



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E SAÚDE HUMANA

ALISSON DE AQUINO FIRMINO

**AVALIAÇÃO DO AMBIENTE CÉRVICO-VAGINAL EM MULHERES INFECTADAS
PELO HTLV-1**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

SALVADOR
2017

ALISSON DE AQUINO FIRMINO

**AVALIAÇÃO DO AMBIENTE CÉRVICO-VAGINAL EM MULHERES INFECTADAS
PELO HTLV-1**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Medicina e Saúde Humana da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina e Saúde Humana.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Fernanda Rios Grassi

SALVADOR
2017

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas

F525 Firmino, Alisson de Aquino.
Avaliação do ambiente cérvico-vaginal em mulheres infetadas pelo HTLV-1: /
Alisson de Aquino Firmino. - 2017.
, 69 f. : il. color. ; 30 cm.
Orientadora: Maria Fernanda Rios Grassi.

Mestre em Medicina e Saúde Humana 2017.
Inclui bibliografia.

1. HTLV-1. 2. Citocinas inflamatórias. 3. Carga provinal vaginal. 4.
Lubrificação vaginal. 5. Citopatologia cérvico-vaginal.

I. Título.

CDU 618

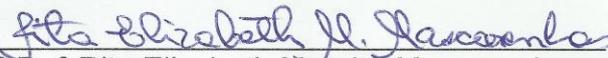
ALISSON DE AQUINO FIRMINO

**“AVALIAÇÃO DO AMBIENTE INFLAMATÓRIO CÉRVICO-VAGINAL
EM MULHERES INFECTADAS PELO HTLV-1”**

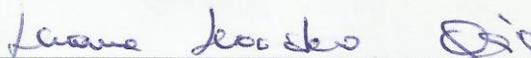
Dissertação apresentada à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Medicina e Saúde Humana.

Local, 29 de maio de 2017.

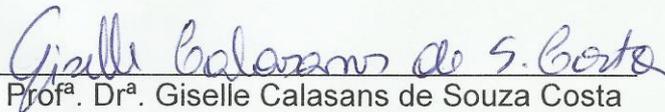
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Rita Elizabeth Moreira Mascarenhas
Doutora em Biologia Celular e Molecular
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP



Prof.^a Dr.^a Luana Leandro Gois
Doutora em Medicina em Saúde e Medicina Investigativa
Universidade Católica do Salvador



Prof.^a Dr.^a Giselle Calasans de Souza Costa
Doutora em Medicina em Saúde e Medicina Investigativa
Universidade Federal da Bahia, UFBA

Aos meus pais por todo amor incondicional, determinação, esforço e incentivo; aos meus irmãos Vinicius e Cláudia pelo companheirismo e amizade.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me manter saudável e me dar forças permitindo assim que eu pudesse realizar este trabalho.

Aos meus pais e irmãos por todo carinho, amor e dedicação para a conclusão desta etapa.

Aos meus velhos amigos por entenderem minha ausência em certos momentos e aos novos da vida acadêmica por acompanharem cada passo meu até o presente.

À minha orientadora Dr.^a Maria Fernanda Rios Grassi por todo conhecimento que me tem passado, competência, dedicação, amizade e confiança.

Ao Dr. Bernardo Galvão Castro Filho pelo pesquisador ímpar e que tenho privilégio de conhecer.

À Ma. Adenilda Lima Lopes Martins pela amizade e parceria firmada para a realização deste trabalho.

Aos alunos de iniciação científica Taiane Silva Paixão e Jean Paulo Lacerda Araújo pela contribuição na execução do trabalho.

À Dr.^a Luana Gois e ao Dr. Everton Batista pelo suporte nas análises laboratoriais.

À Ma. Fernanda Khouri pelo suporte dado nessa jornada de trabalho e grande amizade.

Ao BMCITO Laboratório pela contribuição nas análises citopatológicas.

Aos profissionais do Centro de HTLV por estarem sempre solícitos e dispostos a auxiliar em qualquer eventual necessidade de suporte.

Aos funcionários do Laboratório Avançado de Saúde Pública – LASP da Fundação Oswaldo Cruz – BA pela presteza e constante apoio.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino.”

(Leonardo da Vinci)

INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP)

Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz - Fundação Oswaldo Cruz, Bahia

FONTES DE FINANCIAMENTO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)

RESUMO

Introdução: O Vírus Linfotrófico de Células T Humanas do tipo 1 (HTLV-1) é endêmico em várias regiões do mundo, incluindo o Brasil. A prevalência da infecção é maior entre as mulheres e aumenta com a idade. O vírus induz a produção de citocinas inflamatórias e a carga proviral está implicada no desenvolvimento de doenças associadas ao HTLV-1. Indivíduos infectados pelo HTLV-1 podem apresentar secura das mucosas ocular, oral, além de xerodermia. Em relação ao ambiente vaginal, não está estabelecido se a infecção pelo HTLV-1 induz um ambiente inflamatório ou o ressecamento da mucosa em mulheres infectadas. **Objetivo:** Comparar o ambiente inflamatório cérvico-vaginal de mulheres infectadas e não infectadas pelo HTLV-1 através do perfil de citocinas, índice de lubrificação e achados citopatológicos. **Métodos:** Trata-se de estudo de corte transversal. Foram incluídas sequencialmente 112 mulheres, sendo 63 infectadas e 49 não infectadas pelo HTLV-1 acompanhadas no Centro de HTLV e ambulatório de ginecologia da EBMSp em Salvador. Todas as voluntárias foram submetidas a exame ginecológico para coleta de material cérvico-vaginal. A quantificação das citocinas em fluido vaginal foi realizada através do kit *Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17*. A carga proviral vaginal foi mensurada pelo método de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) quantitativo em tempo real e a citopatologia cérvico-vaginal por meio de microscopia óptica. A avaliação da lubrificação vaginal foi realizada através do domínio da lubrificação do questionário FSFI (Índice de Função Sexual Feminina). **Resultados:** Não foram observadas diferenças nas variáveis sociodemográficas entre as mulheres infectadas (HTLV⁺) e não infectadas (HTLV⁻), exceto para renda familiar que foi menor no grupo HTLV-1⁺ (p=0,01), e tempo de relacionamento conjugal, maior neste mesmo grupo (p=0,01). Em relação às análises citopatológicas cérvico-vaginais, não houve diferença entre os grupos. As medianas dos índices de lubrificação foram semelhantes: 4,8 (3,6 – 5,4) em HTLV⁺ e 4,8 (4,2 – 5,7) no grupo HTLV⁻. Cerca de 52,6% das mulheres HTLV⁺ avaliadas apresentaram carga proviral vaginal detectável, com mediana de 62 (0-2057) / 10⁶ células (0,006%). No que se refere a quantificação das citocinas em fluido vaginal, as concentrações de IL-2 (p=0,001), TNF (p=0,001), IL-4 (p<0,001), IL-10 (p=0,002) e IL-17 (p<0,001) em fluido cérvico-vaginal foram significativamente mais elevadas em mulheres infectadas pelo HTLV-1 quando comparadas ao grupo de não infectadas. O nível de IL-6 não apresentou diferença estatística entre os grupos avaliados (p=0,1). Já o IFN- γ , teve concentração mais elevada em mulheres não infectadas por HTLV-1 (p<0,001). **Conclusão:** Mulheres infectadas pelo HTLV-1 apresentam um ambiente inflamatório na mucosa vaginal, caracterizado pela elevação das concentrações de citocinas Th1, Th2 e IL17 em fluido vaginal. Apesar disso, não foram encontradas diferenças na frequência e gravidade das alterações citopatológicas cérvico-vaginais ou na lubrificação vaginal entre as os grupos avaliados.

Palavras-chave: HTLV-1. Citocinas inflamatórias. Carga proviral vaginal. Lubrificação vaginal. Citopatologia cérvico-vaginal.

ABSTRACT

Introduction: Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) is endemic in several regions of the world, including Brazil. The prevalence of infection is higher among women and increases with age. The virus induces the production of inflammatory cytokines and the proviral load is implicated in the development of diseases associated with HTLV-1. Individuals infected with HTLV-1 may have ocular, oral, and xeroderma dryness. Regarding the vaginal environment, it is not established whether HTLV-1 infection induces an inflammatory environment or mucosal dryness in infected women. **Objective:** To compare the cervical-vaginal inflammatory environment of HTLV-1 infected and uninfected women through cytokine profile, lubrication index and cytopathologic findings. **Methods:** This is a cross-sectional study. A total of 112 women (63 infected and 49 not infected by HTLV-1) were sequentially included during their medical consultation in the HTLV Center and gynecology clinic both located in EBMSP in Salvador. All volunteers underwent gynecological examination to collect cervical-vaginal samples. Quantification of cytokines in vaginal fluid was performed using the Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1 / Th2 / Th17 kit. The proviral vaginal load was measured by real-time quantitative PCR (Polymerase Chain Reaction) and cervical-vaginal cytopathology by means of light microscopy. The assessment of vaginal lubrication was performed through the lubrication domain of the FSFI (Female Sexual Function Index) questionnaire. **Results:** There were no differences in the sociodemographic variables between HTLV-1⁺ and HTLV-1⁻ women, except for the family income that was lower in the HTLV-1⁺ group ($p = 0,01$), and the time of the conjugal relationship, higher in this same group ($p = 0,01$). In relation to the cervical-vaginal cytopathological analyzes, there was no difference between the groups. Median lubrication rates were similar: 4.8 (3.6 - 5.4) in HTLV⁺ and 4.8 (4.2 - 5.7) in the HTLV⁻ group. About 52.6% of the HTLV⁺ women evaluated had detectable vaginal proviral load, with a median of 62 (0-2057) / 10^6 cells (0.006%). For the quantification of cytokines in vaginal fluid, concentrations of IL-2 ($p=0,001$), TNF ($p=0,001$), IL-4 ($p<0,001$), IL-10 ($p=0,002$) e IL-17 ($p<0,001$) in cervical-vaginal fluid were significantly higher in HTLV-1 infected women than in the uninfected group. The level of IL-6 did not present statistical difference between the groups evaluated ($p = 0,1$). On the other hand, IFN- γ had a higher concentration in HTLV-1 non-infected women ($p <0,001$). **Conclusion:** Women infected with HTLV-1 have an inflammatory environment in the vaginal mucosa, characterized by elevated concentrations of Th1, Th2 and IL17 cytokines in vaginal fluid. However, no differences were found in the frequency and severity of cervical-vaginal cytopathologic changes or in vaginal lubrication among the groups evaluated.

Keywords: HTLV-1. Inflammatory cytokines. Vaginal proviral load. Vaginal lubrication. Cervical-vaginal cytopathology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organização genômica do HTLV	18
Figura 2. Mapa da prevalência de infecção por HTLV-1 em doadores de sangue no Brasil ...	19
Figura 3. Modelo de diferenciação de células CD4 ⁺ Th1 e Th2.....	24
Figura 4. Níveis de IL-2 (a), TNF (b), IFN- γ (c), IL-4 (d), IL-6 (e), IL-10 (f) e IL-17 (g) em fluido vaginal de mulheres infectadas e não infectadas por HTLV-1	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Doenças associadas com a infecção pelo HTLV-1.....	21
Tabela 2. Escores de avaliação do Índice de Função Sexual Feminina - FSFI.....	30
Tabela 3. Características sociodemográficas de mulheres infectadas e não infectadas por HTLV-1	34
Tabela 4. Índice de lubrificação vaginal, características citopatológicas e carga proviral vaginal de mulheres infectadas e não infectadas por HTLV-1	35
Tabela 5. Correlação entre concentração de citocinas em fluido vaginal e índice de lubrificação vaginal em infectadas e não infectadas por HTLV-1 e com carga proviral vaginal em infectadas	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADAB – Ambulatório Docente Assistencial da Bahiana
- ASC-US – *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance* (Atipia de Células Escamosas de Significado Indeterminado)
- ATLL – *Adult T-cell Leukemia/Lymphoma* (Leucemia/Linfoma de células T do Adulto)
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- CPV – Carga Proviral
- DIH - Dermatite Infecciosa Associada ao HTLV-1
- ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)
- EBMSP – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
- FSFI – *Female Sexual Function Index* (Índice de Função Sexual Feminina)
- FSH – *Follicle-Stimulating Hormone* (Hormônio Folículo Estimulante)
- HAM/TSP – *HTLV-1-Associated Myelopathy / Tropical Spastic Paraparesis* (Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical)
- HBZ – (*HTLV-1 bZIP factor gene*)
- HPV - *Human Papillomavirus* (Papilomavírus humano)
- HTLV-1 – *Human T Lymphotropic Virus 1* (Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1)
- HTLV-2 – *Human T Lymphotropic Virus 2* (Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 2)
- HTLV-3 – *Human T Lymphotropic Virus 3* (Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 3)
- HTLV-4 – *Human T Lymphotropic Virus 4* (Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 4)
- IDH – Índice de Desenvolvimento Humano
- IFN- γ – Interferon Gama
- IL – Interleucina
- IMH – Índice de Maturação Hormonal
- IST – Infecções Sexualmente Transmissíveis
- JEC – Junção Escamo-Colunar
- LH – *Luteinizing Hormone* (Hormônio Luteinizante)
- LTR – *Long Terminal Repeat* (Repetições Terminais Longas)
- MHC – *Major Histocompatibility Complex* (Complexo Principal de Histocompatibilidade)
- NIC – Neoplasia Intraepitelial Cervical
- OMS - Organização Mundial da Saúde
- PBMC – *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (Células Mononucleares do Sangue Periférico)
- PBS – *Phosphate Buffered Saline* (Tampão Fosfato-Salino)

PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)

SNC – Sistema Nervoso Central

TCLE – Termo de Consentimento Live e Esclarecido

TGF- β – *Transforming Growth Factor Beta* (Fator de Transformação do Crescimento Beta)

Th1 – *T helper 1*

Th2 – *T helper 2*

Th17 – *T helper 17*

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa

Tris-EDTA – *Hydroxymethyl-Ethylenediaminetetraacetic acid* (Hidroximetil-Etileno Diamino Tetra-Acético)

WB – *Western Blot*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Geral	17
2.2 Específicos	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 Vírus Linfotrópico de Células T Humanas do tipo 1 (HTLV-1)	18
3.1.1 Caracterização do HTLV	18
3.1.2 Epidemiologia.....	18
3.1.3 Transmissão	20
3.1.4 Manifestações Clínicas	20
3.1.5 Diagnóstico	21
3.1.6 Carga proviral	21
3.2 Perfil das citocinas na resposta imunológica.....	22
3.3 Citopatologia cérvico-vaginal	25
3.4 Lubrificação vaginal.....	26
4 METODOLOGIA.....	28
4.1 Desenho do estudo	28
4.2 Características da população-alvo e população acessível	28
4.3 Tamanho amostral.....	28
4.4 Critérios de inclusão e exclusão.....	28
4.5 Fluxo de atendimento e coleta de material	29
4.6 Operacionalização das variáveis	29
4.6.1 Variáveis sociodemográficas	29
4.6.2 Índice de lubrificação vaginal.....	30
4.6.3 Citopatologia cérvico-vaginal.....	31
4.6.4 Microflora vaginal	31
4.6.5 Carga proviral vaginal	32
4.6.6 Citocinas vaginais	32
4.7 Análise estatística.....	32
4.7.1 Análise de dados.....	33
4.7.2 Hipóteses Nula e Alternativa	33
4.8 Aspectos éticos	33

5 RESULTADOS.....	34
6 DISCUSSÃO	38
7 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS DO ESTUDO	42
8 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS	44
APÊNDICES	51
ANEXOS.....	58

1 INTRODUÇÃO

Primeiro retrovírus humano identificado, o Vírus Linfotrófico de Células T Humanas tipo 1 (HTLV-1) foi também precursor ao ser relacionado a doenças ⁽¹⁾. Atualmente este vírus está disseminado no Brasil, onde existem aproximadamente 800 mil portadores ⁽²⁾. O HTLV-1 é o agente etiológico da Leucemia/ Linfoma de células T do Adulto (ATLL), da Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP) ^(3,4), além da uveíte ⁽⁵⁾ e da dermatite infectiva ⁽⁶⁾.

Na década de 1980, houve uma associação entre a Síndrome de Sjögren e a infecção pelo HTLV-1 ⁽⁷⁾. Acreditava-se que a doença estivesse relacionada a uma resposta imune exacerbada contra antígenos virais presente em células das glândulas salivares ⁽⁸⁾. Porém, alguns estudos demonstraram que não havia associação entre a presença de autoanticorpos em pacientes com Síndrome de Sjögren no contexto da infecção pelo HTLV-1 ⁽⁹⁻¹¹⁾. Algumas características clínicas como xerodermia ⁽¹²⁾, xerostomia ⁽¹³⁾ e xeroftalmia ⁽¹⁴⁾ se mantêm associadas a patogênese viral, indicando que a infecção pelo HTLV-1 pode promover uma síndrome seca.

Além dessas doenças, já foi demonstrado que indivíduos infectados por HTLV-1 apresentam níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias maiores que indivíduos não infectados ⁽¹⁵⁾. A maior produção de citocinas parece estar associada a manifestações clínicas. Indivíduos com diagnóstico de mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) ⁽¹⁶⁾, pacientes com bexiga neurogênica associada ao HTLV-1 ⁽¹⁷⁾, portadores de síndrome sicca ⁽¹⁸⁾ e indivíduos com dermatite infectiva associada ao HTLV-1 (DIH) ⁽¹⁹⁾ apresentam maiores níveis de IFN- γ , TNF- α e IL-6 quando comparados aos indivíduos sem essas doenças.

Assim como a relação de citocinas com manifestações clínicas, altos níveis de carga proviral (CPV) são encontrados em pacientes com doenças associadas ao HTLV-1, especialmente na HAM/TSP ⁽²⁰⁾, dermatite infectiva ⁽²¹⁾ e uveíte ⁽²²⁾, em comparação aos indivíduos assintomáticos. A carga proviral pode ser um importante marcador biológico para o desenvolvimento dessas manifestações clínicas associadas ao vírus ⁽²³⁾. Recentemente, uma carga proviral elevada foi sugerida como associada à presença de ceratoconjuntivite seca ⁽¹⁴⁾. Poucos estudos avaliaram a CPV em outros compartimentos que não em células mononucleares do sangue periférico.

Particularmente, no que se refere à mucosa vaginal, não foram encontradas publicações avaliando se há um ambiente inflamatório cérvico-vaginal em mulheres infectadas pelo vírus. Também não foram encontrados trabalhos que quantificaram diretamente a carga proviral na

mucosa, os efeitos desta infecção sobre a lubrificação e as concentrações de citocinas no fluido vaginal dessas mulheres. A elucidação dos processos infecciosos e inflamatórios que ocorrem no ambiente cérvico-vaginal em portadoras de HTLV-1 poderá servir de base para o melhor entendimento da patogênese do vírus.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Comparar o ambiente cérvico-vaginal de mulheres infectadas e não infectadas pelo HTLV-1.

2.2 Específicos

Descrever os achados citopatológicos cérvico-vaginais;

Mensurar o índice de lubrificação da mucosa vaginal;

Determinar a carga proviral vaginal;

Quantificar as citocinas Th1, Th2 e Th17 em fluido cérvico-vaginal.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Vírus Linfotrófico de Células T Humanas do tipo 1 (HTLV-1)

3.1.1 Caracterização do HTLV

O Vírus Linfotrófico de Células T Humanas do tipo 1 (HTLV-1) foi o primeiro retrovírus humano identificado, seguido do HTLV tipo 2 (HTLV-2) ^(1,24). Em 2005, foram identificados o HTLV tipo 3 (HTLV-3) e HTLV tipo 4 (HTLV-4), em populações do sul de Camarões ⁽²⁵⁾. Baseado na existência destas infecções na África Equatorial e em descendentes de africanos no Caribe e na América Latina, sugere-se que a África seja a fonte primária deste vírus tendo sua transmissão inicial ocorrida através do contato entre humanos e primatas ⁽²⁶⁾.

O HTLV pertence à família *Retroviridae*, à subfamília *Orthoretrovirinae* e ao gênero *Deltaretrovirus*. O vírus é formado basicamente por um envelope lipídico, seguido de uma matriz proteica e um nucleocapsídeo. No interior do nucleocapsídeo encontra-se o material genético composto por duas fitas simples de RNA, que possuem regiões gênicas denominadas *gag* (grupo antigênico), *pol* (polimerase) e *env* (envelope), seguida de uma região exclusiva denominada pX, responsável por codificar os genes regulatórios *tax*, *rex* e *HTLV-I bZIP factor gene* (HBZ). O RNA transcrito a partir do gene *gag* codifica a proteína p55, que é clivada em proteases (p19, p24 e p15). Já o RNA transcrito a partir do gene *env* codifica a proteína p63, originando após clivagem as proteínas do envelope gp46 e gp21. Esse genoma é flanqueado por duas regiões de repetições terminais longas (LTR - *Long Terminal Repeat*), conforme representado na Figura 1 ^(27,28).

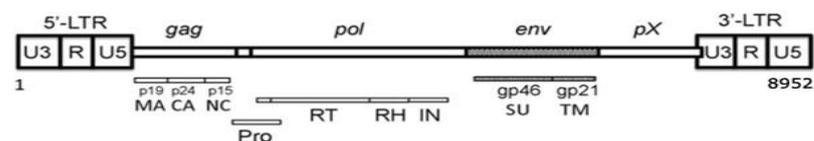


Figura 1. Organização genômica do HTLV.

(Adaptado de Hoshino, 2012)

3.1.2 Epidemiologia

Estima-se que 5-10 milhões de pessoas estejam infectadas pelo HTLV-1 no mundo ⁽²⁾. As principais áreas endêmicas da infecção pelo HTLV-1 são África, América do Sul e Central,

Caribe, Japão, Melanésia e Oriente Médio ⁽²⁹⁾. No entanto, a prevalência desta infecção varia de acordo com a região geográfica, os padrões sociocomportamentais e étnicos das populações. Esta infecção caracteriza-se também, por ser mais frequente em mulheres, aumentar com a idade e atingir as camadas da população menos favorecidas socioeconomicamente ⁽³⁰⁾. O HTLV-1 foi detectado pela primeira vez no Brasil, em imigrantes japoneses na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul em 1986 ⁽³¹⁾. O país abriga aproximadamente 800 mil pessoas com HTLV-1, representando o maior número de portadores no continente americano ⁽²⁾. Observam-se taxas mais elevadas nas regiões Norte/Nordeste e as mais baixas na região Sul/Sudeste, com menor e maior Índice de Desenvolvimento Humano (IDH), respectivamente ⁽³²⁾. Salvador e São Luiz são as cidades que apresentam as maiores prevalências em doadores de sangue no território nacional ^(33,34) (Figura 2).

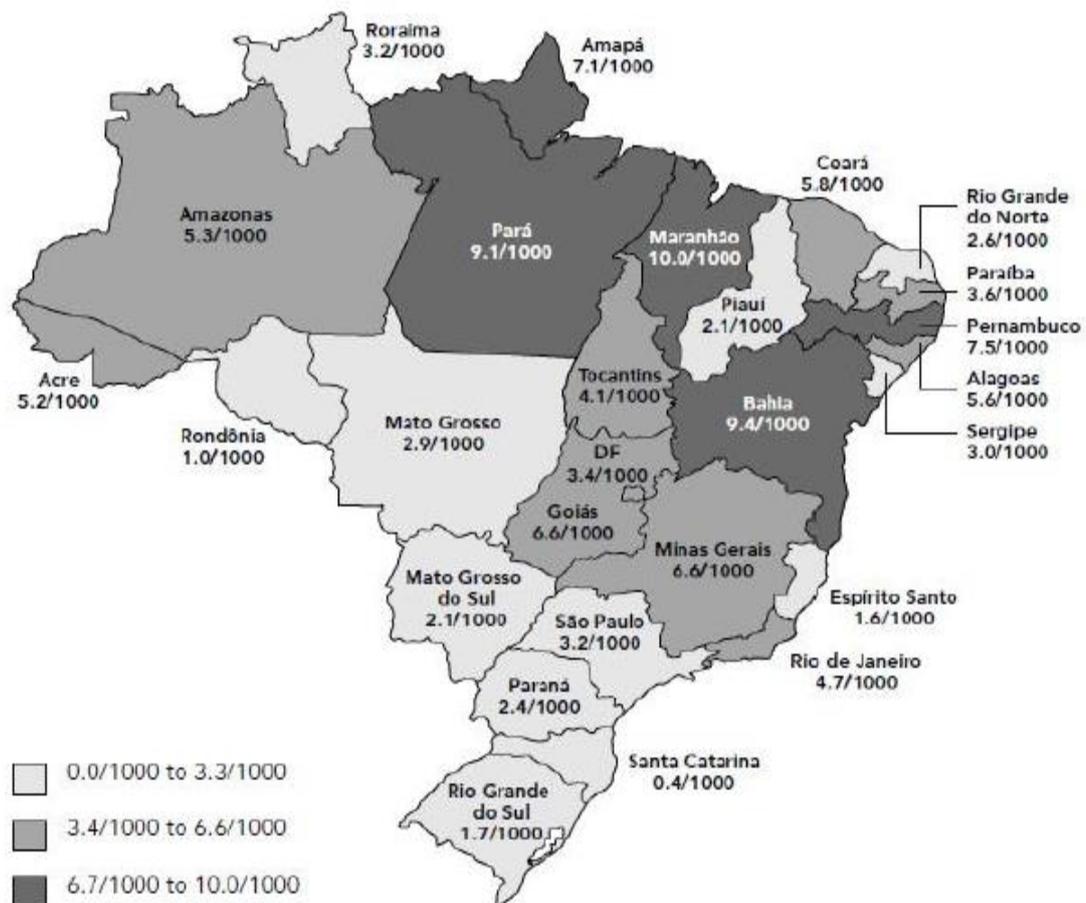


Figura 2. Mapa da prevalência de infecção por HTLV-1 em doadores de sangue no Brasil.

(Catalan-Soares et al, 2005)

Em Salvador, a prevalência na população geral é 1,8%, sendo 2% em mulheres e 1,2% em homens, mas aumenta em indivíduos com mais de 50 anos, atingindo 9% nas mulheres e

6,3% nos homens. A maior prevalência de infecção por HTLV-1 nesta cidade, se deve possivelmente a constituição da sua população predominantemente afrodescendente ^(30,35).

