confecção das lâminas, o material coletado em meio líquido será submetido ao processo de rotina utilizando-se o sistema automatizado ThinPrep 2000 system LBC slide, com uso de lâminas CellPreserv e posterior coloração pelo método de Papanicolaou. Os procedimentos serão realizados no Laboratório de Patologia do Hospital São

Vicente de Paulo com a supervisão da Prof^ª. Daniela Augustin Silveira, médica patologista da equipe de pesquisa.

As lâminas resultantes da citologia em meio líquido serão avaliadas por citopatologistas experientes do grupo proponente e serão classificadas de acordo com a nomenclatura brasileira para laudos cervicais, adaptada do Sistema de Bethesda de 2001.

2.1.7.6.2 Extração de DNA viral das amostras

O volume de amostra separado do meio líquido será submetido à centrifugação e coleta do *pellet* celular com subsequente extração de DNA total utilizando-se os reagentes comerciais de purificação de DNA (*Illustra DNA tissue and cells genomicPrep*, GE Healthcare) seguindo as instruções do fabricante. As amostras serão armazenadas a -20°C até sua utilização na detecção e genotipagem do DNA-HPV através da técnica de PCR. A concentração do DNA de cada amostra será estimada através de um espectrofotômetro. Tais procedimentos serão realizados no laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, Campus Passo Fundo.

2.1.7.6.3 Detecção e genotipagem do HPV

Para pesquisa de HPV será empregada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando os iniciadores MY09 e MY11, que flanqueiam uma região do gene L1 do HPV, e que gera um produto amplificado de 450pb, seguido de Nested-PCR com os primers e GP5+/GP6+, que flanqueiam um fragmento interno à região anterior, de 150 pares de base, para ampliar a sensibilidade da reação. Os controles positivos das reações, ou seja, DNA extraído de células HeLa e os clones de cada subtipo analisado, e os respectivos *primers* para as PCRs serão gentilmente cedidas pela Dra. Márcia Guimarães da Silva, do Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-Fetal, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, que faz parte da equipe do presente projeto. A extração do DNA das amostras estudadas será verificada pela amplificação do gene constitutivo da β -globina.

As reações serão realizadas em volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq[®] Green Master Mix (Promega); 1,0 uL de cada primer na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2 uL de cada amostra pesquisada. As incubações serão realizadas em termociclador com os parâmetros de 95°C durante 5 minutos e 95°C durante 45 segundos para desnaturação, 47,7°C durante 45 segundos para anelamento dos iniciadores e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 44 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a

temperatura de extensão final será de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C. Em todas as reações realizadas será utilizado um controle negativo, através da substituição do ácido nucléico por água estéril, e um controle positivo contendo DNA de HPV extraído de células HeLa.

A eficiência das amplificações será monitorada pela eletroforese da reação em gel de agarose 1,5% preparada em tampão 1X TBE (Tris/Ácido Bórico/EDTA) e corada com Brometo de Etídio. O tamanho dos produtos amplificados será comparado com o padrão de 50 pb e posteriormente fotografados sob transiluminação ultra-violeta.

Para a determinação dos tipos virais presentes nas amostras que apresentaram positividade para DNA de HPV será empregada a técnica de PCR-multiplex. Serão utilizados primers específicos para os tipos 6/11, 16, 18. As reações serão realizadas volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix (Promega); 1,0 uL de cada primer na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2uL de amostra de DNA. Os parâmetros utilizados serão 94°C durante 5 minutos e 94°C durante 1 minuto para desnaturação, 53,5°C durante 30 segundos para anelamento dos primers e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 37 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final será de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C.

A eficiência das amplificações será monitorada pela eletroforese da reação em gel de agarose 1,5%, preparado em tampão 1X TBE (Tris/Ácido Bórico/EDTA) e corado com brometo de etídio. O tamanho dos produtos amplificados será comparado com o padrão de 100 pb e posteriormente fotografados sob transiluminação ultra-violeta.

2.1.7.6.4 Detecção de Vaginose Bacteriana pelo método de Gram

Durante o exame especular, amostras do conteúdo vaginal serão coletadas do terço médio da parede vaginal utilizando-se *swabs* (hastes com pontas de algodão) estéreis para a confecção de esfregaços vaginais em lâminas de vidro em duplicata.

As lâminas contendo o material coletado serão encaminhadas laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, Campus Passo Fundo, onde será realizado exame microscópico corado pela técnica de Gram. Para essa análise, as amostras serão coradas seguindo o protocolo de coloração de Gram proposto pelo Ministério da Saúde. (BRASIL, 2001). Após a coloração, as lâminas serão lidas em microscópio óptico no qual será identificada o padrão de microbiota por meio da análise quanto à morfologia, coloração e quantidade de bactérias nos esfregaços vaginais e será atribuído escores, variando de 0 a 10, segundo critérios de Nugent. Esse escore classifica a microbiota entre normal (escore de 0 a 3), intermediário (escore de 4 a 6) ou Vaginose Bacteriana (escore de 7 a 10) (NUGENT, KROHN, HILLIER,

1991). O padrão de microbiota de interesse na presente pesquisa é representado pelos escores 7 a 10 conforme critérios de Nugent e faz referência à Vaginose Bacteriana.

2.1.7.6.5 Tratamento, controle de cura e seguimento

Nos casos positivos para endocervicites bacterianas, candidíase e demais alterações de microbiota vaginal, os tratamentos serão realizados de acordo com o recomendado pelo CDC. O controle de cura dessas condições será realizado 45 dias após o término do tratamento, através da reconvocação da paciente para re-avaliação dos exames propostos.

2.1.7.7 Aspectos Éticos

O presente estudo é um recorte de uma pesquisa maior intitulada “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da UFFS sob parecer número 3.501.252 (Anexo C).

2.1.8 Recursos

Quadro 1 – Orçamento

Itens	Quantidade	Custo unitário (R\$)	Custo total (R\$)
Canetas	2 caixas	28,00	56,00
Pranchetas	25 unidades	12,00	300,00
Lápis	4 caixas com 12 unidades	8,00	32,00
Borracha	25 unidades	1,50	37,50
Impressões	2.500	0,20	500,00
PCR	300	10,00	3.000,00
Total (R\$)			3.925,50

Fonte: elaborado pelo autor (2022)

As despesas relacionadas no Quadro 1 serão custeadas com recursos próprios da equipe de pesquisa do projeto “Citologia cérvico vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”. Os equipamentos utilizados, bem como o laboratório onde serão realizadas as análises, pertencem à Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo.

2.1.9 Cronograma

Quadro 2 – Cronograma 2022 e 2023

Atividade Período	Ago/2022	Set/2022	Out/2022	Nov/2022	Dez/2022	Jan/2023	Fev/2023	Mar/2023	Abr/2023	Mai/2023	Jun/2023	Jul/2023
Revisão de literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Coleta de Dados	X	X	X	X	X							
Processamento laboratorial e análise de dados						X	X	X	X	X		
Escrita e divulgação dos resultados na forma de artigo científico										X	X	X

Fonte: elaborado pelo autor (2022)

REFERÊNCIAS

- ABREU, Mery Natali Silva. *et al.* Conhecimento e percepção sobre o HPV na população com mais de 18 anos da cidade de Ipatinga, MG, Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 23, n. 3, p. 849–860, 2018.
- ALVES, Venâncio AF. *et al.* Citologia de base-líquida pelo sistemadna-citoliq® (DCS) – eficácia na identificação da microbiota vaginal. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 16, n. 4, p. 27–31, 2004.
- AMSEL, Richard. *et al.* Vaginitis Diagnostic Criteria and Microbial and Epidemiologic Associations. **The American Journal of Medicine**, Seattle, v. 74, 1983.
- ANAHTAR, Melis N. *et al.* Cervicovaginal Bacteria Are a Major Modulator of Host Inflammatory Responses in the Female Genital Tract. **Immunity**, v. 42, n. 5, p. 965–976, 2015.
- ANUKAM, Kingsley C.; IDEMOH, Cynthia; OLISE, Nkechi A. Evaluation of bacterial vaginosis (BV) using Nugent scoring system. **Journal of Biomedical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 25–32, 2014.
- BARBOSA, Isabelle Ribeiro. Diferenças regionais e socioeconômicas na cobertura do exame papanicolau no Brasil: Dados da pesquisa nacional de Saúde 2013. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 39, n. 9, p. 480–487, 2017.
- BELDA, Walter Junior; SHIRATSU, Ricardo; PINTO, Valdir. Abordagem nas doenças sexualmente transmissíveis. **An Bras Dermatol**, v. 84, n.2, p. 151-59, 2009.
- BELLETI, Rafael; *et al.* Cervicovaginal loads of Gardnerella spp. are increased in immunocompetent women with persistent high-risk human papillomavirus infection. **Journal of medical microbiology**, v. 71, n. 5, 2022.
- BRASIL; Ministério da saúde; Secretaria de vigilância em saúde; Departamento de vigilância de doenças transmissíveis; Coordenação geral do programa nacional de imunizações. **Informe técnico da vacina papilomavírus humano 6, 11, 16 e 18 (recombinante)**, 2015, 2015a.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT): atenção integral às pessoas com infecções sexualmente transmissíveis (IST)**. Brasília: 2015b.
- BRASIL; Ministério da Saúde. Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST). **O que são infecções sexualmente transmissíveis?** Brasília, 2020.
- BRASIL; Ministério da Saúde; Secretaria de Políticas de Saúde; Programa Nacional de DST e AIDS. **Técnica de Coloração de GRAM**. Brasília, 2001.
- BROTMAN, Rebecca M. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: An epidemiologic perspective. **Journal of Clinical Investigation**, v. 121, n. 12, p. 4610–4617, 2011.

BRUSSELAERS, Nele. *et al.* Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 221, n. 1, p. 9-18. e8, 2019.

CARVALHO, Newton Sergio de. *et al.* Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: infecção pelo papilomavírus humano (HPV). **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 30, n. spe1, 2021.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Sexually transmitted diseases treatment guidelines**, 2021. Bacterial Vaginosis. Disponível em: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/bv.htm>. Acesso em: 17 mai. 2022.

CLAVEL, Christine. *et al.* Hybrid Capture II-based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518 women. **British Journal of Cancer**, v. 80, n. 9, p. 1306–1311, 1999.

DIADHIOU, Mohamed *et al.* Prevalence and Risk Factors of Lower Reproductive Tract Infections in Symptomatic Women in Dakar, Senegal. **Infectious Diseases: Research and Treatment**, v. 12, p. 117863371985182, 2019.

DI PAOLA, Monica. *et al.* Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

DIAS, Jerusa Araujo. *et al.* Sexually transmissible infections in African-descendant women in maroon communities in Brazil: Prevalence and associated factors. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 37, n. 2, 2021.

GAO, Weijiao. *et al.* Comparison of the vaginal microbiota diversity of women with and without human papillomavirus infection: A cross-sectional study. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, 2013.

GAVILLON, N. *et al.* How did I contract human Papillomavirus (HPV)? **Gynecologie Obstetrique et Fertilité**, v. 38, n. 3, p. 199–204, 2010.

GILLET, Evy. *et al.* Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: A meta-analysis. **BMC Infectious Diseases**, v. 11, 2011.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Tipos de câncer. **Câncer de colo do útero**. Brasília, DF, 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-do-colo-do-utero/profissional-de-saude>. Acesso em: 31 mai. 2022.

INTERNATIONAL COLLABORATION OF EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF CERVICAL CANCER. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16 573 women with cervical cancer and 35 509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. **Lancet**, v. 370, p. 1609–1621, 2007.

INTERNATIONAL COLLABORATION OF EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF CERVICAL CANCER. Cervical carcinoma and sexual behavior: collaborative reanalysis of individual data on 15,461 women with cervical carcinoma and 29,164 women without cervical carcinoma from 21 epidemiological studies. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 18, n. 4, p. 1060, 2009.

KING, Caroline C. *et al.* Bacterial Vaginosis and the natural history of human papillomavirus. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, v. 2011, 2011.

KYRGIU, Maria; MITRA, Anita; MOSCICKI, Anna Barbara. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? **Translational Research**, v. 179, p. 168–182, 2017.

LEE, Jung Eun. *et al.* Association of the Vaginal Microbiota with Human Papillomavirus Infection in a Korean Twin Cohort. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, 2013.

LEBEAU, Alizee. *et al.* HPV infection alters vaginal microbiome through down-regulating host mucosal innate peptides used by Lactobacilli as amino acid sources. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, 2022.

LONGATTO-FILHO, Adhemar. *et al.* Critical Analyses of the Introduction of Liquid-Based Cytology in a Public Health Service of the State of São Paulo, Brazil. **Acta Cytologica**, v. 59, n. 3, p. 273–277, 2015.

