UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

YNGRID FERNANDA OLIVEIRA PAES

PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO SULCO GENGIVAL EM PACIENTES ATENDIDOS NA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

BELÉM

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

YNGRID FERNANDA OLIVEIRA PAES

PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO SULCO GENGIVAL EM PACIENTES ATENDIDOS NA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia da UFPA como pré-requisito para obtenção do Grau de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Helder Henrique Costa Pinheiro

Coorientadora: Marcela Fernanda dos Santos Rocha

BELÉM

2020

YNGRID FERNANDA OLIVEIRA PAES

PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO SULCO GENGIVAL EM PACIENTES ATENDIDOS NA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia da UFPA como pré-requisito para obtenção do Grau de Bacharel em Odontologia.

Banca examinadora:

_____

Prof. Dr. Helder Henrique Costa Pinheiro (Orientador)
Faculdade de Odontologia ICS/UFPA

_____

Profa. Dra. Danielle Tupinambá Emmi
Faculdade de Odontologia ICS/UFPA

_____

Profa. Dra. Maria Sueli da Silva Kataoka
Faculdade de Odontologia ICS/UFPA

_____

Prof. Dr. João de Jesus Viana Pinheiro (Suplente)
Faculdade de Odontologia ICS/UFPA

Julgado em: ___/___/_____

Conceito: _____

BELÉM
2020

DEDICATÓRIA

À minha mãe, **Lucila Oliveira Paes (*in memoriam*)**, meu irmão **Pedro Lucas Oliveira Paes (*in memoriam*)**, minha avó, **Maria do Parto de Araújo Paes (*in memoriam*)** e meu avô, **Francisco Braga de Oliveira (*in memoriam*),** que me motivam todos os dias a ser alguém digna do amor e valor deles.

AGRADECIMENTOS

Ao ***Todo Poderoso***, regente deste universo, obrigada por estar ao meu lado durante toda minha vida e me encher de paz nos momentos em que mais precisei. Sou grata a tudo que passei, pois tive sua presença e amor incondicional.

Aos ***meus pais Cláudio Lúcio e Lucila Paes***, obrigada por me apoiarem entre lágrimas e sorrisos. Ambos sempre incentivaram meus sonhos e desde pequena vinham me preparado para a jornada acadêmica, enchendo a casa de livros, encorajando as aulas de inglês e requisitando notas altas... Obrigada! Obrigada por terem confiado, apostado, renunciado e torcerem por cada conquista minha. Sou inundada de gratidão e amor por isso. Com tudo que eu sou, eu amo vocês!

Aos ***meus irmãos e primos Ygor Paes, Pedro Paes, Kanandra Brito, Steven Paes, Mayna Paes e Stephanie Paes***. Carrego parte de vocês comigo. Vocês são minha força, minha alegria, minha segurança e paz de espírito. Quando estou perto de vocês reabasteço minhas energias, encho o coração de amor e de coragem para enfrentar a vida. Obrigada pelo companheirismo, por dividirem a vida comigo e me encherem de amor. Também quero agradecer aos amigos que amam e se importam com atitudes e palavras. ***Allysson Quintino e Karina Rosa***, devo muito a vocês. Obrigada pela disponibilidade, ajuda, suporte e generosidade.

Aos ***meus tios, Dário Paes e Cilene Gomes***, que foram incrivelmente generosos e não hesitaram em abrir a porta dos seus lares para me acolher durante a minha jornada acadêmica. Obrigada! À ***minha tia Carmen Paes***, não consigo agradecer o suficiente pelo apoio em cada etapa ao longo dos meus anos de estudo. Sou imensamente grata e abençoada por sua generosidade, bondade e incentivo. Essa conquista também é sua. Obrigada!

Aos facilitadores deste trabalho, ***meus orientadores***, ***Prof. Helder Pinheiro e Profa. Marizeli Araújo,*** minha orientadora do coração, que me proporcionou experiências incríveis na graduação. Sempre com muita paciência e amor ao ensinar, mostrou tranquilidade, atenção e auxílio sempre que precisei. Obrigada por tudo!

Ao ***Laboratório de Imunopatologia*** do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, especialmente à ***Profª Draª Hellen Fuzii, Profª Mayara Miranda, Marcela Rocha, Roberto Júnior e Leandro*** pela paciência e solicitude.

Aos ***meus colegas de turma***, ***em especial à Ana Flávia, Aldrian Ribeiro, Karina Rosa, Leonardo Dias, Rafaela Ferreira e Suelen Cunha*** que ao longo desses 5 anos se tornaram uma extensão da minha família. Me acolheram e abraçaram. Fizeram-me mais forte, feliz e segura da minha escolha. Vocês estarão marcados para sempre na minha formação pessoal e profissional. Todos os meus passos daqui em diante terão uma marca de vocês. Fui incrivelmente honrada por ter estudado com vocês na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará, só tenho palavras para agradecer!

“Eu não ignoro as ameaças que o futuro encerra, como também não ignoro que é o meu passado que define a minha abertura para o futuro. O meu passado é a referência que me projeta e que eu devo ultrapassar.

O que eu sempre quis foi comunicar da maneira mais direta o sabor da minha vida, unicamente o sabor da minha vida. Acho que eu consegui fazê-lo. Não desejei nem desejo nada mais do que viver sem tempos mortos.”

Simone de Beauvoir

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....9

LISTA DE TABELAS.....9

FOLHA DE ROSTO.....10

RESUMO.....11

ABSTRACT.....12

1. INTRODUÇÃO.....13

2. METODOLOGIA.....16

2. RESULTADOS.....21

3. DISCUSSÃO.....22

REFERÊNCIAS.....25

ANEXO I - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....34

ANEXO II: Trabalho elaborado e formatado conforme as normas da Revista Brasileira de Epidemiologia (RBE).....37

APÊNDICE I-TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do genoma do papilomavírus humano 16, exibindo a organização dos genes e da região longa de controle (LCR).

Figura 2 – Protocolo de purificação da coluna. O procedimento de purificação do genoma de DNA a partir das amostras usando o Invitrogen™ PureLink™. Os kits de purificação utilizam 4 passos: lise, lavagem, eluição e purificação.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-: Prevalência de HPV em relação ao sexo, grupo etário, e condições periodontais nos indivíduos examinados, 2019.

PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO SULCO GENGIVAL EM PACIENTES ATENDIDOS NA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO SULCO GENGIVAL

PREVALENCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS IN GINGIVAL SULCUS OF PATIENTS ASSISTED AT THE DENTISTRY SCHOOL OF THE FEDERAL UNIVERSITY OF PARÁ

PREVALENCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS IN GINGIVAL SULCUS

Yngrid Fernanda Oliveira Paes, yngridferrnanda@gmail.com, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil.

Helder Henrique Costa Pinheiro, helder@ufpa.br, https://orcid.org/0000-0001-5567-3550, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil.

Autor de correspondência: Helder Henrique Costa Pinheiro, e-mail**:** helder@ufpa.br

Agradecimentos:

Ao Laboratório de Imunopatologia do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Conflitos de interesse: não há conflitos de interesse.

Fonte de financiamento: Laboratório de Imunopatologia do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, Recursos próprios.

PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO SULCO GENGIVAL EM PACIENTES ATENDIDOS NA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

RESUMO

Objetivo: O presente estudo visa verificar a prevalência do papilomavírus humano no sulco gengival. **Materiais e Métodos**: Foram selecionados 82 pacientes com variação de idade entre 18 e 72 anos submetidos à exame bucal epidemiológico segundo critérios utilizados na Pesquisa Nacional de Saúde Bucal do Brasil. As extrações do ácido desoxirribonucleico das amostras colhidas foram executadas através do Kit de extração PurelinK® Genomic DNA. A presença do vírus dessas amostras foi verificada através da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase. Os dados coletados foram apurados em planilha eletrônica e foi realizada descrição e análise estatística dos dados. **Resultados:** A prevalência do papilomavírus humano no sulco gengival da amostra foi de 35,4%. O sexo feminino apresentou 39,6% das amostras positivas para papilomavírus humano e o sexo masculino, 27,6%. Segundo as condições de problemas periodontais, a prevalência de papilomavírus humano foi de 32,6% em quem apresentou sangramento gengival, 35,4% nos que apresentaram cálculo dental, 36,8% nos que tinham bolsa periodontal e de 34,1% em que foi considerado com presença de doença periodontal. **Conclusão:** Houve alta prevalência do vírus em pacientes jovens e do sexo feminino, ainda que sem associação estatística. Também não foram encontradas associações entre a presença do papilomavírus humano e a condição de saúde bucal.