3.1.3 Transmissão

Basicamente, a transmissão do HTLV ocorre através da via horizontal (contato sexual, transfusão de sangue, compartilhamento de seringas e materiais perfurocortantes contaminados) e da via vertical (amamentação, transmissão transplacentária ou durante o parto) ⁽³²⁾. A transmissão ocorre, principalmente, através de sangue ou tecido contaminado, de mãe para filho através da amamentação, bem como através da relação sexual ⁽³⁶⁾. Um recente estudo indicou que a transmissão horizontal entre adultos é a principal via de infecção pelo HTLV-1 na população geral de Salvador e que é provável que ocorra por contato sexual ⁽³⁷⁾. A transmissão heterossexual é mais eficiente de homens para mulheres ^(38,39) e a transmissão homossexual mais frequente entre homens que assumem papel passivo na relação sexual ⁽⁴⁰⁾.

3.1.4 Manifestações Clínicas

Há comprovação da associação do HTLV-1 a doenças. O vírus é o agente etiológico da Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical (HAM/TSP), uma doença neurológica crônico-degenerativa que atinge o sistema nervoso central ^(4,41), da Leucemia/Linfoma de células T do adulto (ATLL), um linfoma/leucemia agressivo que se caracteriza pela infiltração de células T CD4⁺ malignas nos linfonodos, baço, trato gastrointestinal e pele, além da presença de células T anormais com núcleo lobulado ou em forma de flor ^(3,42). Além dessas, é também agente da uveíte ⁽⁵⁾ e da dermatite infectiva ⁽⁶⁾.

Outras manifestações podem ocorrer como artrites ⁽⁴³⁻⁴⁵⁾, alveolite ⁽⁴⁶⁾, poliomyosites ⁽⁴⁷⁾ e a ceratoconjuntivite seca ^(14,48). Existem evidências da associação entre HTLV-1 com strongiloidíase ⁽⁴⁹⁾ e tuberculose ⁽⁵⁰⁾, o que aumenta a morbidade e mortalidade relacionada a estas infecções. Na tabela 1 estão descritas algumas dessas patologias e suas associações com a infecção pelo HTLV-1 ⁽⁵¹⁾.

Tabela 1. Doenças associadas com a infecção pelo HTLV-1

Doença no adulto	Associação
Leucemia/ Linfoma de células T do adulto	++++
Mielopatia Associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical	++++
Uveíte (frequente no Japão)	++++
Dermatite infectiva	+++
Poliomiosite	++
Artrite associada ao HTLV-1	++
Pneumonia infiltrativa	++
Síndrome de Sjögren	+

++++, associação provada; +++, associação provável; ++, associação possível e +, associação improvável.

(Adaptada de Proietti, 2006)

3.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-1 baseia-se na pesquisa de anticorpos específicos no soro e de segmentos de DNA proviral em células do sangue periférico. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o diagnóstico da infecção pelo HTLV-1 deve seguir 3 etapas: Etapa I - Triagem sorológica: as amostras reagentes ou inconclusivas devem ser retestadas em duplicata utilizando o mesmo conjunto de diagnóstico. Etapa II - Confirmação sorológica por meio da realização do teste de *Western Blot* (WB) para HTLV-I/II. As amostras negativas no teste de WB têm seu resultado definido como “Amostra Negativa para HTLV-I/HTLV-II”. Resultado positivo no teste de WB inclui a reatividade para proteínas da região *gag* (p19 e p24) e para proteínas do envelope viral (gp46 e gp21), logo, têm seu resultado definido como “Amostra positiva para HTLV-I e/ou HTLV-II”. Amostras indeterminadas e/ou não-tipadas no teste de WB passam para Etapa III - Confirmação da infecção pelo HTLV I/II, por meio da realização da PCR - Reação em Cadeia da Polimerase^(52,53).

3.1.6 Carga Proviral

As células alvo do HTLV-1 são preferencialmente os linfócitos T CD4⁺. O vírus multiplica-se por expansão clonal e espalha-se por contato célula-célula via sinapse virológica⁽⁵⁴⁾. O provírus é a estrutura em que se encontra o RNA retroviral após este ter sido incorporado

ao DNA da célula hospedeira. Ao sofrer lise, a célula hospedeira libera o provírus, infectando novas células no organismo do indivíduo ⁽⁵⁵⁾. As células T infectadas dificilmente produzem partículas virais livres e a carga viral no plasma é indetectável. A carga proviral (CPV) indica a proporção de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) que carregam uma cópia integral do DNA viral. As regiões gênicas *pol* e *gag*, e as proteínas *tax* e *rex* são as mais utilizadas para quantificação do DNA do HTLV ⁽⁵⁶⁾.

A carga proviral costuma se manter estável ao longo dos anos, mas pode variar em até 1000 vezes entre indivíduos ⁽⁵⁷⁾. É um dos melhores preditores de HAM/TSP e ATLL, considerada um marcador para a progressão de HAM/TSP e está frequentemente aumentada em indivíduos com esta doença, embora muitos pacientes com carga elevada permaneçam portadores assintomáticos ao longo da vida ^(20,56,58). A carga proviral também está aumentada em outras situações como alterações neurológicas isoladas, neuropatia periférica e bexiga neurogênica ^(17,59).

Outras patologias vêm sendo exploradas e cada vez mais estudos demonstram associação entre carga proviral e doenças. Há relação direta entre alta carga proviral salivar e manifestações orais. Infectados por HTLV-1 apresentam pior estado de saúde oral quando comparados com indivíduos não infectados, além disso, valores médios de carga proviral sanguínea e salivar são maiores em pacientes portadores de HAM/TSP do que em assintomáticos ⁽⁶⁰⁾. Recentemente, avaliou-se que portadores de HTLV-1 com ceratoconjuntivite seca, doença que provoca instabilidade do filme lacrimal com potencial de dano à conjuntiva, apresentam carga proviral em sangue periférico mais elevada. Além disso, a carga foi sugerida como marcador biológico para o desenvolvimento da ceratoconjuntivite seca ⁽¹⁴⁾.

A relação entre infecção por HTLV-1 e a indução de ressecamento da mucosa vaginal ou um aumento da resposta inflamatória local ainda não está estabelecida.

3.2 Perfil das citocinas na resposta imunológica

A secreção de citocinas é um evento que ocorre em resposta a microrganismos e outros antígenos, mediando e regulando reações imunológicas e inflamatórias. Algumas citocinas podem agir em diferentes tipos celulares, permitindo mediar diferentes efeitos biológicos, outras possuem os mesmos efeitos funcionais, ou seja, são sinérgicas. Além disso, essas moléculas podem também agir causando efeitos antagônicos a ação uma da outra. As citocinas têm grande importância na defesa do organismo por iniciar e manter a resposta imunológica,

atuando tanto na imunidade inata como na adaptativa com ação autócrina, parácrina e endócrina (61,62).

A imunidade inata está associada às fases iniciais da resposta imune e atua contra o agente agressor através de interações em receptores de espectro limitado, reconhecendo padrões moleculares associados a patógenos (63). A imunidade adaptativa está relacionada a receptores com maior especificidade, reconhecendo sequências específicas dos patógenos (64). Após o contato com o antígeno, as células T virgens se diferenciam em classes funcionais de células efectoras especializadas. As células T CD8⁺ virgens reconhecem os peptídeos de patógenos apresentados pelas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I, se diferenciam em células T efectoras citotóxicas que reconhecem e lisam células infectadas. Após o reconhecimento de um peptídeo específico de um patógeno, apresentado por uma molécula do MHC de classe II, as células T CD4⁺ virgens podem se diferenciar em células efectoras de subtipos distintos, que são *T helper 1* (Th1), *T helper 2* (Th2), *T helper 17* (Th17) e T regulatórias (Treg). Os subtipos de linfócitos T CD4⁺ efetores atuam na defesa do hospedeiro contra diferentes tipos de agentes infecciosos e estão envolvidas em tipos diferentes de lesão ao tecido nas patologias imunomediadas (65,66).

Na diferenciação para células Th1, células apresentadoras de antígenos em resposta aos microrganismos produzem interleucina (IL) -12, que ativa fatores de transcrição promovendo a diferenciação para este perfil de resposta e a produção de citocinas pró-inflamatórias como interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e IL-2. Para a diferenciação de células do tipo Th2, a resposta é mediada pela secreção de IL-4. O perfil de resposta Th2 promove a produção de citocinas como a própria IL-4, e outras como IL-5 e IL-13 que direcionam a resposta imune para a resposta humoral com proliferação de linfócitos B e produção de imunoglobulina G (IgG) e IgE, conforme Figura 3 (67).

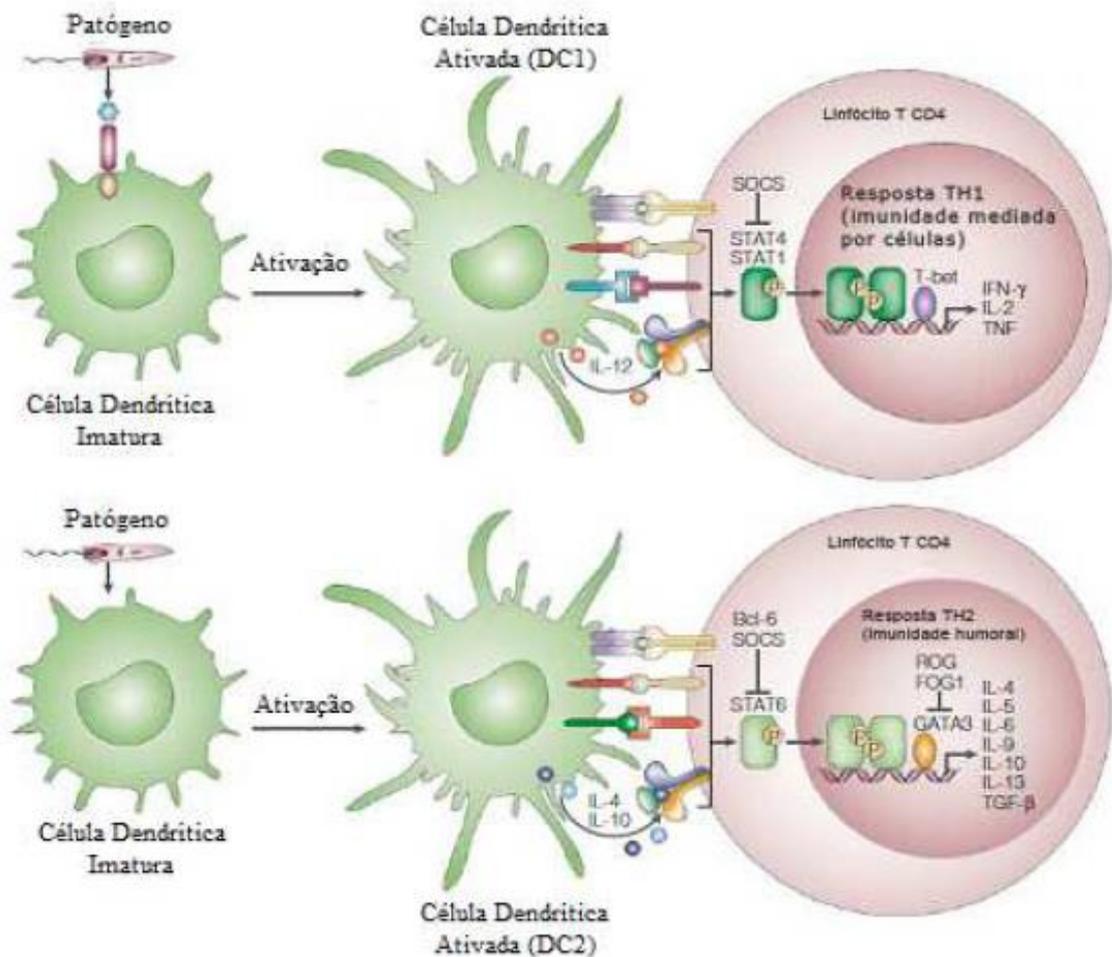


Figura 3. Modelo de diferenciação de células $CD4^+$ Th1 e Th2.

(Adaptado de Sacks e Noben-Trauth, 2002)

No caso do subtipo Th17, a IL-1 e IL-6 produzidas por células apresentadoras de antígenos e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- β) ativam fatores de transcrição que estimulam a diferenciação dos linfócitos T, levando a produção de IL-17. As células T regulatórias naturais são originadas no timo e migram para a periferia, onde controlam a resposta imune pela supressão da proliferação dos linfócitos que reconhecem autoantígenos. Outras células T $CD4^+$ regulatórias, induzidas, originam-se a partir da diferenciação de células T $CD4^+$ virgens na periferia e secretam IL-10 e/ou TGF- β ⁽⁶⁶⁾.

O HTLV-1 infecta primariamente as células T $CD4^+$ que desempenham um papel central na resposta imune adaptativa ⁽⁶⁸⁾. Há uma predominância na proliferação de células e na produção de citocinas com o perfil Th1 e nestes casos existe uma supressão da resposta tipo 2. No entanto, há evidência também de ativação de células Th2 na infecção pelo HTLV-1 ⁽⁶⁹⁾.

Os mecanismos de ação da resposta inflamatória em indivíduos portadores de HTLV-1

parecem estar associados ao aparecimento de manifestações clínicas e a gravidade das doenças associadas, atribuindo às citocinas papel relevante na patogênese da infecção pelo vírus. Indivíduos infectados pelo HTLV-1, mesmo assintomáticos, apresentam níveis séricos elevados de citocinas Th1 e Th2, como INF- γ , TNF- α , IL-5 e IL-10⁽¹⁵⁾. Portadores de HAM/TSP⁽¹⁶⁾, síndrome sicca⁽¹⁸⁾ e dermatite infectiva⁽¹⁹⁾ apresentam elevação significativa de IFN- γ e TNF- α e manutenção dos níveis de IL-5 e IL-10.