LÓPEZ-MORENO, Ana; AGUILERA, Margarita. Vaginal probiotics for reproductive health and related dysbiosis: Systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Medicine**, v.10, n. 7, p. 1461, 2021

MARCONI, Camila. *et al.* Prevalence of and risk factors for bacterial vaginosis among women of reproductive age attending cervical screening in southeastern Brazil. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 131, n 2, p. 137–141, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Diretrizes Brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero**. Rio de Janeiro, v. 2, 2016.

MITCHELL, Caroline; MARRAZZO, Jeanne. Bacterial Vaginosis and the Cervicovaginal Immune Response. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 71, n. 6, p. 555–563, 2014.

MITRA, Anita. *et al.* The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: What do we know and where are we going next? **Microbiome**, v. 4, 2016.

MOSCICKI, Anna Barbara *et al.* The role of sexual behavior and human papillomavirus persistence in predicting repeated infections with new human papillomavirus types. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 19, n. 8, p. 2055–2065, 2010.

MOURA, Escolástico. *et al.* Clinical, therapeutic, and sexual overview of women with Human Papilloma Virus and/or Cervical Intraepithelial Neoplasia. **Revista de Enfermagem Referência**, v. IV Série, n. 3, p. 113–120, 2014.

NERY, Fábio Santos. **A importância da microbiota vaginal para saúde feminina: um panorama do conhecimento da comunidade da fup**. Planaltina, 2018.

NUGENT, Robert P; KROHN, Marijane A; HILLIER, Sharon L. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. **J Clin Microbiol**, v. 29, n. 2, p. 297-301, 1991.

- O'HANLON, Deirdre E.; MOENCH, Thomas R.; CONE, Richard A. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, 2013.
- OGILVIE, Gina Suzzane. *et al.* Effect of Screening With Primary Cervical HPV Testing vs Cytology Testing on High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia at 48 Months: The HPV FOCAL Randomized Clinical Trial. **JAMA**, v. 320, n. 1, p. 43-52, 2018.
- PEEBLES, Kathryn. *et al.* High Global Burden and Costs of Bacterial Vaginosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 46, n. 5, p. 304–311, 2019.
- RAVEL, Jacques. *et al.* Vaginal microbiome of reproductive-age women. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. SUPPL. 1, p. 4680–4687, 2011.
- RODRIGUEZ-CERDEIRA, Carmen.; SANCHEZ-BLANCO, Elena.; ALBA, Alfonso. Evaluation of Association between Vaginal Infections and High-Risk Human Papillomavirus Types in Female Sex Workers in Spain. **ISRN Obstetrics and Gynecology**, vol. 2012, p. 1–7, 2012.
- SANTOS, Marcell de Oliveira. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. **Revista Brasileira de Cancerologia**. Rio de Janeiro, v. 64, n. 1. p. 119–120, 2017.
- SMITH, Steven B.; RAVEL, Jacques. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 2, p. 451–463, 2017.
- STABILE, Sueli Aparecida Batista. *et al.* Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncológica cérvico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. **Einstein**, v. 10, n. 4, p. 466–72, 2012.
- SUEHIRO, Tamy Taianne. *et al.* High molecular prevalence of hpv and other sexually transmitted infections in a population of asymptomatic women who work or study at a brazilian university. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 63, p. 1–10, 2021.
- SWEET, Richard L. Gynecologic Conditions and Bacterial Vaginosis: Implications for the Non-Pregnant Patient. **Obstet. Gynecol**, v. 8, p. 184–190, 2000.
- THOMS, Herbert. Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear. **Yale Journal Of Biology and Medicine**, v. 15, n. 6, p. 924, 1934.
- WENDLAND, Eliana M *et al.* Effectiveness of a universal vaccination program with an HPV quadrivalent vaccine in young Brazilian women. **Vaccine**, v. 39, n.13, p. 1840-1845, 2021.
- WIJGERT, Janneke H.H.M van de. *et al.* The vaginal microbiota: What have we learned after a decade of molecular characterization? **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, 2014.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Sexually Transmitted Infections (STIs)**. Geneva: 2015. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)). Acesso em: 16 mai. 2022.

ZHANG, Yi Lin. *et al.* Mechanisms underlying the regulation of intracellular and luminal pH in vaginal epithelium. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 9, p. 15790–15799, 2019.

ZIMMERMMANN, Juliana Barroso. *et al.* Vaginose bacteriana: frequência entre usuárias do serviço público e da rede privada de saúde. **HU Revista**, Juiz de Fora, v. 35, n. 2, p. 97–104, 2009.

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezada Participante, você está sendo convidada a participar voluntariamente da pesquisa “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde” desenvolvida por Prof. Dr. Gustavo Olszanski Acrani, da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e sua equipe de pesquisa. O objetivo central desse estudo é avaliar a saúde das mulheres, fazer exames preventivos de câncer de colo de útero, assim como detectar o Vírus Papiloma Humano (HPV) e alterações dos microrganismos vaginais através de exames ginecológicos. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização. Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. Esclarecemos também que, apenas os pesquisadores que assinam este documento, terão acesso aos dados das análises de seu exame, e todas as precauções serão tomadas para manter sigilo absoluto sobre seu nome e respectivos dados. A equipe de pesquisa se compromete em manter o sigilo dos dados coletados dos prontuários das pacientes por meio do Termo de Compromisso Para Uso de Dados em Arquivo. A participação na pesquisa envolve responder um questionário, que levará 05 minutos, em que serão feitas perguntas a respeito de sua saúde. Em seguida será realizado o exame de ginecologia chamado Papanicolau, que será realizado por uma médica da equipe, e consiste em realizar uma raspagem leve no interior da vagina. Existem riscos relacionados ao estudo, envolvendo um possível leve desconforto, tontura, mal-estar e constrangimento. Para minimizar estes riscos, o procedimento de coleta será realizado por profissionais capacitados, em ambiente reservado e sem a presença de demais pessoas, permitindo a assistência necessária durante e após o procedimento. Se eventualmente os riscos se concretizarem, por exemplo, nos casos de desconforto, tonturas ou mal-estar você será posicionada deitada em uma maca e será procedida a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal estar persista você será encaminhada à assistência médica. Outro risco possível é ficar constrangida com alguma pergunta que for feita. Para evitar constrangimentos, as perguntas serão feitas por profissionais da área da saúde, e você poderá deixar de responder as perguntas se quiser. A entrevista será realizada em sala isolada, minimizando os riscos de constrangimento. Para minimizar os riscos de quebra de sigilo o seu nome e números de documentos de identidade não serão divulgados em nenhum documento. No caso de os riscos se concretizarem o estudo será interrompido. Como benefícios

podemos relatar que o diagnóstico específico de presença de HPV, alterações de microrganismos vaginais são importantes para esclarecer queixas ginecológicas e, não são ofertados pelo SUS. Além disso, a relação desses exames com o laudo do exame citológico é um importante exame preventivo de câncer de colo do útero. Você será informada sobre o resultado do exame e será chamada para retorno médico e receberá tratamento caso for detectada alguma alteração no exame. 43 Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco anos, e depois deste período esses dados serão destruídos. A pesquisa será desenvolvida segundo as normas da Resolução no. 466 de 12 de dezembro de 2012. As informações e os resultados obtidos através das análises laboratoriais, poderão ser utilizados em congressos científicos ou publicados em revistas científicas, asseguramos que jamais revelaremos seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada a sua privacidade para que você não seja identificado. Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação! Este documento é elaborado em duas vias, que serão devidamente preenchidas, rubricadas todas as páginas e assinadas pelos pesquisadores e por você. Uma via deste documento ficará com os pesquisadores e a outra via ficará com você. O TCLE garante seus direitos como participante da pesquisa e nela está presente o contato e o endereço dos pesquisadores, bem como do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS para quaisquer dúvidas que você venha a ter futuramente.

Eu, (NOME COMPLETO) _____

declaro que li (ou tive este documento lido por uma pessoa de confiança) e entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa, bem como, tive todos os esclarecimentos que julguei necessários sobre a pesquisa repassados pelos pesquisadores. Portanto opto por livre e espontânea vontade em participar da pesquisa.

Assinatura: _____.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS: Tel e Fax - (049) 2049-3745 E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br

Endereço para correspondência: Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS, Universidade Federal da Fronteira Sul, Bloco da Biblioteca, Sala 310, 3º andar, Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul, CEP 89815-899, Chapecó, Santa Catarina, Brasil.

Local: _____

Data: ____/____/____

Assinatura: _____

Pesquisador Responsável: Gustavo Olszanski Acrani Contato do Pesquisador Responsável:
Coordenador do Projeto Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) Campus Passo Fundo -
RS (54) 3335-8527 e-mail: gustavo.acrani@uffs.edu.br

ANEXO B – INSTRUMENTO COLETA DE DADOS

QUESTÕES DE IDENTIFICAÇÃO E SOCIODEMOGRÁFICAS	
NQUES _____	
Nome do entrevistador	
Data	
Qual é o seu nome completo?	
Você tem telefone para contato? SE NÃO, PERGUNTE SOBRE TELEFONE PARA RECADO E ANOTE DE QUEM É	
Qual é a sua idade? _____ ANOS COMPLETOS	IDADE__ __
Você se considera de que raça/cor? (1) Branca (2) Preta (3) Parda (4) Indígena (5) Amarela	RACA__ __
Você sabe ler e escrever? (1) Sim. Quantos anos de estudo, completos e com aprovação, você tem? _____ anos (2) Não (3) Só assina o nome	LER__ ESCOLA __
Em relação à situação conjugal, você: (1) Tem companheiro (2) Não tem companheiro <i>SE SIM, Há quanto tempo está com o parceiro? _____ (tempo em meses)</i>	COMPAN _____ TEMPO _____
No total, quantas pessoas, incluindo você, moram na sua casa? _____	MORA__ _____
Você exerce atividade remunerada? (1) Sim/Em benefício. Trabalha em quê? _____ (2) Não/Aposentado/Pensionista	TRAB__ _____ TIPO TRABA B _____
Qual a renda total das pessoas que moram na sua casa, incluindo você?	RENDA _____
Qual sua religião? _____ (00) não tem	RELI _____
Você mora em Passo Fundo? (1) Sim. Qual o bairro? _____ (2) Não. Qual cidade? _____	RESID__ _____ _____

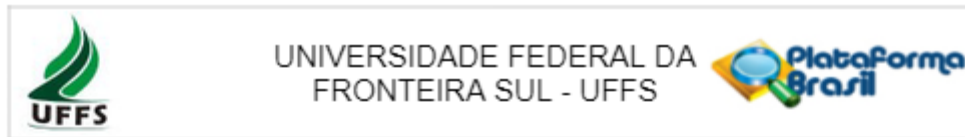
QUESTÕES SOBRE HÁBITOS DE VIDA E DE SAÚDE	
Você sabe seu peso? _____ Kg (0) Não sei	PESO __ __
Você sabe sua altura? _____ metros (0) Não sei	ALTURA __ __
Você fuma? ((1) Sim (2) Não/nunca fumou (3) Não/ex-fumante Tempo que fumou _____(anos)	FUMA__
Você tem o costume de consumir bebida alcoólica? ÀS VEZES/DE VEZ EM QUANDO, CONSIDERE "SIM" (1) Sim (2) Não	BEBE__
Qual foi a idade da sua primeira menstruação? _____ (00) não lembra	IDMENS T_____
Qual foi a idade da sua primeira relação sexual? _____ (00) não lembra	IDSEX _____
Você é sexualmente ativo? (1) Sim (2) Não <i>SE SIM,</i> Quantos parceiros sexuais você teve nos últimos 12 meses? _____ Você tem o hábito de usar preservativo/camisinha? (1) Sim, sempre (2) algumas vezes (3) Não. Você usa algum método para evitar a gravidez? (1) Sim. Qual? _____ (2) Não	ATIVO__ PARCE_ __ PRESER VA__ CONTRA __ METCON TRA__
Alguma vez na vida você fez exame ginecológico preventivo? (1) Sim (2) Não <i>SE SIM,</i> Quando fez seu último exame ginecológico preventivo? HÁ _____ MESES (00) mais de 3 anos Qual foi o resultado do seu último exame ginecológico preventivo? (1) Normal (2) Alterado (3) infecção (4) nunca fez/não lembra SE NÃO, por que você não fez o exame ginecológico preventivo? _____	PREV__ DATAPR EV__ ULTPRE V__ PQNPRE V__
Você já engravidou? (1) Sim (2) Não <i>SE SIM,</i>	GRAVID A__