Palavras-chave: Papilomavírus humano; Prevalência; Sulco gengival; Reação em cadeia da polimerase.

PREVALENCE OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS IN GINGIVAL SULCUS OF PATIENTS ASSISTED AT THE DENTISTRY SCHOOL OF THE FEDERAL UNIVERSITY OF PARÁ

ABSTRACT

Objective: The present study verified the prevalence of human papillomavirus in gingival sulcus. **Materials and Methods**: 82 patients were selected from age 18 to 72 who underwent clinical examination according to criteria used in the National Oral Health Survey. The sample's deoxyribonucleic acid extraction were performed using the PurelinK® Genomic DNA Extraction Kit. The presence of the virus was verified using the Polymerase Chain Reaction technique. The collected data were calculated in a spreadsheet and a description and statistical analysis of the results were performed. **Results:** The prevalence of human papillomavirus in gingival sulcus was 35.4%. The female group represented 39,6% of positive samples for human papillomavirus and the male 27.6%. Among the positive samples for papillomavirus, 32.6% had gingival bleeding, 35.4% dental calculus, 36.8% periodontal pocket and 34.1% periodontal disease. **Conclusion:** There was a high prevalence of the virus in young and female patients, yet with no statistical association. There were also no associations between the presence of human papillomavirus and an oral health condition.

Keywords: Papillomaviridae; Prevalence; Gingival Sulcus; Polymerase Chain Reaction.

1. INTRODUÇÃO

O Papilomavírus humano (HPV – *human papilomavirus*) é um vírus pertencente à família *Papillomaviridae* e do gênero *Alphapapillomavirus*, que está associado aos casos clínicos de câncer de colo do útero[1], e ao aumento da incidência de câncer na orofaringe, amígdalas e base da língua[2].

Os papilomavírus mais conhecidos podem ser divididos em 5 gêneros: *Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus, Gammapapillomavirus, Mupapillomavirus e Nupapilomavírus*. O gênero α é o maior e possui mais de 60 tipos. Geralmente os tipos virais pertencentes a esse grupo possuem um tropismo pela mucosa genital, não genital e oral[3]. Dentre os mais de 200 tipos de HPV conhecidos, pelo menos 30 estão associados com algumas lesões orais[4], como o papiloma escamoso, verruga vulgar, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial multifocal. Entretanto, ainda não foi especificado quais fatores induzem ou se associam à essas patologias [5,6].

Além dessas patologias, estudos têm colocado em evidência que o HPV pode apresentar um envolvimento na progressão da doença periodontal, já que as bolsas periodontais além de serem relatadas como potenciais reservatórios deste vírus[7,8], também podem diminuir o sistema imune do periodonto, através de liberação de citotoxinas e mediadores pró-inflamatórios, criando assim o ambiente perfeito para a incidência e persistência do HPV neste sítio[9].

O HPV foi detectado com frequência significativa em tecidos gengivais[10], placas subgengivais[11] e no fluido crevicular[12] de indivíduos com periodontite. Há um estudo que indica que a cavidade oral pode ser a porta de entrada do HPV no corpo humano[13].

O HPV é um vírus de DNA de cadeia dupla que possui em média entre 6.800 a 8.400 pares de bases nitrogenadas, não contém envelope viral e seu tamanho varia entre

50 a 55 nanômetros, apresenta uma forma icosaédrica com 72 capsômeros protegendo seu material genético[14]. Os mais de 200 tipos de HPV foram identificados em hospedeiros animais e humanos, dos quais 15 genótipos (HPV do tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82) são considerados de alto risco para o desenvolvimento de câncer vaginal, anal e orofaríngeo com lesões graves[15,16].

É possível visualizar um segmento da cadeia do DNA viral através da sequência de leitura aberta (open reading frames), organizado em três setores funcionais: uma região longa de controle (LCR), 6 regiões precoces (E) e 2 regiões tardias (L). A região longa de controle possui propriedades que regularizam a replicação e transcrição viral. Já as regiões precoces dispõem de uma variedade de elementos que induzem e regulam a replicação e transcrição do DNA viral (E1 e E2), maturam o vírus e alteram a matriz intracelular (E4) e ainda estimulam a proliferação e diferenciação celular (E5, E6, E7). E por fim, as regiões tardias são responsáveis por codificar as proteínas principais (L1) e secundárias (L2) do capsídeo do viral[3,13,17,18].

FIGURA 1

As lesões por HPV são classificadas de acordo com o risco de malignidade. As de baixo risco, apresentam menor potencial de progressão para lesões malignas e as lesões de alto risco, podem ser precursoras do desenvolvimento de câncer[1,19]. Entretanto, essa transformação dependerá principalmente da infecção persistente por HPV de alto risco acompanhado de cofatores como o tabagismo, resposta imune, uso de contraceptivos orais, número de parceiros sexuais, associação com outros agentes infecciosos como o HIV, herpes simplex, clamídia e gonorreia, entre outros[18,20].

A transmissão do vírus acontece geralmente por via sexual, mas pode ser difundida por qualquer indivíduo que possuir lesão decorrente do HPV e entrar em

contanto direto com a pele que não esteja completamente íntegra de outro indivíduo. Como as lesões são normalmente encontradas em regiões orais e genitais, também pode haver transmissão por via vertical. Já que a maioria das pessoas infectadas por HPV não possuem sintomatologia, ocorre uma dificuldade no diagnóstico, o que pode ser prejudicial principalmente quando este é essencial para evitar a progressão de alguns tipos de HPV[21].

A infecção ocorre quando houver algum tipo de lesão na epiderme, através de microtrauma, o vírus pode infiltrar-se até a camada basal, infectando as células-tronco. No interior da célula, com o vírus desnudo, acontece o transporte do DNA viral ao núcleo, onde o agente infeccioso reconhece os receptores específicos de células indiferenciadas. Sucede então uma etapa conhecida como fase latente e pode durar por vários meses ou anos uma vez que a carga viral permanece baixa, visto que a replicação do vírus depende da replicação celular. Ainda é incerto o mecanismo responsável pela migração do vírus da fase latente para a fase ativa, que resulta no aparecimento de lesões[18].

Os genes virais E5, E6 e E7 são os principais responsáveis pela formação de tumores benignos e malignos (oncogenes E6 e E7), uma vez que esses genes geram uma desregulação na estrutura normal do epitélio quando alteram as proteínas p53 e a proteína do retinoblastoma (pRb), ambas conhecidas por impedir apoptose e o crescimento não regular das células epiteliais. Desse modo, o papilomavírus causa replicação descontrolada desse tecido. [1,5,18].

Já foi relatado em estudos, a presença de fragmentos virais do papilomavírus, por meio da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), na cavidade oral de adultos, com predominância de infecção latente[7,8]. Como as bolsas periodontais são o único sítio da mucosa oral onde as células basais estão normalmente expostas ao ambiente, é um indício de que essa região pode ser um reservatório deste vírus[8,13]. Mas

também há relatos de detecção do genoma viral do papilomavírus no sulco de tecidos periodontais saudáveis[22].

No Brasil, em 2020 foi publicado um levantamento epidemiológico[23] mostrando que aproximadamente 54% da população brasileira entre 16 a 25 anos testaram positivo para HPV. Visto que este agente infeccioso é recorrente no Brasil e no mundo, principalmente em países periféricos[24], altamente transmissível, com predominância de casos assintomáticos e riscos consideráveis de desenvolvimento em carcinomas, é de fundamental importância que haja mais estudos para observar a prevalência dessa infecção e os agentes relacionados a sua progressão, já que existem meios de ser prevenida.

Portanto, realizar pesquisas sobre o HPV e sua prevalência na cavidade oral torna-se crucial, visto que esse agente viral pode ser associado como fator etiológico da doença periodontal e de várias outras patologias orais. O esclarecimento desses fatores, atrelados à um diagnóstico correto e precoce podem evitar o desenvolvimento do vírus, impedir neoplasias e perdas dentárias ocasionadas pela doença periodontal, refletindo na qualidade de vida dos indivíduos afetados por essas patologias. Assim, o objetivo desde estudo é verificar a prevalência do papilomavírus humano no sulco periodontal de pacientes atendidos na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará.

2. METODOLOGIA

1.1. ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará e aprovado pelo Parecer 2.277.568, CAAE: 41625215.0.0000.5172 (Anexo I).