No que se refere ao trato genital feminino, o sistema imune é influenciado pela ação dos hormônios sexuais e precisa manter a homeostasia perante infecções locais e ao desenvolvimento embrionário.^(70,71) Não foram encontrados estudos avaliando a infecção por HTLV-1 e a produção local de citocinas. Porém, já foi evidenciado o papel fundamental que as citocinas possuem na manutenção e proteção da mucosa cérvico-vaginal, agindo desde a resposta a infecções bacterianas, fúngicas e parasitárias, até lesões precursoras do câncer cervical⁽⁷²⁻⁷⁴⁾.

3.3 Citopatologia cérvico-vaginal

O colo é dividido em ectocérvice, endocérvice e a região de transição entre eles, a junção escamo-colunar (JEC). A avaliação citopatológica cervical baseia-se no esfregaço de células esfoliadas da ectocérvice e endocérvice. O exame citopatológico é um método de rastreamento sensível, seguro e de baixo custo o qual permite a detecção de lesões precursoras do câncer cervical como atipias escamosas e glandulares, lesões intraepiteliais escamosas de baixo e alto grau e adenocarcinoma *in situ*, além dos carcinomas e adenocarcinomas invasores de colo do útero^(75,76).

As células epiteliais vaginais fabricam muitos componentes com atividade antimicrobiana. A ampla microbiota da região vaginal também exerce uma importante função na preservação da saúde genital e no controle de doenças, tendo como microbiota natural os *Lactobacillus sp.*, que protegem a mucosa vaginal mantendo o pH ácido. Apesar de não ser um exame microbiológico específico, o exame citopatológico permite ao examinador, também, detectar outros microrganismos na flora que podem causar alterações celulares significativas e queixas clínicas em mulheres. O microambiente vaginal pode ser acometido por diferentes grupos de patógenos que podem ser identificados neste exame^(77,78).

As infecções bacterianas costumam ser o tipo de infecção mais frequente e possuem diversos agentes como *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus sp.*, *Leptothrix vaginalis*, além de *Actinomyces sp.*, *Chlamydia trachomatis*, dentre outras infecções que comumente causam

vaginose bacteriana e outras enfermidades. Outra infecção bastante comum, é causada por fungos do gênero *Candida sp.*, que estão frequentemente presentes na mucosa de mulheres sem doença, mas que podem desencadear infecções em indivíduos com a imunidade diminuída, resultando na candidíase vaginal. Infecções sexualmente transmissíveis (IST) também podem ser diagnosticadas por meio do exame citopatológico. A tricomoníase, IST não viral mais comum no mundo, é causada pelo *Trichomonas vaginalis*, um protozoário que infecta o muco vaginal provocando modificações nas células escamosas e apresenta manifestações clínicas diversas. Ademais, os vírus também fazem reações inflamatórias e modificações celulares consideráveis no ambiente cérvico-vaginal, como os diversos tipos do grupo Herpes e o papilomavírus humano (HPV), agente que possui subtipos oncogênicos fortemente associados ao desenvolvimento de neoplasias genitais ^(78,79).

Além dessas contribuições na detecção de processos infecciosos, o exame citopatológico analisa a intensidade da inflamação e acompanha sua evolução, podendo em alguns casos diminuir as possibilidades de progressão das lesões precursoras do câncer do colo do útero ^(75,80). Quando a citopatologia detecta células anormais, quando o exame clínico é alterado, ou quando a paciente já foi submetida a tratamento anterior por lesões características causadas pelo HPV, é realizada a colposcopia, que é um exame visual complementar. Se as áreas observadas forem anormais, retira-se uma pequena amostra de tecido para o exame histopatológico ⁽⁸¹⁾.

3.4 Lubrificação vaginal

A lubrificação vaginal é produzida na primeira fase da resposta sexual feminina e o principal componente é o plasma sanguíneo que atravessa o epitélio do canal vaginal pelas reações congestivas (vasodilatação-transudação) e reações miotônicas, dependentes da inervação vegetativa dos genitais femininos e controlado pelos sistemas simpático e parassimpático. As glândulas de Bartholin e Skene contribuem com esta lubrificação. Este aumento de lubrificação ocorre entre 10 a 30 segundos após o início do estímulo sexual e deve acontecer antes da penetração. O ressecamento vaginal caracteriza-se por lubrificação insuficiente, podendo causar dispareunia ⁽⁸²⁾.

Entre os fatores que interferem na lubrificação vaginal estão: I - Diminuição do fluxo sanguíneo pélvico devido a doenças aortoilíacas que levam a fibrose do músculo liso clitoriano e da parede vaginal, culminando nos sintomas de secura vaginal; II - Declínio de estrogênio e/ou níveis de testosterona e III - Medicamentos que afetam o desejo sexual, e conseqüentemente

a lubrificação, como betabloqueadores, antidepressivos, depressores do SNC e anticolinérgicos (83).

Para avaliar ressecamento vaginal, os ginecologistas utilizam alguns recursos para este fim diagnóstico. Inicialmente, é feita uma análise da história clínica da paciente, seguida de colposcopia, passando por determinação de IMH (Índice de Maturação Hormonal) e/ou a dosagem sérica de hormônios: FSH (Hormônio Folículo Estimulante), LH (Hormônio Luteinizante) e estrógeno (83,84). Até o momento, nenhum teste específico para avaliar lubrificação vaginal foi padronizado e validado.

É plausível que mulheres portadoras de HTLV-1 possam apresentar ressecamento vaginal associado ao vírus assim como ocorre em pele, boca e olhos de alguns indivíduos infectados. Não foi encontrada nas bases de dados disponíveis, avaliação da lubrificação vaginal em mulheres infectadas por HTLV-1.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional de corte transversal, realizado entre agosto de 2014 e março de 2016, cujo desfecho de interesse é o ambiente cérvico-vaginal em mulheres com e sem exposição ao HTLV-1.

4.2 Características da população-alvo e população acessível

Mulheres infectadas e não infectadas para o HTLV-1 acompanhadas no Centro de HTLV e no ambulatório de ginecologia do Ambulatório Docente Assistencial da Bahiana (ADAB) da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública da Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências.

4.3 Tamanho amostral

O presente estudo insere-se em um projeto maior, cujo objetivo é avaliar a disfunção sexual e suas vertentes em mulheres infectadas por HTLV-1. O tamanho amostral foi calculado de acordo com estimativa de 30% de prevalência de disfunção sexual na população geral e 60% em infectados pelo vírus. Adotou-se intervalo de confiança de 95%, poder de 80% e razão de prevalência de 2,0. Neste caso, com correção de continuidade, o número mínimo de participantes expostas ao HTLV-1 foi de 49 mulheres e selecionadas igualmente 49 mulheres não expostas como grupo de comparação no ambulatório de Ginecologia do ADAB.

4.4 Critérios de inclusão e exclusão

As pacientes foram incluídas sequencialmente, no momento da consulta, de acordo com os seguintes critérios de inclusão: diagnóstico de infecção pelo HTLV-1 (ELISA - Ensaio de Imunoadsorção Enzimática e *Western Blot* positivos), idade entre 20 e 50 anos, vida sexual ativa nas últimas quatro semanas e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Apêndice A). O grupo de comparação foi constituído por mulheres não infectadas pelo HTLV-1 acompanhadas no ambulatório de ginecologia do ADAB, com os mesmos critérios de idade, atividade sexual e assinatura do TCLE.

Foram excluídas mulheres com diagnóstico de HAM/TSP, condições ou tratamentos que interfiram na produção hormonal ou tenham associação conhecida com ressecamento vaginal, como medicações que afetam o desejo sexual (betabloqueadores, antidepressivos, depressores do SNC e anticolinérgicos), menopausadas e com diagnóstico de depressão.

4.5 Fluxo de atendimento e coleta de material

Após entrevista para coleta de dados sociodemográficos e clínicos (Apêndice B), dados ginecológicos/obstétricos (Apêndice C) e preenchimento do Índice de Função Sexual Feminina – FSFI (Anexo A), as pacientes foram submetidas às coletas realizadas por ginecologista, respeitando-se a privacidade e individualidade de cada paciente. Após exame detalhado da vulva, paredes vaginais e colo uterino, foi colhido com uso da espátula de Ayres e escova endocervical material cérvico-vaginal para exame citopatológico. Esse material foi fixado em lâmina com uso de álcool absoluto para posterior análise.

A coleta de fluido vaginal para quantificação da carga proviral do HTLV-1 foi realizada em ectocérvice, endocérvice e paredes vaginais utilizando *swab* estéril. Posteriormente, o *swab* foi acondicionado em tubo de transporte contendo 400µL de hidroximetil-etileno diamino tetraacético (Tris-EDTA) e congelado em -20°C. Para quantificação de citocinas, foi realizada coleta de fluido vaginal, também utilizando *swab* estéril, em ectocérvice, endocérvice e paredes vaginais, preservando material em tubo Falcon contendo 2 mL de tampão fosfato-salino (PBS) estéril. Após finalização dos atendimentos, o material foi acondicionado em criotubo e congelado em -70°C até as análises.

4.6 Operacionalização das variáveis

4.6.1 Variáveis sociodemográficas

- Idade: variável quantitativa contínua apresentada em anos completos no dia da consulta ginecológica.
- Renda familiar: variável quantitativa contínua expressa em salários mínimos, com valor que variou no período do estudo entre R\$ 724,00 (setecentos e vinte e quatro reais) e R\$ 880,00 (oitocentos e oitenta reais).
- Escolaridade: variável quantitativa contínua avaliada através da quantidade de anos de estudo das participantes.

- Cor da pele: variável qualitativa nominal obtida por meio da autodeclaração das participantes.
- Estado civil: variável qualitativa nominal categorizada em 3 grupos:
I – Casada ou União Estável;
II – Solteira;
III – Divorciada ou Separada.
- Tempo de relacionamento: variável quantitativa contínua apresentada em anos.
- Número de parceiros: variável quantitativa discreta obtida através de informação das participantes do estudo sobre o número de pessoas que tiveram contato sexual.
- Paridade: variável quantitativa discreta sobre o número de filhos nascidos vivos das participantes do estudo.

4.6.2 Índice de lubrificação vaginal

O Índice de lubrificação vaginal foi determinado através do Índice de Função Sexual Feminina (FSFI), um questionário validado no Brasil, breve, autoaplicável, que se propõe avaliar a resposta sexual feminina. O FSFI contém 19 questões que avaliam 6 domínios: desejo sexual, excitação sexual, lubrificação vaginal, orgasmo, satisfação sexual e dispareunia nas últimas quatro semanas. Cada resposta a essas questões recebe pontuação de forma crescente de 0 a 5. O escore total de cada domínio é a soma desses padrões de resposta, multiplicado por um fator de correção que homogeneíza a influência de cada um destes domínios. Esse fator de correção gera escores mínimos e máximos para cada domínio, onde valores próximos a 0, no caso específico da lubrificação, indica mulheres com índices baixos de lubrificação vaginal e valores próximos a 6, lubrificação vaginal suficiente⁽⁸⁵⁾. Este escore foi utilizado como uma variável categórica do tipo ordinal (Tabela 2).

Tabela 2. Escores de avaliação do Índice de Função Sexual Feminina.

Domínio	Questões	Varição do escore	Fator de multiplicação	Escore mínimo	Escore máximo
Desejo	1, 2	1-5	0,6	1,2	6
Excitação	3, 4, 5, 6	0-5	0,3	0	6
Lubrificação	7, 8, 9, 10	0-5	0,3	0	6
Orgasmo	11, 12, 13	0-5	0,4	0	6
Satisfação	14, 15, 16	0(ou1)-5*	0,4	0,8	6
Dispareunia	17, 18, 19	0-5	0,4	0	6

*Questão 14 varia de 0,0 a 5,0. Questões 15 e 16 variam de 1,0 a 5,0.

(Adaptada de Pacagnella et al, 2008)

4.6.3 Citopatologia cérvico-vaginal

Variável categórica do tipo nominal. Os esfregaços obtidos para análise citopatológica cérvico-vaginal foram corados através da coloração de Papanicolaou e posteriormente analisados pelo citopatologista em microscopia óptica nas objetivas de 10 e 40 vezes ⁽⁸⁶⁾. Foi realizada, por outro citopatologista examinador, revisão de 10% dos exames negativos para neoplasia e 100% dos exames que apresentaram resultado atípicos, como controle de qualidade laboratorial. Os resultados dos exames citopatológicos foram emitidos de acordo com a Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais ⁽⁸⁷⁾. Esta nomenclatura classificou os diagnósticos citopatológicos em:

- Negativo para neoplasia: Diagnósticos compostos por esfregaços dentro dos limites da normalidade ou alterações celulares benignas reativas ou reparativas (inflamação). As alterações celulares são caracterizadas por modificações nucleares e citoplasmáticas como hipercromasia, proplasia, cariopcnose, halo perinuclear, pseudoeosinofilia, dobramento da membrana nuclear e anofilia, além da análise de infiltrado leucocitário. A avaliação desses critérios somados culminaram no diagnóstico de inflamação, quando ausentes, resultou em um diagnóstico dentro da normalidade ⁽⁷⁵⁾.
- Atipia de células escamosas de significado indeterminado (ASC-US): Achados citopatológicos de células atípicas de significado indeterminado em epitélio escamoso correspondeu às alterações celulares consideradas maiores que as alterações ocorridas na inflamação e menores que as alterações ocorridas nas lesões intraepiteliais. Foram utilizados como critério diagnóstico modificações em células escamosas maduras com aumento nuclear de 2,5 a 3 vezes, anisocariose, hipercromasia discreta, irregularidade discreta na distribuição da cromatina e formato da membrana nuclear e binucleação ^(77,78).