<p>Quantas vezes ficou grávida? ___ __</p> <p>Qual foi a idade da primeira gravidez? ___ __ anos</p> <p>Você tem filhos? (1) Sim. Quantos? ___ __ filhos (2) Não</p> <p>Você fez parto normal? (1) Sim. Quantos? ___ __ (0) Não</p> <p>Você fez parto cesáreo? (1) Sim. Quantos? ___ __ (0) Não</p> <p>Teve alguma complicação nas gestações anteriores? (1) Sim. Qual _____ (2) Não</p>	NGRAVI _____ IGRAVI_ _____ FILHO__ _____ QFILHO_ _____ NORMAL _____ QNORM_ _____ CESAR _____ QCESAR _____ COMPLI C____ COMPAN T____
<p>Alguma vez algum médico lhe disse que você teve:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vaginose bacteriana? (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra • Candidíase? (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra • HPV – Papilomavirus Humano? (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra • Sífilis? (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra • Alguma outra infecção genital (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra <i>SE SIM, QUAL?</i> _____ • Diabetes? (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra • Câncer? (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra. <i>SE SIM, em que local do corpo?</i> _____ <p>Alguém da sua família já teve câncer (1) Sim (2) Não (3) Não sabe/não lembra. <i>SE SIM, em que local do corpo?</i> _____</p>	VB_____ CANDID A_____ HPV _____ SIFILIS_ _____ OUTRAI NFEC__ QUALINF _____ DIAB _____ CANCER _____ LCAN _____ CANFAM _____ LCANFA M____

<p>Você tomou a vacina para HPV? (1) Sim (2) Não. Por quê? _____</p>	VACIN__ _____ PQNVAC _____
EXAMES CLÍNICOS	
<p>Queixas: Dor: (1) Sim (2) Não Leucorréia: (1) Sim (2) Não Amenorréia: (1) Sim (2) Não Dispareunia: (1) Sim (2) Não Prurido (1) Sim (2) Não Outra queixa: (1) Sim (2) Não Qual? _____</p>	DOR _____ LEUCOR _____ AMEN__ _____ DISPAR _____ PRURID O____ OUTRAQ _____
<p>Exames clínicos: Whiff test: (1) Sim (2) Não <i>SE SIM</i>, resultado: (1) positivo (2) negativo Teste de Schiller/Teste com Lugol: (1) Sim (2) Não <i>SE SIM</i>, resultado: (1) positivo (2) negativo Teste pH vaginal: (1) Sim (2) Não <i>SE SIM</i>, resultado: (1) positivo (2) negativo</p>	WHIFF _____ RESWHI FF_____ TLUGOL _____ RESTLU GOL____ PH_____ _____ RESPH_
RESULTADOS DOS TESTES	
Exame citopatológico convencional (SUS-SISCAN): _____	RESCIT OSUS__
Exame citopatológico meio líquido: _____	RESCIT OLIQ__
PCR para HPV: (1) positivo (2) negativo	RESHPV _____
Tipagem de HPV: (1) 16 (2) 18 (3) 6/11 (4) outro	RESHPV TP____
Exame da microbiota vaginal (Gram): (1) Flora 1 (2) Flora 2 (3) Vaginose Bacteriana 7e 8 (4) Vaginose Bacteriana 9 e 10 (5) Candidíase (6) Vaginose citolítica (7) Vaginite aeróbia (8) Flora 1+PMN (9) outro _____	RESMIC ROB____
PCR para <i>Chlamydia trachomatis</i> (1) positivo (2) negativo	RESCHL A____

<p>Controle de cura (1) Sim (2) Não</p> <p><i>SE SIM:</i></p> <p>Exame da microbiota vaginal (Gram):</p> <p>(1) Flora 1 (2) Flora 2 (3) Vaginose Bacteriana 7e 8 (4) Vaginose Bacteriana 9 e 10 (5) Candidíase (6) Vaginose citólítica (7) Vaginite aeróbia (8) Flora 1+PMN (9) outro _____</p>	<p>CC___</p> <p>RESCCM</p> <p>ICROB__</p>
--	---

ANEXO C - PARECER SUBSTÂNCIADO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e diagnóstico molecular de Papiloma Vírus Humano (HPV) e infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) em mulheres em atendidas na Rede Básica de Saúde.

Pesquisador: GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 17632919.0.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

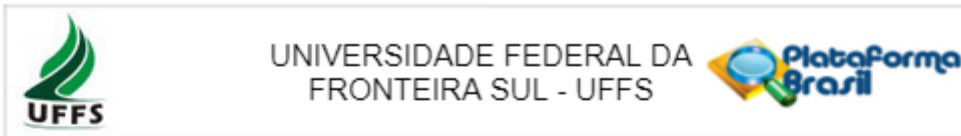
Número do Parecer: 4.541.838

Apresentação do Projeto:

Trata de encaminhamento de emenda ao projeto de pesquisa em que o pesquisador justifica:

Solicito a inclusão de coletas no Ambulatório do SUS do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), mesma instituição ligada ao Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), no qual as coletas já estão em andamento. Justifica-se a emenda uma vez que houve diminuição do fluxo de pacientes devido a pandemia do Sars-CoV-2, a fim de aumentar o número de amostra (n) e atingir os objetivos propostos pelo estudo. Dessa forma, nenhuma abordagem adicional quanto à coleta de dados clínicos, citopatológicos ou mudança/adição de outros pontos na metodologia serão necessários. Além disso, solicito inclusão dos seguintes participantes: FABRÍCIO PERIN (CPF: 815.208.320.87) discente do Curso de Mestrado em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Fronteira Sul; MARIA EDUARDA LEMES MORA (CPF: 084.276.289-27), discente do Curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo; PATRÍCIA MARCOLIN (CPF: 029.580.890-02), discente do Curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo. Salienta-se que a autorização do local de coleta de dados já consta nos documentos enviados originalmente ao CEP (nome do arquivo: termo_ciencia_HSVP). As alterações estão destacadas em amarelo no projeto completo (arquivo: Projeto_Microbiota_Emenda) e nos respectivos campos da Plataforma Brasil

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.541.838

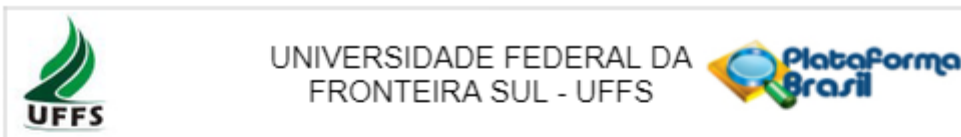
Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:Determinar a prevalência de alterações em exames citológicos de colo de útero, bem como sua relação com a infecção pelo Papiloma Vírus Humano(HPV) e outras ISTs em mulheres em idade reprodutiva e implementar um método diagnóstico molecular para HPV acessível às mulheres atendidas na Rede Básica de Saúde.**Objetivo Secundário:**Determinar a frequência de alterações patológicas em exames citológicos em mulheres em idade reprodutiva no município de Passo Fundo, RS.Determinar os fatores sociais, demográficos e de saúde associados às pacientes com alterações citológicas. Demonstrar a importância do meio líquido na preservação de amostras celulares para testes adicionais com sensibilidade adequada para detecção de HPV e outras ISTs, como testes de PCR convencional e PCR em Tempo, uma vez que o Sistema Único de Saúde não disponibiliza estas técnicas para a população atendida dentro do sistema.Padronizar ensaios de PCR convencional e em Tempo Real com sensibilidade adequada para detecção de HPV em amostras provenientes de exame citológico em meio líquido e demonstrar que a detecção do material genético viral pode ser uma técnica acessível paratriagem da população.Detectar o material genético viral dos sorotipos mais importantes do vírus: HPVs 16 e 18 (alto risco para câncer de colo deútero) e HPVs 6 e 11 (baixo risco) por PCR convencional e Tempo Real.Avaliar a correlação entre exames citopatológicos alterados e presença deHPV detectado por PCR convencional e Tempo Real. Detectar por método molecular (PCR) os microrganismos comumente associados à floravaginal, assim como os potenciais patógenos associados a vaginose bacteriana isolados no exame citológico. Estimar a frequência dos diferentes sorotipos de HPV na população estudada. Identificar os fatores sociodemográficos e clínicos associados ao diagnóstico positivo de HPV e de examecitológico alterado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:Os riscos deste projeto estão relacionados à coleta para o exame citológico, envolvendo possível desconforto, tontura, mal-estar e constrangimento.Para minimizar estes riscos o procedimento de coleta será realizado por profissionais capacitados, em ambiente reservado e sem a presença de demais pessoas, permitindo a assistência necessária durante e após o procedimento. Se eventualmente os riscos se concretizarem, por exemplo,nos casos de desconforto, tonturas ou mal-estar a paciente será posicionada deitada em uma maca e será procedida a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal-estar persista a paciente será encaminhada à assistência médica. Referente à aplicação do questionário, para evitar constrangimentos, estes serão executados por profissionais da área da saúde, sendo comunicado à paciente que esta poderá se abster de responder as perguntas. A entrevista será

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.541.838

realizada em sala isolada, minimizando os riscos de constrangimento. Ademais, os riscos deste projeto envolvem a divulgação de dados de identificação das pacientes. Para minimizar os riscos de quebra de sigilo os nomes e números de documentos de identidade das pacientes não serão divulgados em nenhum documento. Nomes e variáveis referentes a cada paciente serão substituídos por números no momento da divulgação dos resultados da pesquisa, de forma a não divulgar qualquer informação referente à amostra, que possa identificar os participantes. O arquivo contendo a planilha geral com os dados será manipulado em um único computador de uso pessoal e de responsabilidade da equipe de pesquisa. No caso de os riscos se concretizarem o estudo será interrompido. **Benefícios:** Como benefícios podemos relatar que o diagnóstico específico de presença de HPV e o laudo do exame citológico é um importante exame preventivo de câncer de colo do útero. A paciente incluída no estudo será informada especificamente em relação ao exato vírus que a infecta, o que permitirá ao médico um melhor tratamento, aliviando de maneira mais eficiente os sintomas deste paciente. Ademais, a pesquisa trará como benefício indireto aos participantes, avaliar a frequência de exames citopatológicos alterados, bem como sua relação com as infecções pelo Papiloma Vírus Humano, com as neoplasias de colo uterino e sua distribuição no município de Passo Fundo, RS. Dessa forma, será possível planejar e executar medidas de promoção e prevenção de saúde que mudem a incidência e o prognóstico da doença, de modo que todas as pacientes possuam uma melhor qualidade de vida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O pesquisador justifica a necessidade de incluir coletas de dados no Ambulatório do SUS do HSVP considerando a reduzida participação no período da pandemia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A emenda está aprovada

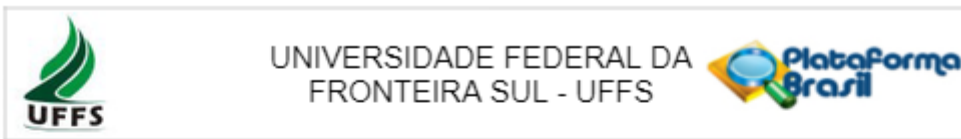
Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador(a)

A emenda está aprovada.

Fique atento(a) para as suas obrigações junto a este CEP ao longo da realização da sua pesquisa. Tenha em mente a Resolução CNS 466 de 12/12/2012, a Norma Operacional CNS 001/2013 e o Capítulo III da Resolução CNS 251/1997. A página do CEP/UFFS apresenta alguns pontos no documento "Deveres do Pesquisador".

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.541.838

Lembre-se que:

1. No prazo máximo de 6 meses, a contar da emissão deste parecer consubstanciado, deverá ser enviado um relatório parcial a este CEP (via NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil) referindo em que fase do projeto a pesquisa se encontra. Veja modelo na página do CEP/UFFS. Um novo relatório parcial deverá ser enviado a cada 6 meses, até que seja enviado o relatório final.
2. Qualquer alteração que ocorra no decorrer da execução do seu projeto e que não tenha sido prevista deve ser imediatamente comunicada ao CEP por meio de EMENDA, na Plataforma Brasil. O não cumprimento desta determinação acarretará na suspensão ética do seu projeto.
3. Ao final da pesquisa deverá ser encaminhado o relatório final por meio de NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil. Deverá ser anexado comprovação de publicização dos resultados. Veja modelo na página do CEP/UFFS.