2.2 SELEÇÃO DE PACIENTES

Foram selecionados 82 indivíduos a partir de 18 anos que frequentaram as clínicas de atendimento da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará e aceitaram participar do estudo através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) após serem informados do objetivo do mesmo (Apêndice I). Os voluntários foram aleatorizados de acordo com a demanda de atendimento na instituição e não foram aplicadas restrições de sexo, cor, estado de saúde, condição socioeconômica ou vacinação contra o HPV.

Em seguida, era realizado um exame na cavidade oral para verificar as condições de saúde bucal em relação ao edentulismo (uso e necessidade de prótese), cárie dentária (Índice das condições dentárias e necessidade de tratamento – ICDNT) e a condição periodontal (sangramento gengival, cálculo dentário e bolsa periodontal), segundo critérios utilizados na Pesquisa Nacional de Saúde Bucal[25]. Os dados foram preenchidos em ficha epidemiológica.

O voluntário também fornecia alguns dados pessoais como o nome completo, idade, sexo, endereço e número de telefone, caso houvesse necessidade de contatá-lo.

2.3 COLHEITA DE DNA

Realizou-se a coleta de DNA do sulco gengival por meio de esfregaços no sítio em questão. Foi utilizada uma escova pequena ultrafina e cone de papel absorvente, ambos estéreis para a colheita. O material era mergulhado em um microtubo 0,5 mL preenchido com solução salina tamponada com fosfato (PBS). O tubo era identificado com o número de registro do indivíduo e congelado a -20ºC para a preservação do material genético. As etapas laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Imunopatologia do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará.

2.4 EXTRAÇÕES DE DNA

As extrações de DNA das amostras colhidas foram executadas através do Kit de extração PurelinK® Genomic DNA (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), seguindo as recomendações do fabricante.

O primeiro passo para preparação do mix foi depositar 200 µL da amostra, 20 µL de proteinase K (Invitrogen®) e 20 µL RNase A (Invitrogen®) em um microtubo estéril de 1,5 mL e misturá-las por 5 segundos em um vortex (Benchmark Scientific, Sayreville, NJ ,USA), sendo necessário incubar o mix durante 2 minutos em temperatura ambiente. Então era adicionado 200 µL de Purelink Genomic Lysis/Binding (Invitrogen®) e o microtubo era retornado ao agitador (Benchmark Scientific®) para homogeneização da mistura seguido de incubação à 55ºC durante 10 minutos.

Após essa etapa, foram acrescentados 200 µL de etanol a 96-100% e levado novamente ao vortex (Benchmark Scientific®) por 5 segundos para homogeneizar. O conteúdo era então transferido do microtubo para a coluna existente no kit e levado à centrífuga (Eppendorf, Hamburg, GER) a 10.000 rotações por minuto (rpm) por 60 segundos à temperatura ambiente. Em seguida, o material foi transferido para um tubo coletor para a lavagem do DNA, onde foi adicionado 500 µL de wash buffer 1 (Invitrogen®). A coluna foi centrifugada a 10.000 rpm por 1 minuto, com nova troca do tubo coletor e adição de 500 µL de wash buffer 2 (Invitrogen®) e centrifugação por 3 minutos à velocidade máxima.

O tubo coletor era então descartado e a coluna transferida para um microtubo de 1,5 mL estéril para eluição, utilizando 100 µL de PurelinK Genomic Elution buffer (Invitrogen®) na coluna com incubação a 1 minuto em temperatura ambiente.

Posteriormente, era centrifugado a velocidade máxima por 1 minuto. O genoma de DNA purificado foi congelado a - 20ºC.

FIGURA 2

2.5 DETECÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NAS AMOSTRAS

Para certificar a presença de DNA nas amostras e garantir que a reação não apresentou nenhum tipo de inibição, foi necessário submetê-las à técnica de reação da cadeia da polimerase (PCR) específica para o gene β globina, uma vez que essa reação deve amplificar os fragmentos do genoma extraído. Os oligosnucleotídeos selecionados para esta reação foram:

Forward: 5’ GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC 3’

Reverse: 5’ CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC 3’

A próxima etapa era detectar o vírus HPV no DNA extraído das amostras através da técnica de PCR com os oligos MY09-MY11, específicos para identificar o gene L1 do HPV. Em cada reação, foi utilizado 10 µL de GoTaq® Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA), 8,0 µL de água e 1,0 µL de primers MY09-MY11 e 1,0 µL da amostra de DNA, totalizando um volume de 20 µL da mistura.

A reação foi padronizada utilizando o termociclador (Eppendorf®) com um ciclo de desnaturação inicial de 94ºC por 3 minutos, 40 ciclos de amplificação com desnaturação em 94ºC por 30 segundos, anelamento a 56ºC por 30 segundos e extensão a 72ºC por 30 segundos, seguida de extensão final à 72ºC por 5 minutos.

Ao final desta etapa, também era realizada a técnica de nestedPCR (nPCR) por ser um método mais sensível e garantir baixa margem de erro na detecção do vírus de

interesse. Para a nPCR os primers selecionados foram o GP5-GP6 nas mesmas condições utilizadas para os MY09-MY11.

Os oligo nucleotídeos selecionados para detecção de HPV foram:

MY09: 5'-CGT CCA AAA GGA AAC TGA GC-3'

MY11: 5'-GCA CAG GGA CAT AAC AAT GG-3'

GP5: 5'-TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC- 3'

GP6: 5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C- 3'

2.6 ELETROFORESE

Nesta etapa, as amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose, coradas com brometo de etídio, em tampão TBE 2,0%. Em cada orifício no gel, eram depositadas as amostras, seguidas do ladder de 100pb (pares de base), controle positivo e controle negativo. Na corrida eletroforética, as amostras ficaram submersas à 80v por 5 minutos e em seguida à 100v por 25 minutos. Os padrões das bandas positivos e negativos para HPV eram visualizados e registrados no transiluminador (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) através de luz ultravioleta.

Os dados coletados foram registrados em planilha eletrônica no software Microsoft Office Excel 2010® (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA), e as informações foram analisadas através do Programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) na versão 20.0 para Windows (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Foram realizadas a descrição dos dados por cálculos de frequências e foram elaboradas estatísticas do teste do qui-quadrado para verificar associação entre a ocorrência do HPV com as variáveis observadas. Foi adotado o nível de significância de 5% nas análises.

3. RESULTADOS

Neste estudo foram selecionados 82 indivíduos de 18 a 72 anos de idade de ambos os sexos, sendo 64,6% (n=53) pertencentes ao sexo feminino e 35,4% (n=29) ao masculino (Tabela 1).

TABELA 1

Reagiram positivamente para HPV 35,4% da amostra (n=29). O vírus foi predominante no sexo feminino (39,6%, n=21), mas sem associação com sexo (p=0,276). No sexo masculino, 27,6% (n=8) reagiram positivo para o HPV.

A idade média da amostra foi de 38,4 com desvio padrão de 14,05. A mediana encontrada foi de 39 anos. O grupo etário de 18 a 35 anos apresentou prevalência de 45,1% da amostra (n=37). Já o grupo com idade superior a 35 anos, representou 54,9% (n=45).

Quando foi realizada a análise de associação ao HPV, não houve significância estatística (p=0,069), com 45,9% (n=17) dos participantes de até 35 anos com resultado positivos para o vírus. Já no que diz respeito aos pacientes maiores de 35 anos, 26,7% das amostras foram positivas (n=12).

Sobre a condição de saúde bucal, foi observado que 56,1% dos pacientes apresentaram sangramento gengival, já o cálculo dentário foi encontrado em 79,3% dos indivíduos, a bolsa periodontal em 46,3% dos voluntários e a doença periodontal foi encontrada em 53,7% das amostras.

Dentre as amostras que testaram positivo para o HPV, 32,6% apresentaram sangramento gengival, 35,4% cálculo dental, 36,8% bolsa periodontal e 34,1% doença periodontal.

4. DISCUSSÃO

Há uma carência de estudos sobre prevalência do HPV oral no estado do Pará. Foi encontrado apenas um estudo anterior na cidade de Belém em 2014[26], que relatou uma prevalência de 24,1% para o HPV na cavidade oral de indivíduos sem lesões clinicamente diagnosticáveis. Resultado abaixo do que os achados neste estudo (35,4%). O aumento no número de casos pode ser justificado pela incidência alta deste vírus no país. Contudo, os números baixos de infecções por HPV no estado do Pará, devem ser procedentes à pouca testagem do vírus na região[27].