4.6.4 Microflora vaginal

Variável categórica do tipo nominal. Foi investigado através de microscopia óptica os seguintes microrganismos ⁽⁷⁸⁾:

- *Lactobacillus sp.*: Bacilos médios que causam citólise em células escamosas intermediárias, compondo a microflora normal vaginal.
- *Gardnerella vaginalis/Mobiluncus sp.*: Bacilos curtos, supracitoplasmáticos, que formam as chamadas células-alvo, recobrando principalmente células escamosas superficiais.
- Cocos: Bactérias dispostas em aglutinados ou em correntes com morfologia cocoide.
- Outros bacilos: Bactérias que podem se apresentar em forma de filamentos curtos e grossos, se apresentando comumente aos pares. Também podem se apresentar em forma de filamentos longos, que se assemelham a finos pelos ou fios de cabelo.
- *Candida sp.*: Fungo dimórfico que se apresenta sob formas leveduriformes (esporos) ou filamentosas (pseudo-hifas e hifas verdadeiras).
- *Trichomonas vaginalis*: Protozoário que se apresenta na forma oval ou arredondada, com núcleo excêntrico, borrado, pouco de definido e aparência degenerada.

4.6.5 Carga proviral vaginal

Variável numérica do tipo contínua. A carga proviral foi mensurada pelo método de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) quantitativo em tempo real através do ABI Prism 7700 (PE-Applied Biosystems), utilizando 10^6 células e o gene da albumina como controle interno. A quantidade de provírus foi calculada pelo número de cópias do HTLV-1 (*pol*) por 10^6 células = [(número de cópias de *pol*) / (número de cópias de β -albumina/2)] 10^6 através do sistema TaqMan da Applied Biosystems ⁽⁸⁸⁾.

4.6.6 Citocinas vaginais

Variável numérica do tipo contínua. A quantificação das citocinas foi realizada através do kit *Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17*, que se baseia no uso de *beads* marcadas com diferentes graus de fluorescência, recobertas com anticorpos específicos, como suporte para a leitura por citometria de fluxo. A técnica permite uma análise quantitativa de múltiplos parâmetros em uma única amostra, utilizando volumes mínimos de material para obter seus resultados.

4.7 Análise estatística

4.7.1 Análise de dados

Na análise das variáveis quantitativas das mulheres de ambos os grupos, a variável idade, que teve distribuição normal, foi avaliada através do teste paramétrico Test t de student, obtendo-se média e desvio padrão. Já as variáveis renda familiar, escolaridade, tempo de relacionamento, número de parceiros, paridade, lubrificação vaginal, carga proviral vaginal e as concentrações de citocinas em fluido vaginal não foi verificada normalidade, sendo avaliadas através do teste não paramétrico Mann-Whitney U test, obtendo-se mediana, percentil 25 e percentil 75. Para análise das variáveis qualitativas, cor, estado civil e os exames citopatológicos e de microflora foi utilizado o teste não paramétrico do Qui-quadrado, obtendo-se frequência simples/proporção.

A Correlação de Spearman foi utilizada para análise da relação entre a concentração de citocinas e o índice de lubrificação vaginal, além da correlação entre concentração de citocinas e a carga proviral vaginal. Um valor de p menor do que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad e o programa SPSS versão 17.0, para Windows.

4.7.2 Hipóteses Nula e Alternativa

Hipótese Nula: A infecção pelo HTLV-1 não induz um ambiente inflamatório cérvico-vaginal em mulheres infectadas pelo vírus.

Hipótese Alternativa: A infecção pelo HTLV-1 induz um ambiente inflamatório cérvico-vaginal em mulheres infectadas pelo vírus.

4.8 Aspectos éticos

O projeto foi elaborado e executado de acordo com a resolução CNS 466/2012 e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da EBMSp sob o número de CAAE: 33098414.4.0000.5544 em 24 de setembro de 2014 (Anexo B). As pacientes convidadas foram incluídas apenas após concordar em participar do estudo e assinar o TCLE, onde estava explicado todo estudo solicitando autorização para utilização de material biológico, além de informações de contato do pesquisador responsável e equipe.

5 RESULTADOS

Foram avaliadas 112 mulheres (63 infectadas pelo HTLV-1 e 49 não infectadas). Na comparação entre os grupos, as participantes não apresentaram diferenças significativas no perfil sociodemográfico nas variáveis idade ($p=0,52$), escolaridade ($p=0,08$), cor ($p=0,14$) e estado civil ($p=0,13$). Também não houve diferença estatística quando comparados os números de parceiros ($p=0,38$) e número de partos ($p=0,40$). Observou-se, porém, uma diferença significativa quando analisadas as variáveis renda familiar e tempo de relacionamento. Mulheres infectadas pelo HTLV-1 tiveram menor renda familiar com mediana de 1,2 salário mínimo comparado a 2 salários mínimos das mulheres não infectadas ($p=0,01$). Em relação ao tempo de relacionamento, portadoras do vírus apresentaram mais anos de relacionamento quando comparadas as mulheres não portadoras ($p=0,01$), conforme Tabela 3.

Tabela 3. Características sociodemográficas de mulheres infectadas e não infectadas por HTLV-1

Variáveis	HTLV-1 + (n=63)	HTLV-1 - (n=49)	P
Idade (anos) média (desvio padrão)	34,68 (7,18)	35,61 (7,87)	0,52
Renda familiar (salários mínimos)*	1,2 (1,0-2,0)	2,0 (1,0-2,25)	0,01
Escolaridade (anos)*	10,0 (5,0-12,0)	12,0 (8,0-12,0)	0,08
Cor n (%)			0,14
Preta	33 (52,4)	25 (51,0)	
Parda	21 (33,3)	22 (44,9)	
Branca	9 (14,3)	2 (4,1)	
Estado civil n (%)			0,13
Casada/União Estável	50 (79,4)	35 (71,4)	
Solteira	13 (20,6)	11 (22,4)	
Divorciada/Separada	-	3 (6,1)	
Tempo de relacionamento (anos)*	8,0 (3,75-12,0)	3,0 (1,15-7,5)	0,01
Número de parceiros *	4,0 (3,0-10,0)	4,0 (2,0-7,0)	0,38
Paridade *	2,0 (1,0-3,0)	2,0 (0,5-2,0)	0,40

*Dados apresentados como mediana e intervalo interquartil (p25 – p75)

Valores de p obtidos através do Teste T de Student, Teste do Qui-quadrado ou Teste U de Mann-Whitney

Na análise da lubrificação vaginal não houve diferença estatisticamente significativa entre mulheres infectadas e não infectadas pelo HTLV-1 ($p=0,31$). Os grupos apresentaram mediana dos índices de lubrificação semelhantes: 4,8 (3,6 – 5,4) em mulheres infectadas e 4,8 (4,2 – 5,7) no grupo de mulheres não infectadas pelo vírus (Tabela 4).

Tabela 4. Índice de lubrificação vaginal, características citopatológicas e carga proviral vaginal de mulheres infectadas e não infectadas por HTLV-1

Variáveis	HTLV-1 ⁺ (n=63)	HTLV-1 ⁻ (n=49)	p
Índice de lubrificação vaginal*	4,8 (3,6-5,4)	4,8 (4,2-5,7)	0,31
Citopatologia n (%)			
Negativo para neoplasia	61 (96,8)	48 (98,0)	0,71
ASC-US ¹	1 (1,6)	1 (2)	0,86
Insatisfatória	1 (1,6)	-	0,38
Microflora Vaginal n (%)			
<i>Lactobacillus sp.</i>	11 (17,5)	8 (16,3)	0,87
<i>Gardnerella vaginalis/Mobiluncus sp.</i>	13 (20,6)	15 (30,6)	0,23
Cocos/Bacilos	23 (36,5)	16 (32,7)	0,67
<i>Candida sp.</i>	16 (25,4)	9 (18,4)	0,37
<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	1 (2)	0,25
Carga proviral vaginal*	62 (0-2057)	NA	NA

Carga proviral vaginal disponível para 57 mulheres – Cópias/10⁶ células.

NA: Não se aplica.

*Dados apresentados em mediana e intervalo interquartil (p25 – p75)

¹ Atipia de Células Escamosas de Significado Indeterminado (ASC-US)

Valores de p obtidos através do Teste U de Mann-Whitney ou Teste do Qui-quadrado

Concernente às análises citopatológicas das mulheres infectadas e não infectadas por HTLV-1, não houve diferença estatística entre os grupos nos resultados negativos para neoplasia (p=0,71). Aproximadamente 97% dessas avaliações no grupo de mulheres infectadas tiveram diagnóstico negativo, e no grupo de comparação, 98% dos diagnósticos tiveram o mesmo resultado. Uma porcentagem de 1,6 e 2% de infectadas e não infectadas pelo vírus, respectivamente, apresentaram Atipia de Células Escamosas de Significado Indeterminado, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos (p=0,86). Também não foi encontrada diferença na análise de microflora vaginal entre os grupos para os achados de *Lactobacillus sp.* (p=0,87), *Gardnerella vaginalis/Mobiluncus sp.* (p=0,23), Cocos/Bacilos (p=0,67), *Candida sp.* (p=0,37) e *Trichomonas vaginalis* (p=0,25). Após revisão de 10% dos esfregaços negativos para neoplasia e 100% dos resultados atípicos, não foram encontradas divergências nos resultados anteriores dos grupos. No que se refere a quantificação da carga proviral vaginal em mulheres infectadas, 6 mulheres não foram avaliadas e 57 mulheres apresentaram mediana da quantificação de 62 (0-2057) / 10⁶ células (Tabela 4).

Em relação a quantificação das citocinas em fluido vaginal, as concentrações de IL-2 (p=0,001), TNF (p=0,001), IL-4 (p<0,001), IL-10 (p=0,002) e IL-17 (p<0,001) foram significativamente mais elevadas em mulheres infectadas pelo HTLV-1 quando comparadas ao grupo de não infectadas. O nível de IL-6 não apresentou diferença estatística entre os grupos avaliados (p=0,1). Já o IFN- γ , teve concentração mais elevada em mulheres não infectadas por HTLV-1 (p<0,001), conforme Figura 4.

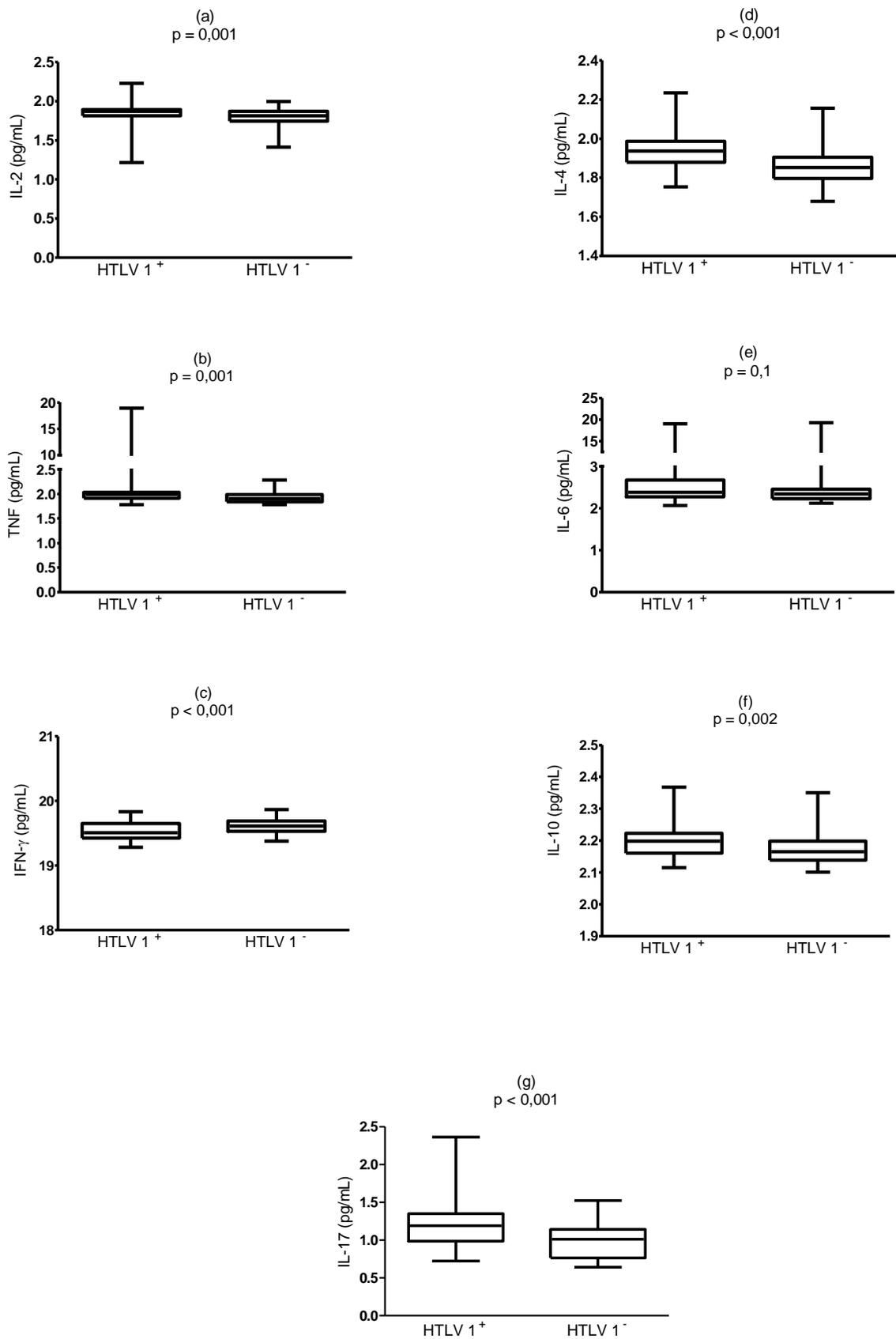


Figura 4. Níveis de IL-2 (a), TNF (b), IFN- γ (c), IL-4 (d), IL-6 (e), IL-10 (f) e IL-17 (g) em fluido vaginal de mulheres infectadas (n=63) e não infectadas (n=49) por HTLV-1.