Em caso de dúvida:

Contate o CEP/UFFS: (49) 2049-3745 (8:00 às 12:00 e 14:00 às 17:00) ou cep.uffs@uffs.edu.br;

Contate a Plataforma Brasil pelo telefone 136, opção 8 e opção 9, solicitando ao atendente suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

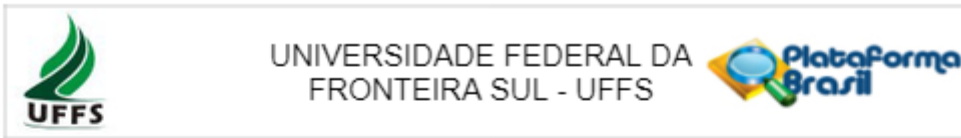
Contate a "central de suporte" da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_170265_1_E1.pdf	12/02/2021 16:30:29		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Microbiota_Emenda.docx	12/02/2021 16:29:28	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	termo_ciencia_hsvp.pdf	27/11/2019 20:45:13	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	TCUD.pdf	19/11/2019 16:16:29	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	carta_resposta.pdf	14/11/2019 15:20:25	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.541.838

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	14/11/2019 15:19:54	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_completo_novo.pdf	14/11/2019 15:19:36	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_nova.pdf	14/11/2019 15:18:53	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	ficha_rotina.pdf	10/07/2019 19:55:10	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	Instrumento_coleta.pdf	10/07/2019 19:54:45	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CHAPECO, 15 de Fevereiro de 2021

Assinado por:
Fabiane de Andrade Leite
(Coordenador(a))

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br

2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA

O projeto de pesquisa intitulado “Relação entre positividade de Papilomavírus Humano (HPV) e presença de Vaginose Bacteriana (VB) em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde (SUS)” tem como objetivo determinar a relação entre a positividade de HPV e a presença de Vaginose Bacteriana em mulheres atendidas no ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e no ambulatório SUS do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) que realizaram o exame de citologia cérvico-vaginal.

A escrita do projeto de pesquisa foi desenvolvida no componente curricular (CCR) de Trabalho de Curso I durante o primeiro semestre do ano letivo de 2022, sob orientação da Prof^ª. Dr^ª. Jossimara Poletini. O presente estudo é um recorte de uma pesquisa maior intitulada “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da UFFS sob parecer número 3.501.252 (Anexo C) e iniciada em dezembro de 2019.

A coleta de dados do projeto principal, do qual o trabalho em questão é derivado, teve início em dezembro de 2019, tendo sido coletadas cerca de 90 amostras entre o período de dezembro de 2019 à novembro de 2021. Por conta da pandemia da COVID-19 as coletas foram interrompidas diversas vezes conforme o padrão epidemiológico da cidade de Passo Fundo, RS. A contribuição da presente autora com a pesquisa teve início em novembro de 2021, onde a mesma passou a fazer parte do grupo de pesquisa. No período de novembro de 2021 à dezembro de 2022, data em que as coletas foram finalizadas, 106 amostras haviam sido contabilizadas, totalizando 196. A respeito dos critérios de inclusão a amostra foi constituída com mulheres com idade igual ou superior a 18 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal de rotina. Excluiu-se a necessidade de estar em abstinência sexual por 72 horas e de não ter utilizado antibiótico nos últimos 40 dias. Foram excluídas pacientes cujas amostras não foram adequadas para análise. Desse modo, a amostra final foi composta de 181 participantes.

A coleta dos dados e exame citológico seguiu a sequência de três momentos: assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pela paciente (ANEXO A); entrevista da paciente pela equipe de pesquisa e coleta das informações através do questionário desenvolvido para o estudo (ANEXO B); coleta do material endocervical e vaginal, aplicação dos testes de

Schiller, Whiff e pH vaginal por parte da equipe médica dos ambulatórios. Após a coleta, as amostras foram enviadas para análise no Laboratório de Microbiologia da UFFS.

Para pesquisa de HPV foi empregada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando os iniciadores MY09 e MY11, que flanqueiam uma região do gene L1 do HPV, e que gera um produto amplificado de 450pb, seguido de Nested-PCR com os primers e GP5+/GP6+, que flanqueiam um fragmento interno à região anterior, de 150 pares de base, para ampliar a sensibilidade da reação. A eficiência das amplificações foi monitorada pela eletroforese da reação em gel de agarose 1,5% preparada em tampão 1X TBE (Tris/Ácido Bórico/EDTA) e corada com Brometo de Etídio. O tamanho dos produtos amplificados foi comparado com o padrão de 100pb e posteriormente fotografados sob transiluminação ultravioleta. Optou-se por não realizar a técnica de PCR-multiplex para detecção dos subtipos virais anteriormente descritas na metodologia pois não houve interesse em analisar tais resultados. As lâminas de esfregaço vaginal foram analisadas com o exame microscópico corado pela técnica de Gram. Para essa análise, as amostras foram coradas seguindo o protocolo de coloração de Gram proposto pelo Ministério da Saúde. Todos os passos e protocolos seguidos para as análises foram descritas anteriormente no item 2.1.7.6 do presente projeto.

As variáveis consideradas independentes para o presente estudo foram questões sociodemográficas (faixa etária e cor de pele autorreferida), comportamentais (tabagismo, etilismo, se é sexualmente ativo, número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses e método contraceptivo), clínicas (queixa de leucorreia, e queixa de odor) e de saúde (antecedente de VB e HPV detectado por PCR). A variável dependente do estudo é a presença de Vaginose Bacteriana.

Os dados obtidos foram duplamente digitados e validados no banco de dados baseado no questionário do estudo (ANEXO B) criado no programa EpiData versão 3.1 de distribuição livre e, em seguida, transferidos ao programa estatístico PSPP versão 3.03 também de distribuição livre realização das análises estatísticas. A análise estatística dos dados foi realizada entre os meses de fevereiro, março, abril e maio de 2023. Optou-se por não realizar o cálculo de Odds Ration como previsto na metodologia do Projeto de Curso pois observou-se que o mesmo não era condizente com o tipo de estudo realizado. A análise estatística consistiu no método de distribuição de frequências. Para realização da relação entre variáveis dependentes e variáveis independentes foi realizado o Teste de Qui-Quadrado, considerando o nível de significância estatística de 5%.

A partir dos resultados obtidos pela análise dos dados, durante o CCR de Trabalho de Curso III no primeiro semestre de 2023, um artigo científico foi redigido conforme

recomendações da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, escolhida para submissão do artigo (ANEXO D).

ANEXO D - INSTRUÇÕES PARA AUTORES: REVISTA BRASILEIRA DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

Instruções aos autores

O material enviado para análise não pode ter sido submetido simultaneamente à publicação em outras revistas nem publicado anteriormente. Na seleção dos manuscritos para publicação, são avaliadas originalidade, relevância do tema, qualidade da metodologia utilizada, sua atualização e se são apropriados e interessantes aos leitores, além da adequação às normas editoriais adotadas pela revista.

Avaliação dos manuscritos

Os manuscritos submetidos à revista, em língua inglesa, são recebidos pelo escritório editorial, que realiza a conferência das documentações obrigatórias, bem como analisa se as normas editoriais contidas nas instruções aos autores foram cumpridas. Se o processo estiver em conformidade, o manuscrito será enviado ao EIC, que fará uma avaliação inicial de mérito do manuscrito submetido. Se o EIC concluir que o trabalho está em condições científicas e técnicas favoráveis, o manuscrito será encaminhado aos editores associados, que, por sua vez, designarão pareceristas (processo double mind) para avaliar o trabalho. Os pareceres dos revisores e as instruções do editor serão enviados para os autores para que eles tomem conhecimento da decisão dos editores, das críticas e das eventuais alterações a serem introduzidas. Os autores devem reenviar o texto com as modificações sugeridas no prazo solicitado. Ao ressubmeter o manuscrito, as correções solicitadas devem estar em destaque no texto (marcadas em amarelo). Em casos de não concordância com as sugestões, os autores devem incluir as justificativas e observações nos balões de comentários. Os autores devem ser assertivos e pontuais com a inquirição, inclusive sustentando a hipótese com referências. **IMPORTANTE!** Os autores devem cumprir os prazos, visto que o não atendimento resultará no atraso de sua publicação ou até mesmo no arquivamento do processo. Em qualquer ponto do processo de análise e edição do texto, os autores podem solicitar a sustação do processo e a retirada do trabalho, exceto quando o manuscrito estiver aceito para publicação. Os conceitos e as declarações contidos nos artigos são de responsabilidade dos autores.

Preparando um manuscrito para submissão

Documentos obrigatórios para submissão

Ao submeter um manuscrito à RBGO, os documentos listados abaixo devem ser anexados na plataforma de submissão ScholarOne. Cabe ressaltar que o não encaminhamento ou a

documentação incompleta resultará no cancelamento do processo de submissão. Documentação obrigatória para a submissão on-line:

- Autorização de transferência dos direitos autorais assinada por todos os autores (escaneada e anexada) – Modelo;
- Em conformidade com o capítulo XII.2 da Resolução CNS nº 466/2012, no Brasil, pesquisas envolvendo seres humanos necessitam informar o número do registro referente ao Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) ou o número do parecer de aprovação da pesquisa (CEP/Conep) no Comitê de Ética. No caso de manuscritos envolvendo experimentação em animais, deve-se indicar se ela está em conformidade com a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais no Brasil, informando o número do registro referente ao parecer de aprovação da pesquisa no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Concea). Manuscritos internacionais devem apresentar a documentação ética local para seguirem no processo de submissão;
- Carta de apresentação (cover letter): deverá ser redigida com o propósito de justificar a publicação. Devem-se identificar os autores com o respectivo Open Researcher and Contributor Identifier (ORCID, a instituição de origem dos autores e a intenção de publicação. Deve-se adicionar a qualificação/titulação do autor correspondente.

Página de título:

- Título do manuscrito, no idioma inglês, com no máximo 18 palavras;
- Nome completo, sem abreviações, dos autores (incluir no máximo 8 autores por artigo, exceto no caso de estudos multicêntricos, consensos, guidelines e position statements de sociedades ou grupos de pesquisa);
- Autor correspondente (nome completo e e-mail para contato);
- Afiliação institucional de cada autor. Exemplo: Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil;
- Conflitos de interesse: os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, seja ele político, econômico, de recursos para execução da pesquisa ou de propriedade intelectual;
- Agradecimentos: os agradecimentos ficam restritos às pessoas e instituições que contribuíram de maneira relevante para o desenvolvimento da pesquisa. Qualquer apoio financeiro, seja ele oriundo de órgãos de fomento ou empresas privadas, deve ser mencionado

na seção Agradecimentos. A RBGO, para os autores brasileiros, solicita que os financiamentos das agências Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (Capes), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado (Ex (Fapesp), entre outras, sejam obrigatoriamente mencionados com o número do processo da pesquisa ou de bolsas concedidas;

- **Contribuições:** conforme os critérios de autoria científica do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), o crédito de autoria deve ser fundamentado em três condições que devem ser atendidas integralmente: (1) contribuições substanciais para concepção e delineamento, coleta de dados ou análise e interpretação dos dados; (2) redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; e (3) aprovação final da versão a ser publicada.

Manuscrito

A Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (RBGO) publica as seguintes categorias de manuscritos:

- **Artigos Originais:** Trabalhos completos prospectivos, experimentais ou retrospectivos. Relatos de Casos: São de interesse se bem documentados do ponto de vista clínico e laboratorial e devem conter os aspectos novos ou inesperados em relação aos casos já publicados. Os autores deverão indicar essa informação na carta de encaminhamento. O texto das seções Introdução e Discussão deve ser baseado em revisão bibliográfica atualizada.
- **Artigos de Revisão:** Contribuições espontâneas são aceitas, incluindo revisões integrativas, de escopo ou sistemáticas com ou sem metanálises. Revisões narrativas, pela questionável evidência científica que representam, somente serão aceitas excepcionalmente. Devem ser descritos os métodos e procedimentos adotados para a obtenção dos dados inseridos no texto, que deve ter como base referências recentes, inclusive do ano em curso. Tratando-se de tema ainda sujeito a controvérsias, a revisão deve discutir as tendências e as linhas de investigação em curso. Além do texto da revisão, devem ser apresentados resumo e conclusões.
- **Cartas ao Editor:** Deve versar sobre matéria editorial ou não, mas com apresentação de informações relevantes ao leitor. As cartas podem ser resumidas pela editoria, mas com manutenção dos pontos principais. No caso de críticas ou comentários a trabalhos publicados, a carta é enviada aos autores do artigo citado para que sua resposta possa ser publicada simultaneamente. Todos os dados apresentados na carta devem ser totalmente citáveis e citados na lista de referência de apoio (dados não publicados não devem ser descritos na carta).
- **Editorial:** Somente a convite do editor.

OBS Manuscritos contendo resultados de pesquisa clínica ou experimental original e revisões sistemáticas têm prioridade para publicação.