Houve uma prevalência considerável do HPV em pacientes do sexo feminino (39,6%), porém este resultado pode ter sido obtido em consequência ao maior número de mulheres que fizeram parte da pesquisa (64,6%) em relação aos homens (35,4%). Estudos anteriores descreveram que há uma desigualdade de sexo na atenção em saúde, e que as mulheres procuram mais os serviços odontológicos que homens por possuírem maior auto percepção de saúde [28,29,30].

Além disso, dentre as 53 mulheres que participaram da pesquisa, 39,6% testaram positivo para o HPV o que é preocupante visto que há relatos sobre a possibilidade de autoinoculação[31,32]. Em contrapartida, outros estudos negam essa possibilidade[33]. Essa incerteza indica uma necessidade de mais pesquisas sobre o tema. Diferindo desses achados, também houveram relatos que encontraram a prevalência no sexo masculino mais expressiva[9].

Não houve significância estatística no que diz respeito à amostra de adultos jovens (18 a 35 anos) que reagiram positivo para o HPV no sulco gengival, mas foi encontrada uma alta porcentagem neste grupo, representando 45,9% do total. Reforçando este resultado, houve um estudo em 2020[2] que também relatou um número alto do vírus

na orofaringe e cavidade oral da população jovem. Esse achado é um forte indicativo de que o grupo está em idade sexual ativa, sendo possível inferir que há um desuso de preservativo por esta população.

Em relação a saúde bucal, os resultados deste estudo mostram que o HPV parece não ter relação com as variáveis analisadas, visto que o sangramento gengival, cálculo dental, bolsa periodontal e doença periodontal apresentaram baixas porcentagens quando foram associadas ao HPV. Pesquisas anteriores também verificaram esta associação e assim como no presente trabalho, não puderam fazer esta relação [34,35]. Entretanto, outros estudos obtiveram diferentes resultados e estabeleceram uma conexão entre a periodontite e a infecção oral por HPV[9,36]. É de fundamental importância que haja mais estudos para observar essa possível relação.

No presente trabalho, os pacientes apresentaram uma alta prevalência de cálculo dental (79,3%), sangramento gengival (56,1%) e doença periodontal (53,7%). A bolsa periodontal foi a única variável expressa abaixo de 50%, representando 46,3% da amostra. Um estudo similar no Brasil[37], também encontrou porcentagens altas quando analisaram a condição periodontal de seus pacientes. Apenas 5% dos indivíduos apresentaram um periodonto saudável, sem nenhum tipo de implicação (sangramento, cálculo, presença de biofilme e bolsa periodontal), demonstrando que essas variáveis são importantes de serem analisadas e que há necessidade de maiores estratégias de prevenção de doenças bucais.

Levando em consideração os resultados encontrados nesta pesquisa, pode-se inferir que houve uma prevalência considerável de HPV, ainda que sem significância estatística, em pacientes do sexo feminino, e em pessoas jovens, sugerindo que essa população está em alto risco para o desenvolvimento da doença e que medidas se fazem necessárias para mudar essa realidade. Além disso, neste trabalho, observou-se que o papilomavírus humano não apresentou relação com a saúde periodontal dos pacientes.

Este estudo então, pretende contribuir para a literatura do assunto, visto que ainda há uma incompreensibilidade no que se refere a etiologia e a presença desse agente viral associado às patologias orais.

REFERÊNCIAS

1. Cruz-Gregorio A, Aranda-Rivera AK, Pedraza-Chaverri J. Human Papillomavirus-related Cancers and Mitochondria. Virus Research 2020. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198016
2. Menezes FdS, Latorre MdRDdO, Conceição GMdS, Curado MP, Antunes JLF, Toporcov TN. The emerging risk of oropharyngeal and oral cavity cancer in HPV related subsites in young people in Brazil. PLoS ONE 2020; 15(5). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232871
3. Araújo MVA. Correlação entre o câncer bucal e de laringe e a presença do Papilomavírus Humano (HPV) e do vírus Epstein-Barr (EBV) no estado do Pará. [tese de doutorado]. Belém: Núcleo de Medicina Tropical Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Universidade Federal do Pará (UFPA); 2013.
4. Neville BW, Damm DD, Allen, CM, Chi, AC. Patologia Oral e Maxilofacial. Trad. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2016.
5. Betz SJ. HPV-Related Papillary Lesions of the Oral Mucosa: A review. Head and Neck Pathology 2019; 13(1), 80–90. https://doi.org/10.1007/s12105-019-01003-7
6. Piña AR, Fonseca FP, Pontes FSC, Pontes HAR, Pires FR, Mosqueda-Taylor A, et al. Benign epithelial oral lesions – association with human papillomavirus. Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal 2019; 24(3), e290–e295. https://doi.org/10.4317/medoral.22817
7. Terai M, Hashimoto K, Yoda K, Sata T. High prevalence of human papillomaviruses in the normal oral cavity of adults. Oral Microbiology and Immunology 1999; 14(4), 201–205.

https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.1999.140401.x

8. Hormia M, Willberg J, Ruokonen H, Syrjänen S. Marginal Periodontium as a Potential Reservoir of Human Papillomavirus in Oral Mucosa. Journal of Periodontology 2005; 76(3), 358–363. https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.3.358
9. Ortiz AP, González D, Vivaldi-Oliver J, Castañeda M, Rivera V, Díaz E, et al. Periodontitis and oral human papillomavirus infection among Hispanic adults. Papillomavirus Research 2018; 5, 128–133. https://doi.org/10.1016/j.pvr.2018.03.003
10. Dayakar MM, Shipilova A, Gupta D. Periodontal pocket as a potential reservoir of high risk human papilloma virus: A pilot study. Journal of Indian Society of Periodontology 2016; 20(2), 136–140. https://doi.org/10.4103/0972-124X.170815
11. Dalla TD, Burtscher, D., Sölder E, Rasse M, Puelacher W. The correlation between the quality of oral hygiene and oral HPV infection in adults: a prospective cross-sectional study. Clinical Oral Investigations 2019; 23(1), 179–185. https://doi.org/10.1007/s00784-018-2425-y
12. Escalona LC, Correnti M, Veitía D, Perrone M. Detección de virus papiloma humano en el fluido gingival de pacientes con inmunodeficiencia humana y enfermedad periodontal. Investigacion Clinica 2011; 52(3), 207–215.
13. Syrjänen S. Oral manifestations of human papillomavirus infections. European Journal of Oral Sciences 2018;126, 49–66. https://doi.org/10.1111/eos.12538
14. Lefkowitz EJ, Dempsey DM, Hendrickson RC, Orton RJ, Siddell SG, Smith DB. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Nucleic Acids Res. 2017 Oct 13. PubMed PMID: 29040670.

[Internet]. 2020 [acessado em 22 de agosto de 2020]. Disponível em: https://ictv.global/taxonomy/

15. Breiner B, Preuss L, Roos N, Conrady M, Lilie H, Iftner T, Simon C. Refolding and in vitro characterization of human papillomavirus 16 minor capsid protein L2. Biological Chemistry 2018. https://doi.org/10.1515/hsz-2018-0311
16. Cleveland AA, Gargano JW, Park IU, Griffin MR, Niccolai LM, Powell M, et al. Cervical adenocarcinoma in situ: Human papillomavirus types and incidence trends in five states, 2008–2015. International Journal of Cancer 2020; 146(3), 810–818. https://doi.org/10.1002/ijc.32340
17. Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: A comprehensive review. Clinical Science 2017; 131(17), 2201–2221. https://doi.org/10.1042/CS20160786
18. Souza GCS, Silva ER, Macêdo FLS, Soares LRC, Rosal VMS, Rocha MGL. Papilomavírus humano : biologia viral e carcinogênese. Femina 2015; 43(4), 189–192.
19. Candotto V, Lauritano D, Nardone M, Baggi L, Arcuri C, Gatto R, et al. HPV infection in the oral cavity: Epidemiology, clinical manifestations and relationship with oral cancer. Oral and Implantology 2017; 10(3), 209–220. https://doi.org/10.11138/orl/2017.10.3.209
20. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST) – Brasília: Ministério da Saúde, 2020.
21. Rodrigues AF, Sousa JA. Papilomavírus humano : prevenção e diagnóstico Human papilomavirus : prevention and diagnosis. Rev. Epidemiol. Control. Infec. 2015, 197–202.