Não houve correlação entre concentração de citocinas em fluido vaginal e índice de lubrificação vaginal em todas as citocinas analisadas, tanto em mulheres infectadas para HTLV-1, como em mulheres não infectadas. Também não foi observada correlação entre concentração de citocinas em fluido vaginal e carga proviral vaginal (Tabela 5).

Tabela 5. Correlação entre concentração de citocinas em fluido vaginal e índice de lubrificação vaginal em infectadas e não infectadas por HTLV-1 e com carga proviral vaginal em infectadas.

Citocinas	Índice de Lubrificação Vaginal		Carga Proviral Vaginal			
	HTLV-1 ⁺ (n=63)		HTLV-1 ⁻ (n=49)		HTLV-1 ⁻ (n=57)	
	rho	p	rho	p	rho	p
IL-2	0,09	0,47	0,17	0,26	0,09	0,50
IL-4	0,24	0,06	- 0,07	0,65	0,08	0,57
IL-6	0,10	0,42	0,05	0,8	0,02	0,90
IL-10	0,22	0,08	0,12	0,45	-0,19	0,16
TNF	0,21	0,10	-0,03	0,87	0,07	0,60
IFN- γ	- 0,15	0,25	-0,06	0,68	0,07	0,60
IL-17	0,20	0,12	-0,06	0,71	0,08	0,55

Abreviações: IL, interleucina; TNF, fator de necrose tumoral; IFN- γ , interferon gama.

Índice de lubrificação vaginal medido através do domínio da lubrificação do questionário FSFI.

rho = Correlação de Spearman.

6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que existe a presença de um ambiente inflamatório na mucosa vaginal de mulheres infectadas pelo HTLV-1, refletido pelo aumento nos níveis de concentração de citocinas em fluido vaginal. De fato, as citocinas secretadas por células T CD4⁺ do tipo Th1, como IL-2 e TNF, estavam em maiores níveis de concentrações nas mulheres infectadas por HTLV-1 em relação ao grupo de comparação. Surpreendentemente, o nível de IFN- γ em fluido vaginal foi menor no grupo infectado. Mulheres infectadas por HTLV-1 também apresentaram níveis mais elevados de citocinas Th2 (IL-4 e IL-10), comparadas com mulheres não infectadas. A avaliação de IL-17 também apresentou maiores concentrações em mulheres infectadas por HTLV-1.

Não foram encontrados nas bases de dados disponíveis, estudos avaliando o perfil de citocinas em fluido vaginal de mulheres infectadas por HTLV-1. No entanto, estudos que avaliaram concentrações de citocinas vaginais em mulheres infectadas por um outro retrovírus, o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), demonstraram elevação de citocinas Th1 e Th2 nessas mulheres, resultados que corroboram com os achados do presente estudo em mulheres HTLV-1⁺ (89,90). Com relação a IL-17, um trabalho que avaliou esta citocina em fluido vaginal de mulheres infectadas e não infectadas por HIV, não encontrou diferença entre os grupos avaliados (91). Em um outro estudo, os autores evidenciaram que mulheres infectadas por HIV possuíam níveis praticamente ausentes de IL-17 em fluido vaginal, resultado divergente do encontrado em nosso trabalho, no qual mulheres infectadas pelo HTLV-1 apresentaram níveis elevados de IL-17 em fluido vaginal (92).

Em contraste da escassez de informações sobre a análise de citocinas em fluido vaginal de mulheres infectadas por HTLV-1, diversos trabalhos quantificam os níveis de citocinas séricas em indivíduos que apresentam o vírus. Portadores de HTLV-1 que apresentam doenças associadas parecem ter aumento dos níveis de concentração de citocinas Th1 e manutenção dos níveis de Th2. Já foi demonstrado que níveis de concentração de IFN- γ e TNF- α foram mais altos em pacientes com dermatite infectiva associada ao HTLV-1 quando comparados aos controles sem a dermatite. Neste mesmo trabalho, não houve diferença estatística nos níveis de IL-5 e IL-10 entre os grupos (19). Starling e colaboradores avaliaram concentrações de citocinas plasmáticas em indivíduos portadores de HAM/TSP e observaram níveis de IFN- γ e TNF- α mais elevados quando comparados aos do grupo assintomático, e que concentrações de IL-10 e IL-2 foram similares entre os grupos (16). Um outro estudo mais recente que avaliou citocinas plasmáticas em portadores de síndrome sicca, relatou elevação das citocinas pró-inflamatórias

IFN- γ e TNF- α nos indivíduos sintomáticos quando comparados aos infectados pelo vírus não portadores da síndrome. Quando avaliados os níveis séricos de IL-5 e IL-10 entre os grupos, não houve diferença estatística ⁽¹⁸⁾. As mulheres avaliadas em nosso estudo não apresentaram doenças associadas ao HTLV-1, ainda assim tiveram níveis mais elevados de citocinas Th1, Th2 e IL-17 em fluido vaginal quando comparadas às mulheres não infectadas pelo vírus. Carvalho e colaboradores demonstraram que portadores de HTLV-1 assintomáticos podem ter maiores níveis de citocinas Th1 e Th2 séricas comparados com indivíduos não infectados ⁽¹⁵⁾.

O estudo conduzido por Lima e colaboradores em portadores de HTLV-1 com síndrome seca, mostrou que existe uma correlação direta entre citocinas inflamatórias e carga proviral séricas, indicando uma associação da presença dos fatores virais e o aumento da resposta inflamatória na patogênese da síndrome seca associada ao HTLV-1 ⁽¹⁸⁾. Devido a isso, determinamos a carga proviral vaginal do grupo de mulheres infectadas e foi observado que cerca de 52,6% das 57 mulheres avaliadas apresentaram CPV vaginal detectável, com mediana de 62 (0-2057) / 10^6 células (0,006%) células encontradas. Estes valores podem ser considerados uma baixa carga proviral, já que, em sangue periférico, se a proporção de PBMC infectadas for <1% temos uma CPV baixa, intermediária entre 1 e 5% e alta se > 5% ⁽⁹³⁾. Uma carga proviral acima de 50.000 / 10^6 células em PBMC é o melhor ponto de corte para distinguir indivíduos assintomáticos de portadores de HAM/TSP ⁽²⁰⁾. É possível que o aumento das concentrações de citocinas em fluido vaginal de mulheres infectadas por HTLV-1 ocorra em resposta à presença do vírus, uma vez que foi possível detectar CPV no fluido vaginal, assim como acontece na avaliação sérica de citocinas em portadores do vírus. Um estudo que avaliou citocinas em fluido vaginal de mulheres infectadas por HIV, mostrou que uma maior concentração de citocinas neste ambiente facilitou a eliminação local do HIV, resposta imunológica que pode ocorrer, também, em mulheres infectadas por HTLV-1 devido a presença do vírus no ambiente vaginal ⁽⁹⁴⁾. Avaliamos então a relação entre carga proviral vaginal e citocinas em fluido vaginal, porém, não foi encontrada correlação.

Uma outra possibilidade, é que a maior concentração de citocinas em fluido vaginal não esteja correlacionada com a produção local e possa ter ocorrido devido ao processo natural de transudação vaginal que auxilia a lubrificação através de reações de vasodilatação-transudação ^(82,95). Devido a possível síndrome seca que acomete indivíduos infectados por HTLV-1, determinamos o índice de lubrificação vaginal das mulheres infectadas e não infectadas pelo vírus, não sendo observado ressecamento da mucosa vaginal nessas mulheres. Os grupos apresentaram mediana dos índices de lubrificação semelhantes de 4,8 pontos. Mesmo não havendo uma pontuação mínima nos domínios do FSFI para determinar disfunções específicas,

este resultado pode ser considerado uma lubrificação suficiente por se aproximar do valor máximo do índice, que é de 6,0 pontos. Este resultado poderia reforçar a possibilidade da produção local de citocinas ter aumentado em virtude do processo natural de transudação vaginal, porém, não foi observada correlação entre índice de lubrificação vaginal e citocinas em fluido vaginal. Trabalhos realizados utilizando o FSFI como ferramenta de avaliação em mulheres portadoras de Síndrome de Sjögren, que possuem características clínicas de secura similares as que acomete portadores de HTLV-1, apresentaram diferença estatística quando comparadas às mulheres saudáveis, apresentando baixo índice de lubrificação, divergindo dos resultados encontrados em nosso estudo ^(96,97).

Mulheres que possuem pouca lubrificação vaginal são mais propensas a serem acometidas por infecções do trato genital, aumentando consequentemente a resposta inflamatória dessa região ⁽⁸⁴⁾. Na avaliação da microflora vaginal de ambos os grupos, não foi encontrada diferença significativa na frequência dos patógenos identificados. Trabalhos que avaliaram vaginose bacteriana em mulheres não infectadas por HTLV-1 indicaram níveis elevados de citocinas Th1 e Th2 em fluido vaginal quando comparadas às mulheres com flora normal ^(72,98,99). Mulheres com diagnóstico de candidíase vaginal apresentam níveis elevados de algumas citocinas Th1 (IL-2, IL-12 e TNF- α) em fluido vaginal, porém, alguns trabalhos demonstram que mulheres com candidíase vaginal recorrente produzem níveis baixos de IFN- γ em resposta aos antígenos ^(73,100,101). Em nosso estudo, mulheres infectadas por HTLV-1 apresentaram concentrações de IFN- γ em fluido vaginal mais baixas que mulheres não infectadas, o que pode ser justificado pela maior frequência de *Candida sp.* na microflora vaginal dessas mulheres, embora não significativa do ponto de vista estatístico. Concomitante a essa possibilidade, a menor concentração de IFN- γ vaginal em mulheres infectadas pelo HTLV-1 pode estar associada a maior concentração local de IL-10, citocina regulatória que atua de forma antagônica ao IFN- γ ⁽¹⁰²⁾.

Assim como a microflora vaginal, também não foi detectada diferença entre os grupos na análise das alterações citopatológicas cérvico-vaginais, com mais de 95% das mulheres tendo diagnóstico citopatológico negativo para neoplasia. Já foi demonstrado que níveis de concentração das citocinas Th1 e Th2 são mais elevados em mulheres com neoplasia intraepitelial cervical (NIC), aumentando ainda mais de acordo a gravidade da lesão, porém, em nosso trabalho, somente uma mulher em cada grupo apresentou Atipia de Células Escamosas de Significado Indeterminado – ASC-US, alteração citopatológica que inicialmente não requer nenhuma intervenção, somente acompanhamento periódico ^(74,103). Resultados semelhantes foram demonstrados em um estudo realizado no Brasil, no qual mais de 95% dos

achados descritos eram negativos para neoplasia, sem diferença estatística entre os grupos. Foi identificada apenas uma paciente com lesão intraepitelial escamosa de alto grau no grupo de mulheres infectadas por HTLV-1 ⁽¹⁰⁴⁾.

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a infecção pelo HTLV-1 induz um ambiente inflamatório cérvico-vaginal em mulheres infectadas pelo vírus, quando comparadas às não infectadas, embora isso não se reflita na ocorrência de alterações citopatológicas cérvico-vaginais ou no ressecamento da mucosa vaginal. Nosso estudo é uma pesquisa observacional que levantou hipóteses a serem elucidadas em trabalhos futuros.

7 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS DO ESTUDO

A avaliação do ambiente inflamatório cérvico-vaginal poderia ser melhor estabelecida em uma quantificação conjunta da carga proviral em sangue periférico e das citocinas no sangue do grupo de mulheres infectadas pelo HTLV-1, entretanto, não foi possível realizar essas quantificações. Além disso, através do domínio da lubrificação no questionário FSFI foi possível avaliar a lubrificação vaginal das mulheres neste trabalho, porém, não há disponível um teste padrão ouro para confirmação diagnóstica de ressecamento vaginal, consistindo em uma limitação no presente estudo.

8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que mulheres infectadas pelo HTLV-1 apresentam um ambiente inflamatório na mucosa vaginal, caracterizado pela elevação das concentrações de citocinas Th1, Th2 e Th17 em fluido vaginal.