Estrutura do manuscrito

Título

Ao escrever um artigo científico, o pesquisador deve atentar para a elaboração do título do manuscrito. O título é o cartão de visitas de qualquer publicação. Deve ser elaborado com muito cuidado e de preferência ser escrito apenas após a finalização do artigo. Um bom título é aquele que descreve adequadamente o conteúdo do manuscrito. Geralmente, ele não é uma frase, pois não contém o sujeito nem verbos e objetos arranjados. **Devem-se evitar nos títulos abreviações, fórmulas químicas, excesso de adjetivos, nome de cidades e instituições, entre outros.** Os títulos dos manuscritos submetidos à RBGO devem conter, no máximo, 18 palavras.

Resumo

O resumo deve fornecer o contexto ou a base para o estudo e deve estabelecer os objetivos do estudo, os procedimentos básicos da metodologia empregada, os principais resultados e as principais conclusões. Deve enfatizar aspectos novos e importantes do estudo ou das observações. Pelo fato de os resumos serem a única parte substantiva do artigo indexada em muitas bases de dados eletrônicas, os autores devem cuidar para que os resumos reflitam o conteúdo do artigo de modo preciso e destacar a contribuição/inação da pesquisa para o tema. No resumo, não devem ser utilizadas abreviações, símbolos e referências. No caso de artigos originais oriundos de ensaios clínicos, os autores devem informar o número de registro no final do resumo.

1. Resumo: para artigo original

Os resumos dos artigos originais submetidos à RBGO devem ser, obrigatoriamente, estruturados em quatro seções e conter no máximo 250 palavras:

Objetivo: Retrospectiva sobre o tema e a questão formulada pelo investigador.

Métodos: Como foi feito; o método empregado, incluindo o material usado para alcançar o objetivo. Resultados: O que foi encontrado; o achado principal e, se necessário, os achados secundários.

Conclusão: O que foi concluído; a resposta para a questão formulada.

OBSERVAÇÃO: Um resumo em língua portuguesa poderá ser adicionado, opcionalmente, pelos autores.

Palavras-chave

As palavras-chave de um trabalho científico indicam o conteúdo temático do texto que representam. Entre os objetivos dos termos mencionados, consideram-se como principais a

identificação do conteúdo temático, a indexação do trabalho nas bases de dados e a rápida localização e recuperação do conteúdo. Os sistemas de palavras-chave utilizados pela RBGO são o DeCS (Descritores em Ciências da Saúde –Indexador Lilacs) e o MeSH (Medical Subject Headings – Indexador MEDLINE-PubMed). Nessas plataformas, devem ser escolhidos cinco descritores que representem o trabalho.

Corpo do manuscrito

Os manuscritos submetidos à RBGO devem possuir no máximo 4.000 palavras. As tabelas, quadros e figuras da seção Resultados, bem como as referências, não são contabilizados.

Introdução

É a parte do artigo que prepara o leitor para entender a investigação e a justificativa de sua realização. Nela deve constar o estado atual do conhecimento do tema, oferecendo somente referências estritamente pertinentes e atualizadas. O conteúdo a ser informado nessa seção deve fornecer contexto ou base para o estudo, ou seja, a natureza do problema e a sua importância, e declarar o propósito específico, o objetivo de pesquisa ou a hipótese testada no estudo ou observação. O objetivo da pesquisa é a parte final da introdução e tanto os objetivos principais quanto os secundários devem estar claros e as eventuais análises em um subgrupo pré-especificados devem ser descritas. Na introdução não devem ser incluídos dados ou conclusões do trabalho que está sendo relatado.

Métodos

A seção Métodos de um trabalho científico tem como objetivo apresentar o estudo de forma clara e concisa para que seja compreensível e possa ser replicado. Ela deve informar como, quando e onde o estudo foi realizado. Método compreende o material e os procedimentos adotados na pesquisa, de modo a poder responder à questão central de investigação. A seção Métodos deve ser estruturada iniciando pelo tipo de delineamento do estudo, para mostrar se ele é apropriado para alcançar o objetivo da investigação; o cenário da pesquisa (o local e a época em que ela se desenrolou); a coleta de dados; a intervenção a ser feita e avaliada (se houver) e também a intervenção alternativa; os métodos estatísticos empregados e os aspectos éticos de investigação.

OBSERVAÇÃO: A RBGO aderiu à iniciativa do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) e da Rede EQUATOR, destinadas ao aperfeiçoamento da apresentação dos resultados de pesquisas. Consulte as guias interacionais relacionadas:

Estudos observacionais em epidemiologia: <http://www.equator-network.org/reporting-guidelines/strobe/>

Resultados

O propósito da seção Resultados é mostrar o que foi encontrado na pesquisa. São os dados originais obtidos e sintetizados pelo autor com o intuito de fornecer resposta à questão que motivou a investigação. Os resultados devem ser apresentados em sequência lógica no texto, nas tabelas e nas ilustrações, mencionando primeiro os achados mais importantes. Deve-se indicar, sempre que apropriado, a significância estatística dos resultados. Não devem ser repetidas no texto todas as informações das tabelas ou ilustrações, devendo-se enfatizar ou resumir apenas as observações importantes. Materiais adicionais ou suplementares e detalhes técnicos podem ser colocados em um apêndice, no qual estarão acessíveis por meio de um link, mas não interromperão o fluxo do texto. Quando os dados são resumidos na seção Resultado, devem-se apresentar os resultados numéricos não apenas em valores derivados (por exemplo, percentuais), mas também em valores absolutos, a partir dos quais os derivados foram calculados, e especificar os métodos estatísticos usados para analisá-los. Devem-se usar apenas as tabelas e figuras necessárias para explicar o argumento do trabalho e para avaliar o seu embasamento. Quando for cientificamente apropriado, as análises dos dados com variáveis tais como idade e sexo devem ser incluídas. O limite de no máximo cinco tabelas, cinco quadros ou cinco figuras não deve ser ultrapassado. As tabelas, quadros e/ou figuras devem ser inclusas no corpo do manuscrito e não contabilizam o limite solicitado de 4.000 palavras. Para esclarecimentos sobre a resolução das figuras, por gentileza, acesse: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/pub/filespec-images/>.

Discussão

Na seção Discussão, devem-se enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões deles derivadas. Os dados ou outras informações apresentadas nas seções Introdução ou Resultados não devem ser repetidos detalhadamente. Para estudos experimentais, é útil iniciar a discussão resumindo brevemente os principais achados, comparar e contrastar os resultados com outros estudos relevantes, declarar as limitações do estudo e explorar as implicações dos achados para pesquisas futuras e para a prática clínica. Deve-se evitar alegar precedência e aludir a trabalhos que não estejam completos, bem como não discutir dados que não sejam diretamente relacionados aos resultados da pesquisa apresentada. Podem ser propostas novas hipóteses, quando justificável, mas elas devem ser qualificadas claramente como tal. No último parágrafo da seção Discussão, deve contar a informação do trabalho que contribui relativamente para um novo conhecimento.

Conclusão

A seção Conclusão tem por função relacionar as conclusões com os objetivos do estudo, mas os autores devem evitar afirmações sem embasamento e conclusões que não tenham sustentação adequada pelos seus dados. Em especial, os autores devem evitar fazer afirmações sobre benefícios econômicos e custos, a menos que seu original inclua análises econômicas e dados apropriados.

Referências

Para os manuscritos submetidos à RBGO, os autores devem numerar as referências por ordem de entrada no trabalho e usar esses números para as citações no texto. Deve-se evitar um número excessivo de referências, selecionando as mais relevantes para cada afirmação e dando preferência para os trabalhos mais recentes. Não empregar citações de difícil acesso, como resumos de trabalhos apresentados em congressos, teses ou publicações de circulação restrita (não indexados). Citar as referências primárias e convencionais (artigos em periódicos científicos e os livros-textos). Referências do tipo “observações não publicadas” e “comunicação pessoal” não devem ser empregadas. Publicações dos autores (autocitação) devem ser empregadas apenas se houver necessidade clara e forem relacionadas ao tema. Nesse caso, incluir entre as referências bibliográficas apenas trabalhos originais publicados em periódicos regulares (não citar capítulos ou revisões). O número de referências deve ser limitado a 35, exceto para artigos de revisão. As citações das referências devem ser feitas após o ponto, em sobrescrito, sem espaço após a última palavra (citação sequencial e numérica). Os autores são responsáveis pela exatidão dos dados constantes das referências. Para formatar as suas referências, consulte a Vancouver: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

POSITIVIDADE DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) E VAGINOSE BACTERIANA (VB) EM MULHERES ATENDIDAS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)

Maria Luiza Corá Fetter¹

Jossimara Polettini²

¹ Discente na Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, RS, Brasil.

² Docente na Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, RS, Brasil.

Autor correspondente: Maria Luiza Corá Fetter, Rua Paissandu, nº 1932, apto 1503, Centro. CEP 99010-102, Passo Fundo, RS, Brasil (email: mlfetter1911@gmail.com).

Resumo

Objetivos: Alterações da microbiota vaginal podem levar a consequências negativas à saúde feminina. Estudos recentes têm demonstrado que a VB pode atuar como fator importante na aquisição e persistência da infecção pelo HPV e assim o possível desenvolvimento de lesões neoplásicas. O objetivo do estudo foi determinar as características sociodemográficas, comportamentais e clínicas da população estudada, prevalência de HPV e VB e investigar uma possível relação entre ambas. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal realizado em um serviço de Ginecologia na cidade de Passo Fundo, RS. A pesquisa para HPV foi realizada por meio da técnica de PCR em amostras de conteúdo cérvico vaginal de mulheres submetidas ao exame de Papanicolau. A presença de VB foi identificada através da análise de lâminas de esfregaço vaginal coradas pelo método de GRAM. Os dados sociodemográficos, comportamentais, clínicos e de saúde foram coletados por meio de um questionário padronizado. A análise estatística consistiu no método de distribuição de frequências. As relações entre variáveis foram obtidas por meio do teste de X^2 ou Teste Exato de Fischer, considerando um nível de significância de 5%. **Resultados:** Foram incluídas 181 mulheres, predominando pacientes com idade maior ou igual a 46 anos e idade média de $42,7 \pm 10,9$ anos, brancas, com algum grau de ensino fundamental cursado, exercendo atividade remunerada e não residentes de Passo Fundo, RS. A VB foi relacionada significativamente com as queixas clínicas de leucorreia e odor e com o método contraceptivo utilizado ($p < 0,05$). A prevalência de HPV foi de 29,8%, enquanto de VB foi de 24,9%. Não houve diferença significativa ao relacionar HPV e VB. **Conclusão:** A prevalência de HPV e VB é alta, mas não há uma relação significativa de co-infecção na população estudada, e mulheres com queixas de leucorreia e odor e que fazem uso de anticoncepcional injetável devem ser observadas pois apresentam maior positividade de VB.

Palavras-chave: Papilomavírus Humano; Vaginose Bacteriana; Reação em Cadeia de Polimerase; Neoplasias do Colo do Útero; Teste de Papanicolau.

Abstract

Objectives: Changes in the vaginal microbiota can lead to negative consequences for women's health. Recent studies have shown that BV can act as an important factor in the acquisition and persistence of HPV infection and thus the possible development of neoplastic lesions. The objective of the study was to determine the sociodemographic, behavioral and clinical characteristics of the studied population, prevalence of HPV and BV and to investigate a possible relationship between both. **Methods:** This is a cross-sectional study carried out in a Gynecology service in the city of Passo Fundo, RS. The search for HPV was carried out using the PCR technique in samples of the cervix-vaginal content of women submitted to the Pap smear. The presence of BV was identified through the analysis of vaginal smear slides stained by the GRAM method. Sociodemographic, behavioral, clinical and health data were collected using a standardized questionnaire. Statistical analysis consisted of the frequency distribution method. Relationships between variables were obtained using the X² test or Fisher's Exact Test, considering a significance level of 5%. **Results:** 181 women were included, predominantly patients aged greater than or equal to 46 years and mean age of 42.7±10.9 years, white, with some degree of elementary school, exercising paid activity and not residents of Passo Fundo, LOL. BV was significantly related to clinical complaints of leukorrhea and odor and to the contraceptive method used ($p < 0.05$). The prevalence of HPV was 29.8%, while BV was 24.9%. There was no significant difference when relating HPV and BV. **Conclusion:** The prevalence of HPV and BV is high, but there is no significant co-infection relationship in the studied population, and women with complaints of leukorrhea and odor and who use injectable contraceptives should be observed because they have a higher BV positivity.

Keywords: Human Papillomavirus; Bacterial Vaginosis; Polymerase Chain Reaction; Uterine Cervical Neoplasms; Papanicolaou Test.