22. Shipilova A, Dayakar MM, Gupta D. High risk human papillomavirus in the periodontium : A case control study. Journal of Indian Society of Periodontology 2017; 21(5), 380–385. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_56_17

23. Wendland EM, Villa LL, Unger ER, Domingues CM, Benzaken AS. Prevalence of HPV infection among sexually active adolescents and young adults in Brazil: The POP-Brazil Study. Scientific Reports 2020; 10(1), 4920. https://doi.org/10.1038/s41598-020-61582-2

24. World Health Organization. Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer. [Internet] 2019 [acessado em 28 de agosto de 2020]. Disponível em: https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/human-papillomavirus-(hpv)-and-cervical-cancer

25. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas da Saúde. Departamento de Atenção Básica. Área Técnica de Saúde Bucal. Projeto SB2010: condições de saúde bucal da população brasileira no ano 2010. Manual da equipe de campo. Brasília: 2009. 53p

26. Araújo MVA, Pinheiro HHC, Pinheiro JJV, Quaresma JAS, Fuzii HT, Medeiros, RC. Prevalência do papilomavírus humano (HPV) em Belém, Pará, Brasil, na cavidade oral de indivíduos sem lesões clinicamente diagnosticáveis. Cadernos de Saúde Pública 2014; 30(5), 1115–1119. https://doi.org/10.1590/0102-311X00138513

27. Colpani V, Falcetta FS, Bidinotto AB, Kops NL, Falavigna M, Hammes LS, et al. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in Brazil: A systematic review and meta-analysis. In PLoS One 2020; 15(2). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229154

28. Bortoli FR, Moreira MA, Moretti-Pires RO, Botazzo C, Kovaleski DF. Percepção da saúde bucal em mulheres com perdas dentárias extensas. Saúde e Sociedade 2017; 26(2), 533–544. https://doi.org/10.1590/s0104-12902017162160
29. Júnior ECS, Souza TB. Estudo da demanda ambulatorial da clínica de odontologia da Universidade do estado do Amazonas. Ciência e Saúde Coletiva 2011; 16 (SUPPL. 1), 993–997. https://doi.org/10.1590/S1413-81232011000700031
30. Rego MA, Rocha WMS, Ferreira EF. Perfil do paciente idoso referenciado ao consultório odontológico do Instituto Jenny de Andrade Faria HC/UFMG. Revista de Odontologia da UNESP 2013; 42(1), 42–47. https://doi.org/10.1590/s1807-25772013000100008
31. Castro TMPG, Neto CER, Scala KA, Scala WA. Manifestações orais associada ao papilomavírus humano (HPV) conceitos atuais: revisão bibliográfica. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia 2004; 70(4), 546–550. https://doi.org/10.1590/s0034-72992004000400017
32. Figueirêdo CBM, Alves LDS, Silva CCAR, Soares MFL, Luz CCM, Figueirêdo PAF, et al. Abordagem terapêutica para o Papilomavírus humano (HPV). Rev. Bras. Farm 2013; 94(1), 4–17.
33. Eggersmann TK, Sharaf K, Baumeister P, Thaler C, Dannecker CJ, Jeschke U, et al. Prevalence of oral HPV infection in cervical HPV positive women and their sexual partners. Archives of Gynecology and Obstetrics 2019; 299(6), 1659–1665. https://doi.org/10.1007/s00404-019-05135-7
34. Wiener RC, Sambamoorthi U, Jurevic RJ. Association of Periodontitis and Human Papillomavirus in Oral Rinse Specimens, NHANES 2009–2012. J Am

Dent Assoc. 2015 June; 146(6): 382–389. https://doi.org/10.1016/j.adaj.2015.01.019

35. Horewicz VV, Feres M, Rapp GE, Yasuda V, Cury PR. Human Papillomavirus-16 Prevalence in Gingival Tissue and Its Association With Periodontal Destruction: A Case-Control Study. Journal of Periodontology 2010; 81(4), 562–568. doi:10.1902/jop.2009.090571
36. McDaniel JT, Davis JM, McDermott RJ, Maxfield I., Kapatamoyo K. Predicted prevalence of oral human papillomavirus (HPV) by periodontitis status and HPV vaccination status. Journal of Public Health Dentistry 2020. Doi:10.1111/jphd.12357
37. Silva-Junior MF, Sousa ACC, Batista MJ, Sousa MLR. Condição de saúde bucal e motivos para extração dentária entre uma população de adultos (20-64 anos). Ciência & Saúde Coletiva 2017; 22(8), 2693-2702. https://dx.doi.org/10.1590/1413-81232017228.22212015

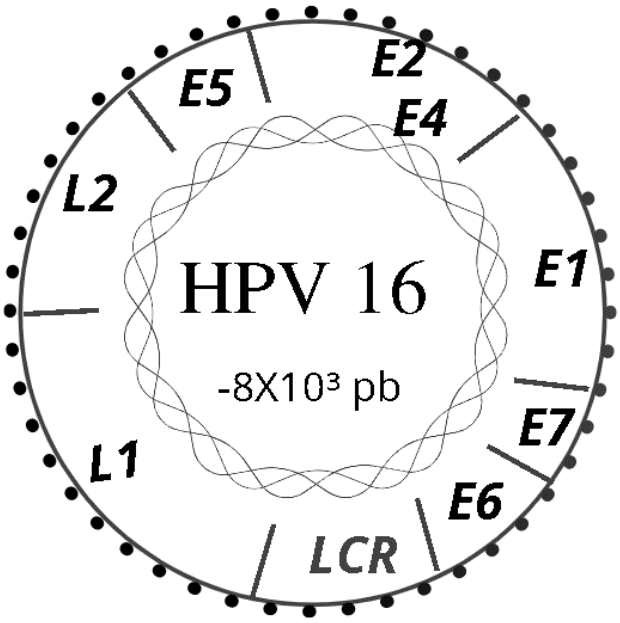


Figura 1 – Representação do genoma do papilomavírus humano 16, exibindo a organização dos genes e da região longa de controle (LCR).

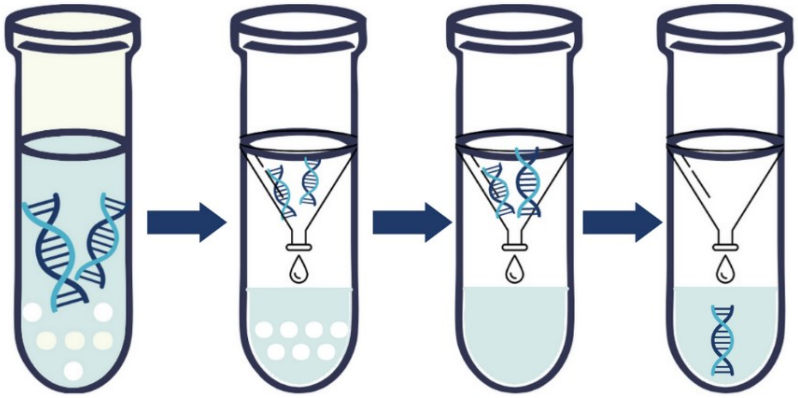


Figura 2 - Protocolo de purificação da coluna. O procedimento de purificação do genoma de DNA a partir das amostras usando o Invitrogen™ PureLink™. Os kits de purificação utilizam 4 passos: lise, lavagem, eluição e purificação.

Tabela 1. Prevalência de HPV em relação ao sexo, grupo etário, e condições periodontais nos indivíduos examinados, 2019.

Variáveis		HPV						p*
		Positivo		Negativo		Total		
		n	%	n	%	n	%	
Sexo	Feminino	21	39,6	32	60,4	53	100,0	0,276
	Masculino	8	27,6	21	72,4	29	100,0	
Grupo etário	Até 35 anos	17	45,9	20	54,1	37	100,0	0,069
	> 35 anos	12	26,7	33	73,3	45	100,0	
Sangramento gengival	Sim	15	32,6	31	67,4	46	100,0	0,555
	Não	14	38,9	22	61,1	36	100,0	
Cálculo dental	Sim	23	35,4	42	64,6	65	100,0	0,994
	Não	6	35,3	11	64,7	17	100,0	
Bolsa periodontal	Sim	14	36,8	24	63,2	38	100,0	0,795
	Não	15	34,1	29	65,9	44	100,0	
Doença periodontal	Sim	15	34,1	29	65,9	44	100,0	0,795
	Não	14	36,8	24	63,2	38	100,0	
Total		**29**	**35,4**	**53**	**64,6**	**82**	**100,0**	

*Probabilidade calculada pelo teste do qui-quadrado.