REFERÊNCIAS

1. Poiesz BJ, et al. Detection and isolation of type-C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous t-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci. U S A.* 77:7415-19, 1980.
2. Gessain A, Cassar O. Epidemiological Aspects and World Distribution of HTLV-1 Infection. *Front Microbiol.* 3:388 doi: 10.3389/fmicb.2012.00388, 2012.
3. Yoshida M. et al. Isolation and characterization of retrovirus from cells lines of human adult T-cell leukemia and its implications in the disease. *Proc Natl Acad Sci. U S A.* 79:2031-35, 1982.
4. Gessain A. et al. Antibodies to human Tlymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet.* 2:407-10, 1985.
5. Mochizuki M. et al. Uveitis associated with human T lymphotropic virus type I: seroepidemiologic, clinical, and virologic studies. *J Infect Dis.* v. 166. n. 4. p. 943-944. 1992.
6. La Grenade L. HTLV-1 associated infective dermatitis; past, present and future. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology.* 13:846-849, 1996.
7. Vernant J C. et al. T lymphocyte alveolitis, tropical spastic paresis, and Sjogren syndrome. *Lancet.* 1(8578):177, 1988.
8. Terada K. et al. Prevalence of serum and salivary antibodies to HTLV-1 in Sjögren's syndrome. *Lancet.* Oct 22;344(8930):1116-9, 1994.
9. Hida, A. et al. HTLV-I associated Sjogren's syndrome is aetiologically distinct from anti-centromere antibodies positive Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 58(5):320–322, 1999.
10. Nakamura, H. et al. Relationship between Sjogren's syndrome and human T-lymphotropic virus type I infection: follow-up study of 83 patients. *J Lab Clin Med* 135(2):139–144, 2000.
11. Ferraz-Chaoui, A. K., et al. Study of autoantibodies in patients with keratoconjunctivitis sicca infected by the human T cell lymphotropic virus type 1. *Rheumatology International.* Jul. 2009.
12. Okajima, R., et al. High Prevalence of Skin Disorders among HTLV-1 Infected Individuals Independent of Clinical Status. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(11), e2546, 2013.
13. Caskey, M. F. et al. Clinical manifestations associated with HTLV type I infection: a cross-sectional study. *AIDS Research and Human Retroviruses.*;23(3):365–371, 2007.
14. Castro-Lima Vargens, C. et al. Keratoconjunctivitis sicca of human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infected individuals is associated with high levels of HTLV-1 proviral load. *J Clin Virol.* Nov;52(3):177-80. Epub 2011 Aug 24, 2011.

15. Carvalho, E. M. et al. Cytokine profile and immunomodulation in asymptomatic human T-lymphotropic virus type 1-infected blood donors. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 27(1):1–6, 2001.
16. Starling, A. L., et al. Proviral load and the balance of serum cytokines in HTLV-1-asymptomatic infection and in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *Acta Trop*. 125, 75–81. 10.1016/j.actatropica.2012.09.012, 2013.
17. Santos, S. B., et al. Immunological and viral features in patients with overactive bladder associated with human T-cell lymphotropic virus type 1 infection. *Journal of Medical Virology*. 84(11):1809–1817, 2012.
18. Lima, C. L., et al. Association of Sicca Syndrome with Proviral Load and Proinflammatory Cytokines in HTLV-1 Infection. *Journal of Immunology Research*, vol. 2016, Article ID 8402059, 6 pages, 2016.
19. Nascimento, M. C. F., et al. Infective dermatitis has similar immunological features to human T lymphotropic virus-type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Clinical and Experimental Immunology*. 156(3):455–462, 2009.
20. Grassi, M. F. R., et al. Human T cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) proviral load of HTLV-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) patients according to new diagnostic criteria of HAM/TSP. *Journal of Medical Virology*. 83(7):1269–1274. doi: 10.1002/jmv.22087, 2011.
21. Gabet, A. S., et al. Adult T-cell leukaemia/lymphoma-like human T-cell leukaemia virus-1 replication in infective dermatitis. *Br J Haematol* 123: 406–412, 2003.
22. Mochizuki, M., et al. HTLV-I uveitis. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol Suppl 1*: 13 S50–S56, 1996.
23. Cook, L. B., et al. HTLV-1: persistence and pathogenesis. *Virology*. Elsevier; 435(1):131–40, 2013.
24. Kalyanaraman, V. S. et al. A new subtype of HTLV-2 associated with T-cell variant of hairy cell leukemia. *Science*.; 281:571-73, 1982.
25. Wolfe, N. D. et al. Emergence of unique primate T-lymphotropic viruses among central African bushmeat hunters. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. v. 102. n. 22. p. 7994-7999. 2005.
26. Morimoto, H. K., et al. Seroprevalence and risk factors for human T cell lymphotropic virus type 1 and 2 infection in human immunodeficiency virus-infected patients attending AIDS referral center health units in Londrina and other communities in Paraná, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. Apr;21(4):256- 62, 2005.
27. Green, P. L., et al. *Fields Virology*. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
28. Hoshino, H. Cellular Factors Involved in HTLV-1 Entry and Pathogenicity. *Frontiers in*

Microbiology. v. 3. n. p. 2012.

29. Liu, H. F., et al. Familial transmission and minimal sequence variability of human Tlymphotropic virus type-I (HTLV-I) in Zaire. *Aids Research and Human Retroviruses*. 10:1135-1142, 1994.
30. Dourado, I. et al. HTLV-I in the general population of Salvador, Brazil: a city with African ethnic and sociodemographic characteristics. *J Acquir Immune Defic Syndr*. v. 34. n. 5. p. 527-531., 2003.
31. Kitagawa, T. et al. Antibodies to HTLV-I in Japanese immigrants in Brazil. *J Amer Med Assoc*. 256 (17): 2342, 1986.
32. Carneiro-Proietti, A. B. F., et al. Infecção e doença pelos vírus linfotrópicos humanos de células T (HTLV-I/II) no Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. Oct; 35(5): 499-508, 2002.
33. Galvão-Castro, B., L. et al. Distribution of human T-lymphotropic virus type I among blood donors: a nationwide Brazilian study. *Transfusion*. 37:242-3, 1997.
34. Catalan-Soares, B. et al. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad Saude Publica*. v. 21. n. 3. p. 926-931. 2005.
35. Rego, F. F. A. et al. HTLV Type 1 Molecular Study in Brazilian Villages with African Characteristics Giving Support to the Post-Columbian Introduction Hypothesis. *AIDS Res Human Retrovi* 24, 5, 2008.
36. Bittencourt, A. L. Vertical transmission of HTLV-1/2: a review. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1998;40(4):245–51. pmid:9876439, 1998.
37. Nunes, D. et al. HTLV-1 is predominantly sexually transmitted in Salvador, the city with the highest HTLV-1 prevalence in Brazil. *PLoS ONE* 12(2): e0171303, 2017.
38. Kajiyama, W. et al. Intrafamilial transmission of adult T cell leukemia virus. *J Infect Dis*.;154(5):851–7. pmid:2877031, 1986.
39. Stuver, S. O. et al. Heterosexual transmission of human T cell leukemia/lymphoma virus type I among married couples in southwestern Japan: an initial report from the Miyazaki Cohort Study. *J Infect Dis*. 167(1):57–65. pmid:8418183, 1993.
40. La Rosa, A. M., et al. Retroviral Infections in Peruvian Men Who Have Sex With Men. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 49(1), 112–117, 2009.
41. Osame, M. et al. HTLV-1 associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet*. 1986; 1:1031-32.
42. Matsouka, M. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) infection and the onset of adult T-cell leukemia (ATL). *Retrovirology*. v. 2. n. 1. p. 27. 2005.

43. Nishioka, K. et al. Human T lymphotropic virus type I in arthropathy and autoimmune disorders. *Arthritis Rheum* 39: 1410-8, 1996.
44. Kitajima, I. et al. Ribozyme-based gene cleavage approach to chronic arthritis associated with human T cell leukemia virus type I: induction of apoptosis in synoviocytes by ablation of HTLV-1 tax protein. *Arthritis Rheum* 40: 2118-27, 1997.
45. Yakova, M. et al. Increased proviral load in HTLV-1-infected patients with Rheumatoid arthritis or connective tissue disease. *Retrovirology*. 2:4. 2005.
46. Setoguchi, Y. et al. Detection of human T-cell lymphotropic virus type I-related antibodies in patients with lymphocytic interstitial pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 144:1361–1365, 1991.
47. Morgan, O. S. C., et al. HTLV-I and polymyositis in Jamaica. *Lancet* 2:1184-1187, 1989.
48. Nakamura, H. et al. High prevalence of Sjogren's syndrome in patients with HTLV-1 associated myelopathy. *Ann Rheum Dis.*; 56:167-72, 1997.
49. Carvalho, E. M, Da Fonseca P. A., Epidemiological and clinical interaction between HTLV-1 and *Strongyloides stercoralis*. *Parasite Immunol*. Nov-Dec;26(11-12):487-97, 2004.
50. Marinho, J. et al. Increased risk of tuberculosis with human T-lymphotropic virus-1 infection: a case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 15;40(5):625-8, 2005.
51. Proietti, A. B. F. C. *Cadernos Hemominas*. 4ª ed. Belo Horizonte: Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais. 2006.
52. Constatine, N. T. et al. *Retroviral Testing. Essential for Quality Control and Laboratory Diagnosis*. CRC Press. 1992.
53. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. *Guia de Manejo Clínico da Infecção pelo HTLV*. Brasília; 2013.
54. Gessain, A. Mahieux, R. Tropical spastic paraparesis and HTLV-1 associated myelopathy: Clinical, epidemiological, virological and therapeutic aspects. *Rev Neurol (Paris)*. Elsevier Masson SAS;168(3):257–69. 2012.
55. Martin, J. L. et al. Molecular Studies of HTLV-1 Replication: An Update. *Viruses* 2016, 8, 31.
56. Nagai, M., et al. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *J Neurovirol.*;4(6):586–93, 1998.
57. Matsuzaki, T., et al. HTLV-I proviral load correlates with progression of motor disability in HAM/TSP: analysis of 239 HAM/TSP patients including 64 patients followed up for 10 years *J. Neurovirol.*, 7 (3), pp. 228–234, 2001.
58. Hashimoto, K. et al. Quantitative in situ PCR assay of HTLV-1 infected cells in peripheral

blood lymphocytes of patients with ATL, HAM/TSP and asymptomatic carriers. *J Neurol Sci.*;159(1):67–72, 1998.

59. Tanajura, D. et al. Neurological manifestations in human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-infected individuals without HTLV-1-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis: A longitudinal cohort study. *Clinical infectious diseases.* 61(1):49–56, 2015.

60. Lins, L., et al. Oral health profile in patients infected with HTLV-1: Clinical findings, proviral load, and molecular analysis from HTLV-1 in saliva. *J Med Virol.*;84(9):1428–36, 2012.

61. Abbas, A. K. et al. *Cellular and molecular immunology.* 7th. Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2011.

62. Quresma, J. A. S., et al. HTLV-1, Immune Response and Autoimmunity. Mansky LM, ed. *Viruses.* 8(1):5, 2016.

63. Medzhitov, R. Janeway, C. Jr. Innate immunity. *N Engl J Med.* 2000; 343: 338–344, 2000.

64. Moser, M. and Murphy, K. M. Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development. *Nat Immunol* 1(3): 199-205, 2000.

65. Mosmann, T. R., COFFMAN, R L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.*;7:145-73 1989.

66. Murphy, K., et al. *Janeway's immunobiology.* 7th. New York: Garland Science, 2008.

67. Sacks, D. Noben-Trauth, N. The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in mice. *Nat Rev Immunol* [S.I.], v. 2, n. 11, p. 845-58, Nov 2002.

68. Araya, N. et al. Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and regulatory T cells in HTLV-1-associated neuroinflammatory disease. *Viruses.* 2011;3:1532–1548, 2011.

69. Souza-Machado, A. et al. Immunopathogenesis of HTLV-1 infection: influence upon type 2 immune response. *Rev. bras. alerg. Imunol. Patol.* 26(4):159-167, 2003.

70. Mestecky, J. Fultz, P. N. Mucosal Immune System of the Human Genital Tract. *J Infect Dis.*179(Suppl 3):S470–4, 1999.

71. Brabin, L. Interactions of the female hormonal environment, susceptibility to viral infections, and disease progression. *AIDS Patient Care STDS.* 16(5):211–21, 2002.

72. Fan, S. R. et al. Human defenses and cytokines in vaginal lavage fluid of women with bacterial vaginosis. *Int Gynaecol Obstet* 103(1):50-54, 2008.

73. Campos, A. C. C. et al. Avaliação de citocinas em secreção endocervical de mulheres com candidíase, tricomoníase ou vaginite bacteriana. *Revista de Patologia Tropical*, [S.I.], v. 40, n. 2, p. 125-136. ISSN 1980-8178, 2011.

74. Tavares-Murta, B. M. et al. Local profile of cytokines and nitric oxide in patients with

bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 138(1):93-99, 2008.

75. Koss, L. G.; Gompel, C. *Introdução à Citopatologia Ginecológica com Correlações Histológicas e Clínicas*. 1ª Ed., São Paulo: Roca, 2006.

76. De Azevedo, A. E. B. et al. Association between human papillomavirus infection and cytological abnormalities during early follow-up of invasive cervical cancer. *J. Med. Virol.*, 84: 1115–1119. 2012.

77. Solomon, D. et al. Forum Group Members The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002 Apr 24;287(16):2114–2119., 2002.