Introdução

O câncer de colo uterino é a quarta neoplasia mais comum entre as mulheres do mundo todo e a terceira mais comum entre as mulheres no Brasil.^{1,2} Sabe-se também que o Papilomavírus Humano (HPV) é a Infecção Sexualmente Transmissível (IST) mais prevalente em mulheres jovens adultas e que tanto a infecção, como a coinfeção, pelos subtipos virais de alto risco oncogênico estão relacionadas com o desenvolvimento das lesões pré-malignas, chamadas neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC), e o câncer cervical.^{3,4,5} Os subtipos virais 16, 18, 33, 45, 52 e 58 considerados de alto risco (*high-risk* HR-HPV) são responsáveis por cerca de 90% dos casos de câncer cervical, e, portanto, foram previamente classificados como agentes carcinogênicos.⁶

Importante ressaltar que apenas uma porcentagem das mulheres infectadas pelo HPV irá desenvolver câncer de colo de útero, indicando assim a presença de outros fatores atuantes no desenvolvimento da carcinogênese.⁷ Tabagismo, uso de contraceptivos hormonais, múltiplos parceiros sexuais, sexarca precoce e imunodeficiência são fatores de risco conhecidos na patogênese desse tipo de neoplasia.⁸ No entanto, publicações recentes têm demonstrado o papel da microbiota vaginal no processo de aquisição e persistência do HPV, bem como no desenvolvimento das lesões pré-malignas e malignas.^{7,9}

A microbiota do trato genital inferior feminino é composta por uma diversidade de microrganismos, sendo composta predominantemente por espécies de *Lactobacillus spp.*¹⁰ Essas espécies tem papel crucial na manutenção do pH vaginal, atuando através da inibição do crescimento de várias outras espécies de bactérias potencialmente nocivas à mucosa vaginal e cervical. A depleção dos *Lactobacillus spp.* presentes na microbiota vaginal em detrimento do aumento de inúmeras outras espécies de bactérias, em sua grande maioria anaeróbicas, como a *Gardnerella vaginalis*, caracterizam a Vaginose Bacteriana (VB).¹¹ A VB é uma doença assintomática em cerca de 50% das pacientes, e, quando sintomática é caracterizada por leucorreia associada da presença de odor fétido.¹²

Até hoje, os estudos não encontraram consenso em relação à temporalidade entre a infecção pelo HPV e a VB, sendo difícil afirmar quem se desenvolve primeiro e o binômio causa-consequência. Sabe-se, no entanto, que o HPV pode favorecer alterações no meio vaginal que facilitam o desenvolvimento da VB, assim como, a VB, por meio da alteração dos níveis de citocinas/quimiocinas e proteínas antimicrobianas, está relacionada com um aumento da susceptibilidade da aquisição e da permanência da infecção do pelo HPV.^{13,14}

À vista das colocações acima, o objetivo deste estudo é determinar se existe uma relação significativa entre a positividade de HPV e a presença de VB em mulheres atendidas em um

ambulatório de ginecologia do Sistema Único de Saúde (SUS), uma vez que essa vinculação, embora de relação temporal desconhecida, pode atuar como cofator no desenvolvimento do câncer cervical. Além disso, tem-se o intuito de determinar a prevalência geral da infecção por HPV e VB bem como identificar quais características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e de saúde estão relacionadas com a maior presença de VB.

Métodos

Trata-se de um estudo epidemiológico com delineamento transversal, recorte de uma pesquisa intitulada “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST’s) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde” conduzido entre agosto de 2022 e junho de 2023 no ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) na cidade de Passo Fundo, RS. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS sob parecer número 3.736.932, atendendo à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

Amostras

A amostra, não probabilística, composta por conveniência, foi constituída com mulheres com idade igual ou superior a 18 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal de rotina. Foram excluídas pacientes cujas amostras não foram adequadas para análise. As pacientes que concordaram em participar da pesquisa foram informadas dos seus objetivos e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Após assinatura do TCLE as pacientes responderam a um questionário proposto e em seguida foram examinadas de acordo com o protocolo ginecológico padrão e submetidas ao exame especular com coleta da amostra cérvico-vaginal. Para a realização do exame especular, empregou-se o espéculo bi-valvo de Collins esterilizado. As amostras cérvico-vaginais foram obtidas pela técnica de citologia em meio líquido CellPreserv® (Kolplast) e processadas no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, seguindo protocolo padrão do sistema automatizado ThinPrep 2000 system LBC slide, com uso de lâminas CellPreserv. As amostras foram classificadas de acordo com a nomenclatura brasileira para laudos cervicais, adaptada do Sistema de Bethesda de 2014.

Extração de DNA

Previamente à preparação das lâminas para avaliação citológica em meio líquido, 1mL do conteúdo coletado foi separado em microtubo para posterior extração de DNA e pesquisa de DNA-HPV, seguindo descrição a seguir. O volume de amostra separado do meio líquido foi submetido à centrifugação e coleta do *pellet* celular com subsequente extração de DNA total utilizando-se os reagentes comerciais de purificação de DNA (Illustra DNA tissue and cells genomicPrep, GE Healthcare) seguindo as instruções do fabricante. A extração do DNA das amostras estudadas foi verificada pela amplificação do gene constitutivo da β -globina.

Detecção de HPV por PCR

Para pesquisa de HPV foi empregada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Para cada amostra foram realizadas duas reações, uma delas utilizando os iniciadores MY09 e MY11, e a outra utilizando os iniciadores GP5+/GP6+. Para a primeira reação foram utilizados 2,5 uL do tampão 10x (Kit de Ludwig), 1,0 uL de $MgCl_2$ 25Mm, 0,5 uL de dNTP 20Mm, 1,25 uL de cada iniciador (MY09 e MY11), 0,2 uL de Taq DNA polimerase e água estéril q.s.p. O volume final da reação foi de 25 uL, sendo 2 uL de amostra de DNA extraído. Para essa reação foi utilizado o seguinte protocolo de amplificação: 95°C durante 3 minutos e 95°C durante 1 min para desnaturação, 48°C durante 1 minuto para anelamento dos iniciadores e 72°C durante 2 minuto para polimerização, seguido de mais 39 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 5 minutos e resfriamento a 4°C. O tamanho de fragmento obtido com a reação foi de 450pb. A segunda reação foi realizada com volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix (Promega); 0,6 uL de cada iniciador (GP05+ e GP06+) na concentração de 10uM, 2 uL de cada amostra (produto PCR reação MY09/MY11) e água estéril q.s.p. As incubações foram realizadas em termociclador com os parâmetros de 95°C durante 5 minutos e 95°C durante 45 segundos para desnaturação, 47,7°C durante 45 segundos para anelamento dos iniciadores e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 44 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C. O tamanho de fragmento obtido com a reação foi de 150pb.

Os controles positivos das reações, ou seja, DNA extraído de células HeLa, e os respectivos primers para as PCRs foram gentilmente cedidas pela Dra. Márcia Guimarães da Silva, do Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-Fetal, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP. Em todas as reações realizadas foi utilizado um controle negativo, através da substituição do ácido nucléico por água estéril, e um controle positivo contendo DNA de HPV extraído de células HeLa. A eficiência das amplificações foi monitorada pela

eletroforese da reação em gel de agarose 1,5% preparada em tampão 1X TBE (Tris/Ácido Bórico/EDTA) e corada com Brometo de Etídio. O tamanho dos produtos amplificados foi comparado com o padrão de 100 pb e posteriormente fotografados sob transiluminação ultravioleta.

Determinação de Vaginose Bacteriana pelo método de GRAM

Adicionalmente às amostras cérvico-vaginais, foram coletadas amostras do conteúdo do terço médio vaginal com uso de *swab* estéril, cujo conteúdo foi disposto em lâminas de vidro para microscopia, empregando-se o método de coloração de Gram. Inicialmente as lâminas foram cobertas com solução de violeta por 60 segundos. Feito isso, as lâminas foram enxaguadas com água destilada e cobertas por lugol por mais 60 segundos. Após isso, um novo enxague com água destilada foi realizado e foi aplicada uma solução álcool-acetona para descoloração, que agiu 1 minuto. O último passo da técnica de coloração consistiu-se em enxaguar novamente as lâminas com água destilada e aplicação da fucsina, que agiu por 30 segundos e um novo enxague foi realizado. Após a coloração, as lâminas foram lidas em microscópio óptico no qual foi identificado o padrão de microbiota por meio da análise quanto à morfologia, coloração e quantidade de bactérias nos esfregaços vaginais e foi atribuído escores, variando de 0 a 10, seguindo os critérios de Nugent.¹⁵ Esse escore classifica a microbiota entre normal (escore de 0 a 3), intermediário (escore de 4 a 6) ou Vaginose Bacteriana (escore maior que 7).

Análise estatística

As variáveis consideradas independentes para o presente estudo foram a presença de HPV detectada por PCR convencional, questões sociodemográficas (faixa etária e cor da pele), comportamentais (tabagismo, etilismo, se é sexualmente ativo, número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses e método contraceptivo), clínicas (queixa de leucorreia e queixa de odor) e de saúde (antecedente de VB e infecção por HPV pela técnica de PCR). A variável dependente do estudo é a presença de VB.

O processamento dos dados obtidos nos questionários e nas análises laboratoriais foi realizado a partir da criação de um banco de dados duplamente digitado no software EpiData versão 3.1, de distribuição livre. A análise estatística descritiva foi realizada no software PSPP versão 1.4.1, também de distribuição livre, e, consistiu no método de distribuição de frequências. Para realização da relação entre variáveis dependentes e variáveis independentes foi realizado o Teste de Qui-Quadrado, considerando o nível de significância estatística de 5%.

Resultados

Ao final do estudo, 196 mulheres aceitaram participar da pesquisa e tiveram a amostra cérvico-vaginal coletada. Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão anteriormente citados, 15 mulheres foram excluídas. Assim, o tamanho amostral resultante para este estudo consistiu em 181 mulheres.

Observou-se um predomínio de pacientes com idade maior ou igual a 46 anos (44,8%), com idade média de $42,7 \pm 10,9$ anos, de cor branca (65%), com algum grau de ensino fundamental cursado (49,1%) exercendo atividade remunerada (59,1%) e residentes de outros municípios do estado do Rio Grande do Sul que não a cidade de Passo Fundo (58,6%). Tal categorização pode ser observada conforme exposto na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica de uma amostra de mulheres atendidas no ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) na cidade de Passo Fundo, RS, entre dezembro de 2019 e dezembro de 2022. (n=181)

Variáveis	n	%
Faixa etária		
Entre 18 e 35 anos	54	29,8%
Entre 36 anos a 45 anos	46	25,4%
Maior ou igual a 46 anos	81	44,8%
Cor da pele autorreferida (n=180)		
Branca	117	65,0%
Outras*	63	35,0%
Escolaridade (n=167)		
Analfabeto	2	1,2%
Ensino fundamental	82	49,1%
Ensino médio	58	34,7%
Ensino superior	25	15%
Atividade remunerada		
Sim	107	59,1%
Não/Aposentado/Pensionista	74	40,9%
Município de residência		
Passo Fundo	75	41,4%
Outra cidade	106	58,6%

*Outras = parda, negra, amarela, indígena;

A Tabela 2 traz informações clínicas, comportamentais e de saúde da amostra estudada. Nota-se uma maior prevalência de mulheres que não fumam ou são ex-tabagistas (83,4%) e que não se consideram etilistas (73,5%). No que diz respeito ao comportamento sexual das pacientes, 90,6% são sexualmente ativas, porém 73,9% não fazem o uso de preservativo. Referente ao método contraceptivo, 66,9% afirmaram fazer o uso de algum método, dentre eles o mais relatado foi o anticoncepcional oral (58,9%). Sobre a realização do exame ginecológico preventivo, 82,2% afirmaram terem feito o exame a menos de 36 meses. Sobre a vacinação

contra o HPV, apenas 13,3% das mulheres afirmaram terem recebido a vacina. As queixas mais frequentes das pacientes foram de dor (37,3%) e dispareunia (34,5%).