ANEXO I - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFPA - NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL-NMT

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA DO VÍRUS EPSTEIN-BARR, CITOMEGALOVÍRUS E PAPILOMAVÍRUS HUMANO NA DOENÇA PERIODONTAL

Pesquisador: Marizeli Viana de Aragao Araujo

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 41625215.0.0000.5172

Instituição Proponente: Núcleo de Medicina Tropical-NMT/ Universidade Federal do Pará - UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.277.568

Apresentação do Projeto:

O tema do estudo é a doença periodontal, a segunda doença mais prevalente na cavidade bucal que compreende um grupo de lesões de caráter inflamatório que afeta os tecidos de proteção e sustentação do dente, sendo denominadas de gengivite e periodontite, respectivamente. A doença periodontal é uma doença multifatorial induzida por um complexo de espécies bacterianas em interação com outros fatores. Além das bactérias patogênicas já se verificou associações dos vírus à etiologia de doenças orais como os herpes vírus: Epstein-Barr (EBV) e o Citomegalovírus (CMV). Tem sido demonstrado que o CMV tem determinado úlceras e erosões dolorosas nos lábios, língua e mucosa bucal e também tem sido relacionado como potencial oncogênico. O EBV é transmitido pelo contato salivar e estabelece uma infecção latente ao longo da vida que geralmente é assintomática. Além deles, o papilomavírus humano tem sido considerado na atualidade um possível fator de risco para odesenvolvimento da doença periodontal. Desta forma, Assim, torna-se importante realizar pesquisa que comprovem a presença ou não do HPV em sítios que possam influenciar no agravo da doença e proporcionar um

Endereço: Av. Generalíssimo Deodoro, 92
Bairro: Umarizal **CEP:** 66.055-240
UF: PA **Município:** BELEM
Telefone: (91)3201-0961 **E-mail:** cepbel@ufpa.br

diagnóstico adequado para o tratamento precoce da doença, interrompendo o curso da doença e preservando os elementos dentários.

Objetivo da Pesquisa:

O estudo propõe verificar a prevalência do vírus Epstein-Barr (EBV), do Citomegalovírus (CMV) e do papilomavírus humano (HPV) no sulco gengival em dois grupos de indivíduos, um acometido pela doença periodontal e outro sem doença periodontal. Além disso, verificar os tipos mais prevalentes de EBV (1 e 2) e correlacionar a presença do EBV e do CMV com a severidade da doença periodontal e com o edentulismo (uso e necessidade de prótese).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o protocolo de pesquisa os riscos aos participantes serão mínimos, o exame clínico e a colheita de material são indolores e serão realizados por um operador qualificado; a identificação do indivíduo será mantida em sigilo, podendo o mesmo retirar seu consentimento a qualquer momento.
Os benefícios aos participantes da pesquisa envolvem o diagnóstico da doença periodontal e orientação de tratamento, porém, os dados obtidos na pesquisa poderão contribuir para elucidar a etiopatogenia da doença periodontal e favorecer no seu diagnóstico e tratamento, possibilitando maior preservação das estruturas dentárias.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nesta emenda foi solicitada a inserção do estudo do papilomavírus humano (HPV) no sulco gengival, além da extensão do cronograma.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos necessários para a realização da pesquisa foram apresentados, tais como a folha de rosto que está devidamente assinada pelos responsáveis pela pesquisa, o TCLE que se encontra em conformidade com a Resolução Nº 466/2012 do Ministério da Saúde e declaração de aceite de Instituição co -participante.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_885907_E1.pdf	21/03/2017 21:53:25		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETODPERIODONTAL2017.pdf	21/03/2017 21:43:54	Marizeli Viana de Aragao Araujo	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoDP.pdf	21/03/2017 20:24:40	Marizeli Viana de Aragao Araujo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEDoencaperiodontal2017.pdf	21/03/2017 11:57:49	Marizeli Viana de Aragao Araujo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO EBV DPERIODONTAL ATUAL.pdf	23/05/2015 18:31:03		Aceito
Outros	declaração autorização EBV FO.jpg	23/05/2015 18:30:16		Aceito
Outros	cv_7849256617873180lates Marizeli.pdf	05/02/2015 22:52:15		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE Doença periodontal.pdf	05/02/2015 22:37:31		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ANEXO II: Trabalho elaborado e formatado conforme as normas da Revista Brasileira de Epidemiologia (RBE) sendo um periódico científico publicado pela Associação Brasileira de Saúde Coletiva.

Disponível em: https://www.abrasco.org.br/site/wp-content/uploads/2020/07/RBE_INSTRU%C3%87%C3%95ES-AOS-AUTORES_16_07_2020.pdf

Políticas da Revista Brasileira de Epidemiologia

Política de ética e transparência na publicação

Princípios gerais

A RBE segue as orientações de ética e transparência na publicação contidas no documento Princípios de Transparência e Boas Práticas em Publicações Acadêmicas, publicado pelo Committee on Publication Ethics (COPE), pelo Directory of Open Access Journals (DOAJ), pela Open Access Scholarly Publishers Association (OASPA) e pela World Association of Medical Editors (WAME). Ele pode ser acessado na íntegra em https://doi.org/10.24318/cope.2019.1.12.

Aprovação por Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

Todos os trabalhos submetidos à RBE devem ter seguido as recomendações de ética em pesquisa da Declaração de Helsinque e as normas constantes nas Resoluções nº 466/2012 e nº 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil. A aprovação por um Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é dispensada para estudos que analisam dados agregados e sem identificação das pessoas, tais como aqueles disponíveis em bancos de dados oficiais de domínio público. Nenhuma instância é superior ao CEP para analisar a natureza das propostas de investigação, seguindo a orientação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde (CONEP). O CEP que aprova a investigação deve ser registrado na CONEP. É obrigatório o envio da cópia do parecer do CEP no ato da submissão.

Registro de ensaios clínicos

A RBE apoia as políticas da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) para registro de ensaios clínicos, reconhecendo a importância dessas iniciativas para o registro e divulgação internacional de informação em acesso aberto. Por essa razão, são aceitos para publicação somente os artigos de pesquisa clínicas que tenham recebido um número de identificação em um dos dos registros de ensaios clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE, cujos endereços estão disponíveis no site do ICMJE. O número de identificação/aprovação deverá ser registrado na Folha de rosto. As entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são:

• Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR);

• ClinicalTrials.gov;

• International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN);

• Nederlands Trial Register (NTR);

• UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR);

• WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP).

Critérios de autoria

Para a definição de autoria dos artigos, a RBE acompanha as Recomendações para Elaboração, Redação, Edição e Publicação de Trabalhos Acadêmicos em Periódicos Médicos, elaboradas pelo International Committee of Medical Journal Editors. Os autores devem seguir as diretrizes disponíveis em http://www.icmje.org/, traduzidas para o português no artigo de Duarte e Pansani (2015), disponível em https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2237- 96222015000300577.

Má conduta em pesquisa

A RBE incorpora em seus protocolos rígidas diretrizes para prevenir e identificar eventuais más condutas nas pesquisas. Caso identificado algum sinal de má conduta no estudo submetido à revista, os Editores-Chefes seguem as diretrizes COPE para lidar com a situação.

Compartilhamento de dados

A RBE incentiva que os autores disponibilizem publicamente os dados brutos dos seus estudos e as rotinas utilizadas nas análises dos dados. No caso de estudos de intervenção, os dados devem, obrigatoriamente, estar disponíveis em acesso aberto ou a pedido, sempre anonimizados.

Política do processo de revisão por pares

O processo de revisão por pares é etapa vital do processo editorial do artigo, por isso a RBE dedica a ele muito cuidado. Ao mesmo tempo, a revista entende que a agilidade do processo editorial é muito importante para os autores e para a comunidade científica. Assim, a RBE procura sempre oferecer análises com ética, máximo rigor científico e agilidade. Para isso, são seguidas as seguintes etapas:

1) Análise de mérito pelos Editores-Chefes: todos os manuscritos recebidos são analisados pelos Editores-Chefes, que avaliam (a) a adequação do estudo ao escopo da revista, (b) a contribuição que ele oferece ao avanço do conhecimento, (c) a sua originalidade, (d) o rigor metodológico com que o estudo foi conduzido, (e) a aderência das conclusões aos resultados apresentados.

2) Revisão técnica dos manuscritos: a secretaria-executiva da RBE avalia se os manuscritos selecionados pelos Editores-Científicos estão formatados de acordo com as instruções técnicas da revista. Caso alguma incorreção seja identificada, o manuscrito é devolvido ao autor de correspondência com a indicação do ajuste necessário. Apenas textos que atendam a todos os critérios de forma descritos nas "Instruções aos Autores" passam à revisão por pares.

3) Revisão por pares: os manuscritos selecionados pelos Editores-Chefes são encaminhados a um Editor-Associado, que sempre será um pesquisador com sólida e reconhecida formação no tema do manuscrito. Ele irá indicar revisores com notória competência para análise do estudo. Cada manuscrito irá receber no mínimo dois

pareceres, que serão analisados pelo Editor-Associado para elaboração de um parecer aos Editores-Chefes. O processo de revisão por pares adotado pela RBE é duplo-cego, ou seja, revisores e autores não conhecem as identidades uns dos outros.

4) Decisão editorial: Com base nos pareceres dos revisores e do Editor Associado, os Editores-Chefes decidem (1) pela recusa do manuscrito; (2) por oferecer nova chance aos autores mediante apreciação e resposta aos pareceres recebidos; ou (3) aprovação com ou sem mudanças. No caso dos desfechos 2 e 3, a apreciação da nova versão do manuscrito pode ser feita apenas pelos editores ou o texto revisado pode ser enviado novamente a revisores ad hoc. Mais de uma rodada de avaliação do manuscrito pode ser necessária, de acordo com os pareceres dos editores. A não observância pelos autores dos prazos de revisão estipulados pela revista pode resultar no arquivamento da submissão. A RBE analisa todos os manuscritos submetidos em sistema para identificação de plágio. A RBE reforça aos revisores a necessidade de rigorosa observância dos requisitos éticos para revisão por pares elaborados pelo Committee on Publication Ethics, conforme disponível em https://publicationethics.org/files/Ethical_Guidelines_For_Peer_Reviewers_ 2.pdf

Equidade de gênero

Editores e revisores da Revista Brasileira de Epidemiologia, além dos autores que publicam na revista, devem sempre observar as diretrizes sobre Equidade de Sexo e Gênero em Pesquisa (Sex and Gender Equity in Research - SAGER). As diretrizes SAGER compreendem um conjunto de diretrizes que orientam o relato de informações sobre sexo e gênero no desenho do estudo, na análise de dados e nos resultados e interpretação dos achados, conforme descrito em inglês em https://www.equator-network.org/reporting-guidelines/sagerguidelines/ e em português em https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2237-96222017005001101&lng=en&nrm=iso&tlng=pt. Além disso, a RBE observa a política de equidade de gênero na formação de seu corpo de editores e revisores.

Tipos de manuscritos aceitos

A RBE recebe manuscritos nas seguintes categorias:

• **Artigos originais**: com resultados inéditos de pesquisas (máximo de 3.400 palavras);

• **Artigos de revisão sistemática e metanálise** (não são aceitas revisões integrativas; máximo de 3.400 palavras);

• **Artigos metodológicos e ensaios teóricos**: artigos que tratem de técnicas ou teorias utilizadas em estudos epidemiológicos (máximo de 3.400 palavras);

• **Artigos que descrevam e analisem os procedimentos metodológicos de estudos conduzidos no Brasil**: o objetivo é apresentar como se dá a construção de estudos de base populacional, sejam transversais ou de coorte, compartilhando experiências, desafios e soluções. A Introdução deve apresentar o contexto e sua justificativa; os Métodos devem conter os procedimentos adotados, público participante, medidas realizadas, desafios e soluções; os Resultados devem contemplar os principais resultados gerais do estudo; e a Discussão deve apresentar as suas implicações, como o artigo se situa diante das demais pesquisas e incluir suas fortalezas e limitações (máximo de 3.400 palavras);

• **Artigos para Debate**: o artigo receberá comentários e análises de diferentes autores na forma de consenso/dissenso. Essa modalidade ocorre a convite dos editores (máximo de 2.000 palavras);

• **Comunicações breves**: relatos curtos dos resultados de pesquisa original. Em geral são análises mais enxutas e com breve discussão dos resultados (máximo de 1.000 palavras, 2 tabelas/figuras e até 6 referências);

• **Cartas ao Editor**: comentários de leitores sobre trabalhos publicados na Revista Brasileira de Epidemiologia (de 500 a 700 palavras). A contagem das palavras contempla Introdução, Métodos, Resultados e Discussão (folha de rosto, resumo, abstract, referências, tabelas e figuras não são incluídas nessa contagem). Os manuscritos apresentados devem destinar-se exclusivamente à Revista Brasileira de Epidemiologia, não sendo permitida sua apresentação simultânea a outro periódico. As informações e os conceitos presentes nos artigos, bem como a veracidade dos conteúdos das pesquisas, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

Apresentação dos manuscritos

Os manuscritos são aceitos em português, espanhol ou inglês. Os artigos em português e espanhol devem ser acompanhados do resumo no idioma original do texto, além de abstract em inglês. Os artigos em inglês devem ser acompanhados do abstract no idioma original do artigo, além de resumo em português. Os manuscritos devem ser apresentados obrigatoriamente com a seguinte estrutura, em arquivo único:

• **Folha de rosto**

A folha de rosto deve conter:

• título do manuscrito em português e inglês (máximo de 25 palavras cada título);

• título resumido (máximo de 10 palavras);

• dados dos autores (nomes completos, e-mails, números ORCID, entidades institucionais de vínculo profissional com cidades, estados e países — titulação e cargo não devem ser descritos);

• indicação do autor para correspondência, com seu endereço completo e email; • agradecimentos (máximo de 70 palavras). Podem ser mencionadas nos agradecimentos pessoas que colaboraram com o estudo, porém não preencheram os critérios de autoria, e/ou instituições que apoiaram a pesquisa com recursos financeiros, logísticos ou outros. Os autores devem enviar à RBE a anuência (formulário assinado) das pessoas mencionadas nos agradecimentos;

• informação quanto à existência ou ausência de conflitos de interesses;

• fonte de financiamento, informando se público ou privado; se não houver, mencionar que o estudo não contou com financiamento;

• número de identificação/aprovação do CEP; • colaboração individual de cada autor na elaboração do manuscrito. Nas páginas que seguem, iniciando sempre em nova página, as seguintes seções devem ser apresentadas:

• **Resumo e abstract**

Os resumos devem ter, no máximo, 250 palavras e devem ser apresentados na forma estruturada, contemplando as seções: Objetivo, Métodos, Resultados e Conclusões. As mesmas regras aplicam-se ao abstract. Os autores deverão apresentar no mínimo quatro e no máximo seis palavras chave no idioma em que o manuscrito foi apresentado e em inglês. Caso o idioma seja o inglês, as palavras-chave também devem ser enviadas em português. Esses descritores devem estar padronizados conforme os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) (disponíveis em http://decs.bvs.br/).

• Introdução

• Métodos

• Resultados

• Discussão

Recomenda-se que o(s) último(s) parágrafo(s) da Discussão seja(m) destinado(s) às conclusões e recomendações.

• Referências

Devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a primeira menção no texto e utilizando-se algarismos arábicos sobrescritos. A listagem final deve seguir a ordem numérica do texto, ignorando a ordem alfabética dos autores. Não devem ser abreviados títulos de livros, editoras ou outros. Os títulos de periódicos seguirão as abreviaturas do Index Medicus/Medline. Devem constar os nomes dos seis primeiros autores, seguidos da expressão et al. quando ultrapassarem esse número. Sempre que disponível, o Digital Object Identifier (DOI) deve ser informado ao final da referência, conforme exemplo a seguir. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências, sendo apresentados somente no corpo do texto ou em nota de rodapé. Quando um artigo estiver em vias de publicação, deverão ser indicados o título do periódico, o ano e outros dados disponíveis, seguidos da expressão, entre parênteses, “No prelo” ou “In press”. A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

EXEMPLOS DE REFERÊNCIAS

Artigo de periódico

Vieira LS, Gomes AP, Bierhals IO, Farías-Antunez S, Ribeiro CG, Miranda VIA, et al. Quedas em idosos no Sul do Brasil: prevalência e determinantes. Rev Saúde Pública 2018; 52: 22. https://doi.org/10.11606/s518- 8787.2018052000103

Barros AJ, Victora CG. Measuring coverage in MNCH: determining and interpreting inequalities in coverage of maternal, newborn, and child health interventions. PLoS Med 2013; 10: e1001390. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001390

Livros e outras monografias

Kirkwood BR, Sterne JAC. Essentials of medical statistics. 2ª ed. Malden: Blackwell Science; 2003.

Capítulo de livro

Laurenti R. Medida das doenças. In: Forattini OP, ed. Ecologia, epidemiologia e sociedade. São Paulo: Artes Médicas; 1992. p. 369-98.