Tabela 2. Caracterização clínica, comportamental e de saúde de uma amostra de mulheres atendidas no ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) na cidade de Passo Fundo, RS, entre dezembro de 2019 e dezembro de 2022. (n=181)

Variáveis	n	%
Tabagismo		
Sim	30	16,6%
Não/Ex fumante	151	83,4%
Etilismo		
Sim	48	26,5%
Não	133	73,5%
Sexualmente ativo		
Sim	164	90,6%
Não	17	9,4%
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses (n=164)		
01 parceiro	156	95,1%
02 ou mais parceiros	8	4,9%
Uso de preservativo (n=165)		
Sempre ou quase sempre	43	26,1%
Nunca	122	73,9%
Uso de método contraceptivo (n=166)		
Sim	111	66,9%
Não	55	33,1%
Qual o método contraceptivo (n=112)		
Anticoncepcional oral	66	58,9%
Anticoncepcional injetável	24	21,4%
Laqueadura	17	15,2%
Outros	5	4,5%
Já realizou exame ginecológico preventivo alguma vez na vida		
Sim	175	96,7%
Não	6	3,3%
Quando foi o último exame preventivo (n=174)		
Entre 1 e 36 meses atrás	143	82,2%
Mais que 36 meses atrás	31	17,8%
Vacina para HPV		
Sim	24	13,3%
Não	157	86,7%
Queixa de leucorreia (n=178)		
Sim	38	21,3%
Não	140	78,7%
Queixa de odor (n=177)		
Sim	34	19,2%
Não	143	80,8%
Queixa de dispareunia (n=177)		
Sim	61	34,5%
Não	116	65,5%

Queixa de dor (n=177)		
Sim	66	37,3%
Não	111	62,7%
Queixa de prurido (n=177)		
Sim	30	16,9%
Não	147	83,1%

Quanto às análises laboratoriais, 24,9% (n=45) das mulheres foram diagnosticadas com VB pelo método de coloração de GRAM (Figura 1) e 29,8% (n=54) tiveram resultado positivo para pesquisa de HPV pela técnica de PCR (Figura 2).

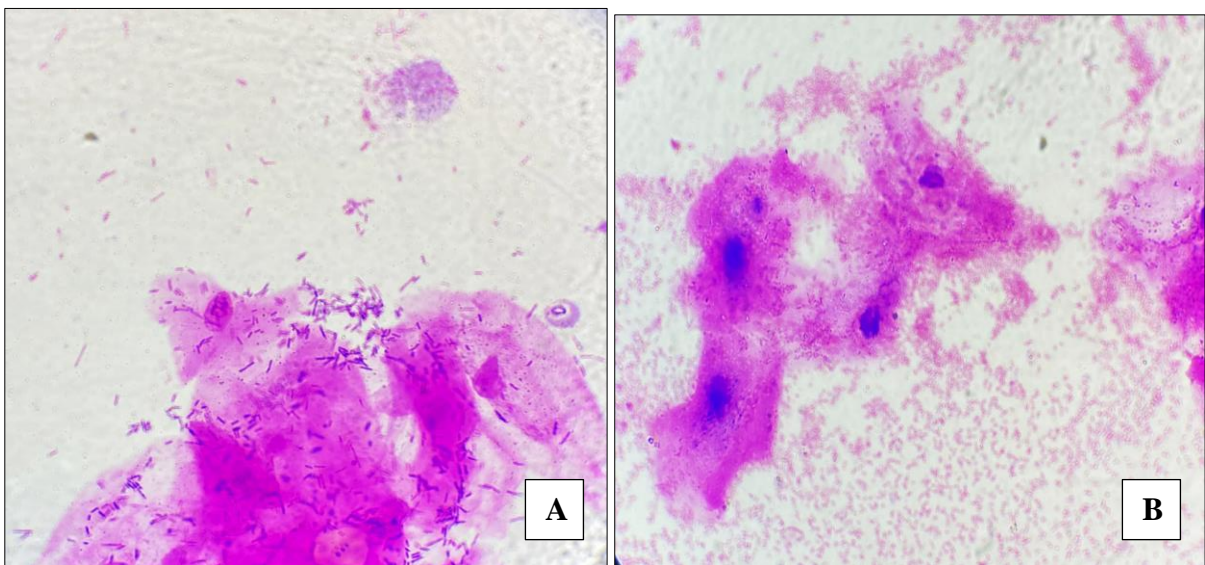


Figura 1. Fotomicrografia de esfregaço com conteúdo vaginal, sob coloração de Gram (aumento 1000x). **A** Predomínio de lactobacilos, ausência de cocos e inflamação, identificando uma Flora I (normal). **B** Predomínio de microbiota cocácea, identificando Vaginose Bacteriana.

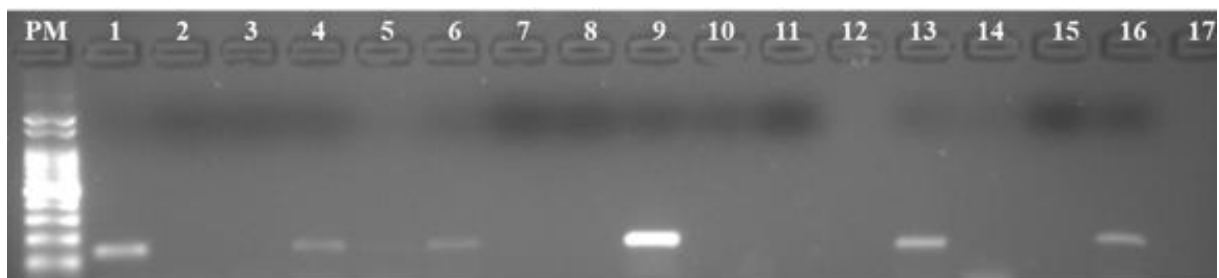


Figura 2. Gel de agarose (1,5%) corado com brometo de etídeo, após eletroforese para separação e visualização das bandas representativas do gene HPV. (PM: peso molecular 100 pares de base (pb); tamanho esperado do produto amplificado 150pb; linha 1: controle positivo – DNA de células HeLa; linhas 4,5,6,9,13 e 16: amostras positivas; linha 17: controle negativo da PCR).

A Tabela 3 demonstra a relação das características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e de saúde com o diagnóstico de VB. A presença de VB foi relacionada significativamente com as seguintes variáveis: queixa clínica de leucorreia ($p=0,002$), queixa clínica de odor ($p=0,002$) e ao método contraceptivo utilizado ($p=0,044$), enquanto as variáveis de estratificação de faixa etária (18-35, 36-45 e ≥ 46 anos), etilismo, tabagismo, ser sexualmente ativo, VB prévia e HPV pela técnica de PCR não apresentaram relação com a positividade de VB ($p>0,05$).

Tabela 3. Características sociodemográficas, comportamentais, clínicas e de saúde e sua relação com a Vaginose Bacteriana em uma amostra de mulheres atendidas no ambulatório de Especialidades da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) na cidade de Passo Fundo, RS. (n=181)

Característica	Vaginose Bacteriana		p*
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
Faixa etária (n=174)			
Entre 18 e 35 anos	14 (25,9)	40 (74,1)	0,963
Entre 36 anos a 45 anos	12 (27,3)	32 (72,7)	
Maior ou igual a 46 anos	19 (25)	57 (75)	
Cor de pele autorreferida (n=173)			
Branca	28 (25)	84 (75)	0,681
Outra	17 (27,9)	44 (72,1)	
Tabagismo (n=174)			
Sim	10 (34,5)	19 (65,5)	0,245
Não/ex-tabagista	35 (24,1)	110 (75,9)	
Etilismo (n=174)			
Sim	14 (30,4)	32 (69,6)	0,409
Não	31 (24,2)	97 (75,8)	
Sexualmente ativo (n=174)			
Sim	41 (25,9)	117 (74,1)	0,934
Não	4 (25)	12 (75)	
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses (n=158)			0,111
01 parceiro	37 (24,7)	113 (75,3)	
02 parceiros ou mais	4 (50)	4 (50)	
Qual método contraceptivo faz uso (n=110)			
Anticoncepcional oral	15 (23,1)	50 (76,9)	0,044
Anticoncepcional injetável	11 (47,8)	12 (52,2)	
Laqueadura	7 (41,2)	10 (58,8)	
Outros	0	5 (100)	
Queixa de leucorreia (n=171)			
Sim	16 (47,1)	18 (52,9)	0,002
Não	29 (21,2)	108 (78,8)	
Queixa de odor (n=170)			
Sim	15 (48,4)	16 (51,6)	0,002
Não	29 (20,9)	110 (79,1)	

Antecedente de Vaginose Bacteriana** (n=174)			
Sim	6 (31,6)	13 (68,4)	0,547
Não	39 (25,2)	116 (74,8)	
HPV por PCR (n=133)			
Positivo	14 (25,9)	40 (74,1%)	0,422
Negativo	16 (20,3)	63 (79,7)	

p*: Teste de Qui-Quadrado ou Teste Exato de Fischer (p<0,05)

**Diagnóstico médico autorreferido

Discussão

O desenvolvimento do câncer cervical associado à infecção pelo HPV já é conhecido e sua patogênese bem determinada. Novos estudos sugerem, no entanto, o papel da microbiota vaginal no processo de aquisição e depuração desse vírus do organismo humano. A presença de VB parece estar associada a uma maior susceptibilidade do microambiente vaginal quanto à aquisição e persistência do HPV, bem como no posterior desenvolvimento das lesões malignas como o câncer de colo uterino.⁹ Sugere-se que o pH vaginal elevado pode prolongar o período em que uma zona de metaplasia escamosa fica vulnerável a agentes promotores de displasia, como caso do HPV, e assim promover a carcinogênese.⁷ Bauer¹⁶ sugere que a peroxidase, enzima produzida pelos *Lactobacillus* que converte o peróxido de hidrogênio em ácido hipocloroso é responsável por criar um equilíbrio microbicide vaginal e, representa um sistema antitumoral natural por meio da apoptose seletiva das células pela interação do ácido hipocloroso com as espécies reativas de oxigênio. Nesse sentido, o desequilíbrio vaginal promovido pela VB parece interferir nesses mecanismos de proteção intrínsecos.

A relação de temporalidade entre a infecção por HPV e a presença de VB ainda é desconhecida, muito porque ambas compartilham fatores de risco e podem ser encontradas simultaneamente. Entretanto, em um estudo prospectivo proposto por Mao *et al.*¹⁷ demonstra que a detecção de HPV geralmente precede a ocorrência da VB.

No presente estudo, a prevalência do HPV em amostras cérvico-vaginais de mulheres que realizaram o exame de Papanicolau foi de 29,8%, sendo similar a outros estudos prévios que também utilizaram da técnica de PCR para determinação da infecção, como de Jing *et al.*⁴ que encontrou uma prevalência de 28,4% e Peres *et al.*¹⁸, que relata uma prevalência de 31,2%. Por outro lado, outros estudos sugerem prevalências mais altas para HPV como é o caso do estudo epidemiológico da Associação Hospitalar Moinhos de Vento de Porto Alegre, RS¹⁹ que apresenta uma prevalência geral HPV de 53,6%. Tais divergências podem ser atribuídas a diferentes técnicas e metodologias diagnósticas e faixas etárias estudadas. De qualquer forma, observa-se elevada prevalência dessa infecção na população feminina, o que deve ser observado

com cautela devido ao seu potencial carcinogênico. Uma das formas de prevenção contra infecções pelo HPV, além do uso de método contraceptivo de barreira, é a vacinação da população.²⁰ Em nosso estudo, apenas 13,3% das mulheres afirmaram terem realizado o esquema vacinal contra o HPV. Essa baixa cobertura vacinal é fruto principalmente da idade média ($42,7 \pm 10,9$ anos) das pacientes que não foram contempladas pelo programa de vacinação na época de sua incorporação. No Brasil, a vacina HPV quadrivalente foi incorporada no Programa Nacional de Imunização (PNI) em 2014 de forma gratuita e abrange a população alvo constituída por: meninas dos 9 aos 14 anos, meninos dos 11 aos 14 anos e homens e mulheres imunossuprimidos de 9 a 45 anos.²¹

A prevalência de VB na amostra foi de 24,9%, mostrando-se semelhante a outros estudos como de Camargo *et al.*²² e Leite *et al.*²³ Observou-se que prevalência da VB diagnosticada entre mulheres na faixa etária de idade igual ou superior a 46 anos foi equivalente a 25%, sendo a menor entre as três faixas apontadas (18-35, 36-45 e ≥ 46 anos). Tal dado concorda com a maioria dos estudos, os quais reportaram uma menor prevalência dessa condição em mulheres desta faixa etária.²⁴ Apesar disso, não houve diferença significativa entre as faixas etárias e a presença de VB entre as participantes. Outros estudos também demonstram que tabagismo, mulheres negras e maior número de parceiros estariam associadas a uma maior ocorrência de VB, no entanto essas variáveis também não tiveram relação significativa ($p > 0,05$) em nosso estudo.²⁴⁻²⁸ No estudo proposto por Zimmermann *et al.*¹¹ a história prévia de VB foi fator predisponente associado à VB, sugerindo assim, um aspecto recorrente da doença. Entretanto, no presente trabalho, não houve diferença significativa entre os grupos, o que pode ser atribuído ao carácter recordatório de obtenção desses dados ou por se tratarem de serem dados informados pelas pacientes, além disso, é possível que muitas mulheres desconheçam o termo e condição clínica da VB.

Sabe-se que a VB é assintomática em até 50% das pacientes, e, entre as que apresentam sintomatologia a presença de corrimento genital e odor fétido foram os sintomas mais relatados.^{23,24} No presente estudo, a ocorrência de tais sintomas foi 47,1% e 48,4% respectivamente nas mulheres com presença de VB, os quais tiveram relação significativa com esse diagnóstico ($p = 0,002$ em ambos sintomas).

Outrossim, o método contraceptivo de escolha das pacientes também apresentou relação significativa com a VB. Percebe-se que as pacientes em uso de anticoncepcional oral representam menores taxas de VB, resultado concordante aos achados na literatura como dos estudos publicados por Smart *et al.*²⁸ e Jesus *et al.*²⁹ que apresentam menores taxas de ocorrência de VB em mulheres que utilizam esse tipo de contracepção. Essa menor ocorrência se daria

devido à atuação do estrogênio no epitélio vaginal, que atuaria induzindo o acúmulo de glicogênio, favorecendo a formação de ácido láctico pelos *Lactobacillus* inibindo assim o crescimento de espécies bacterianas que estariam associadas a disbiose vaginal. Por outro lado, o uso de anticoncepcional injetável esteve relacionado a um maior número de casos de VB. O uso de dispositivo intrauterino (DIU), método frequentemente associado na literatura a uma maior ocorrência de VB, não esteve relacionado a nenhum caso de VB.²⁸

A respeito da positividade de HPV identificado pela técnica de PCR e a presença de VB, nosso estudo não encontrou diferença significativa entre os grupos, resultado esse que vai de encontro com o estudo de Marques *et al.*³⁰ Por outro lado, os estudos publicados por Panpan *et al.*³¹ e Gao *et al.*³² sugerem uma relação significativa entre HPV e VB. A diferença de resultados encontrados pode estar relacionada com o tamanho amostral utilizado no presente estudo.

Este estudo, apesar de trazer resultados importantes para a literatura e oportunizar que mulheres realizem exames adicionais até então não ofertados pelo Sistema Único de Saúde, têm como principal limitação o pequeno tamanho amostral que implica na restrição quanto a possíveis outras análises. Além disso, em se tratar de um estudo com delineamento transversal, onde a coleta do exame citopatológico e da amostra vaginal para determinação da microbiota vaginal foram obtidos em apenas um momento, limita o estudo quanto à possibilidade de realização de correlações de causa e consequência visando o estabelecimento de uma temporalidade para as infecções.

Conclusão

Com base nos dados apresentados, pode-se concluir que o perfil epidemiológico das mulheres atendidas no referido ambulatório é predominada por pacientes com idade maior ou igual a 46 anos, brancas, sexualmente ativas, não tabagistas e não etilistas. Observa-se também que as prevalências de HPV e VB são altas, porém sem relação entre elas. Além disso, mulheres com queixas de leucorreia e odor e que fazem uso de anticoncepcional injetável devem ser observadas pois apresentam maior positividade de VB.

Referências

1. World Health Organization. Cervical Cancer. 2022. <https://www.who.int/News room/fact-sheets/detail/cervical-cancer> (accessed 5 Mar2023).
2. Instituto Nacional de Câncer. Dados e Números sobre o Câncer de Colo do Útero: Relatório Anual 2022. 2022.
3. Bartholomeu Nogueires I, Barroso Zimmermann J, Guimarães Gonçalves L, Caldeira Fontes L, Ferreira Alves L, Coralina Gontijo C. Associação entre a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) e outras infecções genitais femininas. *HU Revista* 2010; 19–28.
4. Jiang L, Tian X, Peng D, Zhang L, Xie F, Bi C *et al.* HPV prevalence and genotype distribution among women in Shandong Province, China: Analysis of 94,489 HPV genotyping results from Shandong’s largest independent pathology laboratory. *PLoS One* 2019; **14**. doi:10.1371/journal.pone.0210311.
5. Liang Y, Chen M, Qin L, Wan B, Wang H. A meta-analysis of the relationship between vaginal microecology, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia. *Infect Agent Cancer*. 2019; **14**. doi:10.1186/s13027-019-0243-8.
6. Miyaji KT, Infante V, de Melo Picone C, Levi JE, de Oliveira ACS, Lara AN *et al.* Human Papillomavirus (HPV) seroprevalence, cervical HPV prevalence, genotype distribution and cytological lesions in solid organ transplant recipients and immunocompetent women in Sao Paulo, Brazil. *PLoS One* 2022; **17**. doi:10.1371/journal.pone.0262724.
7. Gillet E, Meys JFA, Verstraelen H, Verhelst R, de Sutter P, Temmerman M *et al.* Association between Bacterial Vaginosis and Cervical Intraepithelial Neoplasia: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2012; **7**. doi:10.1371/journal.pone.0045201.
8. Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: What do we know and where are we going next? *Microbiome*. 2016; **4**. doi:10.1186/s40168-016-0203-0.
9. Suehiro TT, Malaguti N, Damke E, Uchimura NS, Gimenes F, Souza RP *et al.* Association of human papillomavirus and bacterial vaginosis with increased risk of high-grade squamous intraepithelial cervical lesions. *International Journal of Gynecological Cancer* 2019; **29**: 242–249.
10. Lebeau A, Bruyere D, Roncarati P, Peixoto P, Hervouet E, Cobraiville G *et al.* HPV infection alters vaginal microbiome through down-regulating host mucosal innate peptides

- used by Lactobacilli as amino acid sources. *Nat Commun* 2022; **13**. doi:10.1038/s41467-022-28724-8.
11. Zimmermann JB, Pereira LA, Cardoso BS, Laguardia de Almeida P, Caldeira RM, Rezende DF. Vaginose bacteriana: frequência entre usuárias do serviço público e da rede privada de saúde. *HU Revista* 2009; : 97–104.
 12. Coudray MS, Madhivanan P. Bacterial vaginosis—A brief synopsis of the literature. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2020; **245**: 143–148.
 13. Liu J, Luo M, Zhang Y, Cao G, Wang S. Association of high-risk human papillomavirus infection duration and cervical lesions with vaginal microbiota composition. *Ann Transl Med* 2020; **8**: 1161–1161.
 14. Kwasniewski W, Wolun-Cholewa M, Kotarski J, Warchol W, Kuzma D, Kwasniewska A *et al*. Microbiota dysbiosis is associated with HPV-induced cervical carcinogenesis. *Oncol Lett* 2018; **16**: 7035–7047.
 15. Nugent, RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. 1991.
 16. Bauer G. Lactobacilli-mediated control of. *Med Hypotheses* 2001; **52**: 252–257.
 17. Mao C, Hughes JP, Kiviat N, Kuypers J, Lee SK, Adam DE *et al*. Clinical findings among young women with genital human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2003; **188**: 677–684.
 18. Peres AL, Camarotti JRSL, Cartaxo M, Alencar N, Stocco RC, Beçak W *et al*. Molecular analysis and conventional cytology: Association between HPV and bacterial vaginosis in the cervical abnormalities of a Brazilian population. *Genetics and Molecular Research* 2015; **14**: 9497–9505.
 19. Associação Hospitalar Moinhos de Vento. *ASSOCIAÇÃO HOSPITALAR MOINHOS DE VENTO ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO SOBRE A PREVALÊNCIA NACIONAL DE INFECÇÃO PELO HPV POP-BRASIL 1ª Edição*. 1st ed. Porto Alegre, 2020.
 20. de Oliveira PS, Gonçalves CV, Watte G, da Costa JSD. Vaccination coverage against human papillomavirus (HPV) and associated factors in female academics from a university in southwestern Goiás, Brazil. *Rev Saude Publica* 2021; **55**. doi:10.11606/S1518-8787.2021055003144.
 21. Moura L de L, Codeço CT, Luz PM. Human papillomavirus (HPV) vaccination coverage in Brazil: Spatial and age cohort heterogeneity. *Revista Brasileira de Epidemiologia* 2021; **24**: 1–12.

22. de Camargo KC, Alves RRF, Baylão LA, Ribeiro AA, de Souza NLAA, Tavares SB do N *et al.* Secreção vaginal anormal: Sensibilidade, especificidade e concordância entre o diagnóstico clínico e citológico. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia* 2015; **37**: 222–228.
23. Leite SRR de F, De Amorim MMR, Calábria WB, Leite TN de F, De Oliveira VS, Ferreira Junior JAA *et al.* Perfil clínico e microbiológico de mulheres com vaginose bacteriana. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia* 2010; : 82–87.
24. Paulo S, Tanaka A, Jorge Fagundes L, Catapan A, Léa Davidson Gotlieb S, Belda Jr W *et al.* Epidemiological profile of women with bacterial vaginosis treated at a clinic for sexually transmitted diseases in the city of Sao Paulo, SP. *An Bras Dermatol* 2007; : 41–46.
25. Morris M, Nicoll A, Simms I, Wilson J, Catchpole M. Bacterial vaginosis: a public health review Introduction. *Br J Obstet Gynaecol* 2001; **108**: 439–450.
26. Coudray MS, Madhivanan P. Bacterial vaginosis—A brief synopsis of the literature. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2020; **245**: 143–148.
27. Morris MC, Rogers PA, Kinghorn GR. Is bacterial vaginosis a sexually transmitted infection? *Sex Transm Infect* 2001; **77**: 63–68.
28. Smart S, Singal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect* 2004; **80**: 58–62.
29. De Jesus JDP, Dos Santos DC, Bastos LP, Soares ANG, Bittencourt R de S, Ferreira JB. Infecção por *Gardnerella vaginalis*: Principais faixas etárias e mecanismos de resposta inflamatória / *Gardnerella vaginalis* infection: Main age groups and inflammatory response mechanisms. *Brazilian Journal of Health Review* 2021; **4**: 23461–23474.
30. Marques MPC, Pinto AC, Soares LC, Macedo JMB, dos Santos DF, de Oliveira MAP. Protease inhibitor effects on prevalence of bacterial vaginosis and human papillomavirus-related lesions. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 2020; **46**: 899–906.
31. Lv P, Zhao F, Xu X, Xu J, Wang Q, Zhao Z. Correlation between Common Lower Genital Tract Microbes and High-Risk Human Papillomavirus Infection. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2019.
32. Gao W, Weng J, Gao Y, Chen X. Comparison of the vaginal microbiota diversity of women with and without human papillomavirus infection: A cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 2013; **13**. doi:10.1186/1471-2334-13-271.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a execução do projeto de pesquisa e a elaboração do presente artigo, concluiu-se que os objetivos do estudo foram contemplados, uma vez que foram obtidas as prevalências de HPV e VB, bem como estabelecer relações positivas e negativas entre as duas variáveis e as demais propostas pelo estudo.

Em relação as hipóteses inicialmente estabelecidas, foi confirmada o perfil das mulheres atendidas no referido ambulatório sendo elas de etnia branca, não tabagistas e não etilistas e sexualmente ativas. A prevalência de VB esteve dentro da hipótese prevista (cerca de 30%) enquanto a prevalência de HPV na amostra foi menor do que a esperada (esperava-se cerca de 50%). Além disso as pacientes na faixa etária maior ou igual a 46 anos, não tabagistas e sexualmente ativas apresentaram maior positividade de VB. Por fim, não se encontrou uma relação significativa entre a infecção por HPV e a presença de VB como era esperado inicialmente.

A partir da escrita do artigo, observou-se a urgente necessidade de uma maior quantidade de estudos sobre essa temática, haja vista a escassez de estudos relacionando HPV e VB. Além disso, destaca-se a importância do exame de citologia em meio líquido que permite a pesquisa adicional de outros microrganismos para além do HPV, como *Lactobacillus spp.*, cocos, *Actinomyces spp.*, *Leptotrix vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* e *Candida spp.*, *Gardnerella vaginalis*, entre outros. Diante disso, importante salientar que, em atendimentos rotineiros nos referidos ambulatórios, as pacientes só poderiam ter acesso a esse exame por meio de laboratórios particulares. Assim, esse estudo permitiu que fosse ofertado testes de alta tecnologia a pacientes que talvez nunca tivessem acesso.

Por fim, destaca-se a importância de dar continuidade ao projeto “Citologia cérvico vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, cujo presente trabalho é derivado, afim de que se amplie o tamanho amostral para que resultados e relações encontradas sejam o mais significativo possível.