Dissertação

Terlan RJ. Prevalência de não realização de citopatológico de colo de útero entre gestantes no município de Rio Grande, RS [dissertação de mestrado]. Rio Grande: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Rio Grande (FURG); 2015.

Tese

Barros S. Efeito da respiração lenta na pressão arterial e na função autonômica em hipertensos [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP); 2017.

Trabalho de congresso ou similar (publicado)

Jacobina AT. A emergência do movimento da reforma sanitária brasileira e sua relação com os partidos políticos. In: Anais do Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva; 2018 jul 26-29; Rio de Janeiro, Brasil. Rio de Janeiro: ABRASCO; 2018. Disponível em: https://proceedings.science/saude-coletiva2018/papers/a-emergencia-do-movimento-da-reforma-sanitaria-brasileira-esua-relacao-com-os-partidos-politicos

Relatório da Organização Mundial da Saúde

World Health Organization. Global status report on non-communicable diseases 2010. Genebra: World Health Organization; 2011. Documentos eletrônicos Brasil. Indicadores e dados básicos: IDB Brasil [Internet]. 2010 [acessado em 7 mar. 2019]. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2010/matriz.htm#mort

Figuras e tabelas

As tabelas e figuras (gráficos, mapas e desenhos) deverão ser inseridas no final do manuscrito, não sendo permitido o envio em arquivos separados. Deve haver quebra de página entre cada uma delas, respeitando o número máximo de cinco páginas dedicadas a tabelas e figuras. Não formatar tabelas usando a tecla TAB; utilizar a ferramenta de tabelas do programa de editor de texto. As ilustrações podem ter, no máximo, 15 cm de largura na orientação retrato e 24 cm de largura na orientação paisagem e ser apresentadas dentro da margem solicitada (configuração nomeada pelo Word como “Normal”). São aceitas figuras coloridas. As fotos devem ser fornecidas em alta resolução; os gráficos, em formato editável; e as tabelas, equações, quadros e fluxogramas devem ser enviados sempre em arquivo editável (MS Word ou MS Excel), nunca em imagem.

Material suplementar

Materiais adicionais que contribuam para melhor compreensão do artigo podem ser submetidos pelos autores. Esses arquivos ficarão disponíveis online e devem ser mencionados no corpo do texto. No entanto, esse material não será incorporado na diagramação do artigo e será publicado na forma em que for recebido. Caso o manuscrito seja aprovado para publicação, os documentos suplementares não passarão por revisão, padronização, diagramação ou tradução. Cada arquivo suplementar deve ser acompanhado de título que o descreva. Os autores devem transferir os arquivos em PDF, com a opção Arquivo Complementar para Avaliação (Supplemental File for Review). O conteúdo desses arquivos não deve ser inserido no final do manuscrito. Todos devem ser

suficientemente claros para permitir sua reprodução e as imagens devem ser fornecidas em alta resolução.

Conflito de interesses

Todos os autores devem manifestar a existência ou a ausência de conflitos de interesses na realização do estudo. Os conflitos de interesses podem ocorrer quando algum autor ou instituição tem relações de qualquer natureza com organizações ou indivíduos que podem influenciar o estudo em questão. Exemplos de conflitos de interesses incluem vinculação de emprego, prestação de serviços de consultoria, financiamento ou outro auxílio financeiro recebido, participação acionária em empresas, posse de patentes e homenagens recebidas. Caso não haja conflito de interesses, os autores devem declarar: "Os autores informam a inexistência de qualquer tipo de conflito de interesses". A informação sobre conflitos de interesses deve ser incluída na folha de rosto.

Declarações

Todos os autores deverão concordar e assinar a declaração de conflito de interesses, a declaração de direitos autorais e a declaração de exclusividade da primeira publicação. Não é necessário o envio das declarações na submissão do manuscrito. Os documentos serão solicitados pela secretaria da RBE apenas após a aprovação do manuscrito.

Uso de guias para relato de informações científicas

Recomenda-se aos autores, sempre que pertinente, a leitura e a observância dos guias de redação científica. Para ensaios clínicos, recomenda-se o CONSORT (http://www.consort-statement.org/), para estudos observacionais o STROBE (http://www.strobe-statement.org) e para revisões sistemáticas o PRISMA (http://www.prisma-statement.org). Sugere-se o portal da Rede EQUATOR (Enhancing the QUAlity and Transparency Of health Research) para acesso a outros guias e para orientações adicionais que visam garantir qualidade e transparência nas pesquisas em saúde (https://www.equator-network.org).

Outras orientações

Todo o conteúdo do artigo (folha de rosto, resumo, abstract, introdução, método, resultados, discussão, referências bibliográficas e ilustrações) deve ser apresentado em fonte Times New Roman, tamanho 12 e espaço entrelinhas duplo. Não utilizar quebras de linha. Não utilizar hifenizações manuais forçadas. O arquivo final completo (folha de rosto, seções, referências e ilustrações) deve ser submetido somente no formato DOC (Microsoft Word). Quando abreviaturas forem citadas pela primeira vez no texto, devem ser acompanhadas pelo termo por extenso. Não devem ser utilizadas abreviaturas no título e no resumo.

APÊNDICE I -TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, Marizeli Viana de Aragão Araújo, doutora em Doenças Tropicais, estou realizando uma pesquisa chamada "PREVALÊNCIA DO VÍRUS EPSTEIN-BARR, CITOMEGALOVÍRUS E PAPILOMAVÍRUS HUMANO NA DOENÇA PERIODONTAL", juntamente com os professores Hellen Thais Fuzii, Regina Fátima Feio Barroso, Danielle Tupinambá Emmi, Helder Henrique Costa Pinheiro e as estudantes de Odontologia Ana Cristina Cardoso Santos, Marcela Fernanda dos Santos Rocha e Yngrid Fernanda Oliveira Paes.

O objetivo deste trabalho é verificar a associação entre a presença do vírus Epstein Barr, Citomegalovírus e Papilomavirus humano com a doença periodontal.

A doença periodontal pode se manifestar desde um pequeno sangramento na gengiva até o amolecimento do dente e a necessidade de sua extração por falta de sustentação.

Sua participação nesta pesquisa é voluntária e constará de um exame na sua boca para verificar se você apresenta sangramento gengival, tártaro, bolsa periodontal e se tem ausência de dentes e precisa usar prótese dental. Durante o exame iremos colher com uma microescova líquido do sulco gengival para confirmar a ausência ou presença destes vírus. Sua boca poderá ser fotografada nesta ocasião, porém sem identificá-lo, por isso você não sofrerá risco físico e psicológico, já que o material colhido durante o exame não causa dor e você não será identificado.

Sua participação não trará qualquer benefício direto, mas proporcionará um melhor conhecimento sobre a relação dos vírus estudados com a doença periodontal.

Você terá a garantia de que as informações obtidas serão analisadas com a preocupação de evitar a identificação de qualquer um dos participantes da pesquisa. Você tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo. Você também tem o direito de ser mantido informado sobre os resultados parciais das pesquisas e caso solicite terá todas as informações disponíveis a qualquer momento.

Não existirão despesas ou compensações pessoais para os participantes da pesquisa em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Eu me comprometo a utilizar os dados coletados somente para pesquisa e os resultados serão veiculados em artigos científicos em revistas especializadas ou encontros científicos e congressos, sem nunca identificar os participantes.

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, localizado na Av. Generalíssimo Deodoro n° 92, Belém-Pará.

Abaixo está o consentimento livre e esclarecido para ser assinado caso não tenha ficado qualquer dúvida.

Consentimento livre e esclarecido

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o trabalho "PREVALÊNCIA DO VÍRUS EPSTEIN-BARR, CITOMEGALOVÍRUS E PAPILOMAVÍRUS HUMANO NA DOENÇA PERIODONTAL". Eu discuti com os pesquisadores sobre minha decisão de participar deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos constantes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso aos resultados e de esclarecer minhas dúvidas a qualquer tempo. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Belém __/__/__

Nome: _____

Documento de identidade: _____ Telefone: _____

Endereço: _____

_____

Assinatura do paciente ou responsável legal

_____

Pesquisadora: Marizeli Viana de Aragão Araújo - CRO-PA 1555

Endereços para contato:

Laboratório de Imunopatologia do NMT: Av. Generalíssimo Deodoro, nº 92 - CEP 66055-240. Bairro Umarizal, Telefone: 3201-0954.

Comitê de Ética e Pesquisa do NMT: Av. Generalíssimo Deodoro, nº 92 CEP 66055-240, Bairro Umarizal, Telefone: 3201-6857. E-mail: cepbel@ufpa.br