78. Consolaro, M. E. L. et al. *Citologia Clínica cérvico-vaginal texto e atlas*. 1. ed. São Paulo: Gen Roca, 270p, 2012.

79. Steben, M. Duarte-Franco, E. Human papillomavirus infection: Epidemiology and pathophysiology. *Gynecol Oncol*. 107(2 SUPPL.):2–5, 2007.

80. Nakagawa, J. T. T. et al. Vírus HPV e câncer de colo de útero. *Rev Bras Enferm.*; 63(2):307–11, 2010.

81. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Divisão de Apoio à Rede de Atenção Oncológica. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo de útero. Rio de Janeiro: INCA; 2011.

82. Dihel, A. et al. *Sexualidade: do prazer ao sofrer*. São Paulo: Roca, 2013.

83. Weber, M. A. et al. Assessment of vaginal atrophy: a review. *Int Urogynecol J*. 26(1):15–28., 2015.

84. Marchesoni, D. et al. Gynaecological aspects of primary Sjogren's syndrome, *Eur J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 63:49—53, 1995.

85. Pacagnella, R.C., et al. Validade de construto de uma versão em português do Female Sexual Function Index. *Cadernos de Saúde Pública*, 25(11), 2333-2344, 2009.

86. Papanicolaou, G. N., Traut, H. F. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. *Am J Obstet Gynecol*. 1941; 42:193–206., 1941.

87. Instituto Nacional do Câncer; Ministério da Saúde; Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas recomendações para profissionais de saúde. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.*, Rio de Janeiro, v. 28, n. 8, p. 486-504, Aug. 2006.

88. Dehee, A., et al. Quantitation of HTLV-I proviral load by a TaqMan real-time PCR assay. *J Virol Methods.*; 102(1-2):37-51, 2002.

89. Belec, L. R. et al. Proinflammatory cytokine expression in cervicovaginal secretions of normal and HIV-infected women. *Cytokine* 7:568–574, 1995.

90. Crowley-Nowick, P. A. et al. Cytokine profile in genital tract secretions from female adolescents: impact of human immunodeficiency virus, human papillomavirus, and other sexually transmitted pathogens. *J Infect Dis* 181: 939–945, 2000.
91. Masson, L. et al. Relationship between female genital tract infections, mucosal interleukin - 17 production and local T helper type 17 cells. *Immunology*. 146(4):557-567., 2015.
92. McKinnon, L. R., et al. Characterization of a human cervical CD4+ T cell subset coexpressing multiple markers of HIV susceptibility. *J Immunol*.187(11):6032–42, 2011.
93. Goncalves, D. U. et al. HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) inflammatory network. *Inflamm Allergy Drug Targets* 7:98–107, 2008.
94. Zara, F. et al. Markers of Local Immunity in Cervico-Vaginal Secretions of HIV Infected Women: Implications for HIV Shedding. *Sexually Transmitted Infections* 80.2 (2004): 108–112. PMC, 2004.
95. Linhares, I. M., et al. New findings about vaginal bacterial flora. *Rev Assoc Med Bras*. 56(3):370–4, 2010.
96. Van Nimwegen, J. F. et al. The impact of primary Sjögren's syndrome on female sexual function. *Rheumatology (Oxford)* 54 (7): 1286-1293, 2015.
97. Isik, H. et. al. Are the women with Sjögren's Syndrome satisfied with their sexual activity? *Revista Brasileira de Reumatologia*, ISSN 22555021, 2016.
98. Hedges, S. R., et al. Local and systemic cytokine levels in relation to changes in vaginal flora. *J Infect Dis*. 193(4):556–562, 2006.
99. Sturm-Ramirez, K. et al. High levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in bacterial vaginosis may increase susceptibility to human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 182(2):467-473, 2000.
100. Carvalho, L. P, et al. Downregulation of IFN-gamma production in patients with recurrent vaginal candidiasis. *J Allergy Clin Immunol* 109: 102–105, 2002.
101. Burgess, K. et al. Interferon-gamma responses to *Candida* recover slowly or remain low in immunodeficient HIV patients responding to ART. *Journal of Clinical Immunology*.;26:160–167, 2006.
102. Male, D. et al. *Immunology*. 7th. ed. Mosby: Elsevier, 544p, 2006.
103. Daniilidis, A. et al. Cytokines of Cervical Mucosa and Human Papilloma Virus Infection of the Cervix: A Descriptive Study. *Acta Cytologica*; 60:58-64, 2016.
104. Lopo, S. S., et al. Evidence of a higher prevalence of HPV infection in HTLV-1-infected women: a cross-sectional study. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 2012 June; 45(3): 305-308, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Prezada Senhora,

Eu, Adenilda Lima Lopes Martins, Coordenadora do Projeto de Pesquisa “Associação entre infecção pelo HTLV-1 e disfunção sexual em mulheres”, convido você a participar de nosso projeto e pretendo lhe explicar com clareza esta pesquisa. Caso você concorde em participar, este documento servirá como comprovante que sua aceitação foi de livre vontade. Esta pesquisa investigará a ocorrência da infecção pelo HTLV-1 e disfunção sexual em mulheres de 20 a 50 anos de idade. Verificará as possíveis relações entre idade, cor da pele autorreferida, religião, estado civil, procedência, profissão/ocupação, nível educacional, faixa de renda em salários mínimos, diagnóstico médico e tempo de doença. Investigará também questões relacionadas a sexualidade. A participação consistirá em responder um formulário elaborado para esse trabalho. Esse formulário possui algumas perguntas que poderão causar constrangimento, você pode não respondê-las, se assim o desejar. Gostaria de deixar bem claro, que as informações serão tratadas com sigilo e o formulário será aplicado por mim, médica ginecologista, com especialização em sexualidade, em local reservado para esse fim na Unidade. Você poderá desistir de participar da pesquisa em qualquer momento, sem necessidade de explicar a sua desistência, bem como poderá pedir informações sobre a pesquisa se assim julgar necessário. Além disso, será realizado um exame ginecológico: Após deitar na mesa ginecológica, será colocado um espécule (conhecido também como bico de pato) na vagina para depois colher material para o exame preventivo. Vamos colocar também um pequeno tampão vaginal (absorvente interno) que será deixado na vagina por 3 minutos. Este tampão será utilizado para estudar as citocinas (secretados pelo sistema imunológico) e as células. Nestes exames vamos avaliar se existe secura da vagina, ou inflamação que provoquem dor ou outra dificuldade na relação sexual. As mulheres que apresentarem secura vaginal farão exame de sangue para avaliar os níveis de hormônios. Estes exames não são dolorosos, mas podem causar um pequeno desconforto passageiro. Os resultados desse trabalho poderão contribuir para a prevenção, detecção e tratamento mais adequado para a disfunção sexual e as comorbidades (outras alterações) encontradas e serão divulgados em congressos e revistas científicas, sendo que a sua identidade jamais será revelada, pois as informações coletadas nos formulários ficarão

guardadas por cinco (05) anos, sob minha responsabilidade e depois serão queimados. Estaremos à disposição a qualquer momento para informar os resultados dessa pesquisa, no endereço abaixo citado. Foram elaboradas duas (02) cópias desse documento, sendo que uma (01) dessas cópias ficará com a senhora, onde consta o nome completo do pesquisador responsável, seu endereço e telefone, para que possa ser consultado sobre qualquer dúvida ou problema referente à pesquisa. Caso queira participar deste estudo, deverá assinar ou colocar a sua impressão digital após a leitura e concordância com os termos desse documento.

Salvador, _____ de _____

Adenilda Lima Lopes Martins (Coordenadora do Projeto)

Telefone: 71-3276-8265

Nome _____

Assinatura _____

APÊNDICE B - Questionário Geral

RESPONSÁVEL PELO PREENCHIMENTO: _____		
DATA: ____/____/____	HORA: ____: ____	REGISTRO GERAL: _____
CARTÃO SUS: _____	REGISTRO CHTLV: _____	
NOME: _____		
NATURALIDADE: _____	NASCIMENTO: ____/____/____	IDADE: ____ anos
FILIAÇÃO: _____ e _____		
ENDEREÇO: _____		
BAIRRO: _____	CIDADE: _____	ESTADO: _____
CEP: _____	TEL. RESID.: _____	TEL. RECADOS: _____
TEL. CELULAR: _____	TEL. COMERCIAL: _____	

OUTROS DADOS

Data de Sorologia ____/____/____

Peso _____ Altura _____

Pressão Arterial _____ IMC _____

PARIDADE

Nº de Gestações: _____

Nº de Partos: _____

Tipo de Parto: _____

Nº de Abortos: _____

SOROLOGIA PARA HTLV:

HTLV-1

HTLV-1/2

HTLV-2

Controle Negativo

RELIGIÃO:

Católica

Testemunha de Jeová

Espirita

Matriz Africana

Protestante (Evangélica/Batista)

Sem Religião

COR (AUTORREFERIDA):

Branco (a)

Amarelo(a)

Pardo (a)

Indígena

Negro (a)

Sem Informação

ESTADO CIVIL:

Solteiro (a)

Separado(a) ou Divorciado (a)

Casado (a)

União Estável

Viúvo (a)

Sem Informação

ESCOLARIDADE:

Analfabeto (a)

Sabe ler e escrever

1º Grau

Incompleto

Completo

2º Grau

Incompleto

Completo

Ensino Superior

Incompleto

Completo

Sem Informação Anos de estudo: _____

PROFISSIONAL:

Profissão: _____ Sem Informação

Ocupação atual: _____ Sem Informação

RENDA FAMILIAR:

Nenhuma

Menor que um salário mínimo Valor: _____

Igual a um salário mínimo

Entre um e três salário mínimo

Entre três e seis salário mínimo

Acima de seis salários mínimos

Sem Informação

DADOS EPIDEMIOLÓGICOS:

Hemotransusão:

Sim Ano: _____ Não Sem Informação

Uso de Bebida Alcoólica:

Sim Frequencia: _____ Não Sem Informação

Uso de Tabaco:

Sim Frequencia: _____ Não Sem Informação

Uso de Drogas e Entorpecentes:

Sim Frequencia: _____ Não Sem Informação

Comorbidades:

Sim Não Sem Informação

Se sim:

Diabetes Melitus Depressão Antecedente de Tuberculose

Outras: _____

DST:

HIV HCV HBV HAV

Sífilis Outras Nenhuma

DST: _____

Uso de Preservativo:

Sempre Ocasionalmente Raramente Nunca

Número de parceiros sexuais na vida:

< 5 5 - 10 10 - 20 > 20

DADOS CLÍNICOS/EXAMES:

Sintomatologia:

2002: _____ 2009: _____

2003: _____ 2010: _____

2004: _____ 2011: _____

2005: _____ 2012: _____

2006: _____ 2013: _____

2007: _____

2014: _____

2008: _____

2015: _____

Tempo de Doença: _____

 Sem Informação**Escalas - HAM/TSP**

Osame: _____ Kurtzke: _____

EPE: _____

Líquor: Não Sim

Origem do Líquor: _____

Carga Proviral: Não Sim

Valor: _____

Vitamina B12: Não Sim

Valor: _____

Ressonância:Crânio: Não SimCervical: Não SimTorácica: Não SimLombar: Não Sim**Urologia:****Alterações Urinárias:** Não SimQual: Sem InformaçãoIncontinência: Não Sim Sem InformaçãoSe sim, qual tipo: Urge Mista Por EsforçoUrodinâmica: Não Sim

Quais as alterações:

 Sem Informação**Dermatologia:****Alterações**Dermatológicas: Não SimQual: Sem Informação**Oftalmologia:**Alterações Oftalmológicas: Não SimQual: Sem Informação

APÊNDICE C - Ficha de Consulta (Ginecologia e Obstetrícia)**FICHA DE CONSULTA**
GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

NOME: _____ DATA: ____/____/____
REGISTRO HLTV: _____

ANAMNESE

QP:
HMA:
Histórico Menstrual:

Menarca: _____ Data da Última Menstruação: ____/____/____

VOCÊ TEVE PROBLEMAS GINECOLÓGICOS?

Sim Não Qual? _____

HISTÓRIA SEXUAL**SOROLOGIA PARA HTLV:**

- Positivo
 Indeterminado
 Controle Negativo

ESTADO CIVIL:

Solteira Casada Viúva Divorciada Outros

O (A) PARCEIRO (A) FOI TESTADO (A)?

Sim Não Resultado _____

QUAL O Nº DE HOMENS COM OS QUAIS TEVE RELACIONAMENTO SEXUAL?

Número _____ Última Relação: ____/____

QUAL O Nº DE MULHERES COM AS QUAIS TEVE RELACIONAMENTO SEXUAL?

Número _____

O PRIMEIRO CONTATO SEXUAL COM ALGUM DESSES (AS) PARCEIROS (AS) FOI APÓS A SUA ÚLTIMA ENTREVISTA?

Sim Não

COM QUE FREQUÊNCIA VOCÊ USA OU SEU PARCEIRO (A) USA PRESERVATIVO NAS RELAÇÕES SEXUAIS?

Nunca Raramente Às Vezes Quase Sempre Sempre

ALGUM(A) DOS(AS) SEUS (SUAS) PARCEIROS (AS) PODE TER SIDO EXPOSTO AO VÍRUS HLTV?

- Uso de drogas
injetáveis Múltiplos parceiros sexuais
 Não Sabe Amamentação por mãe infectada

Recebeu transfusão de sangue Outro _____

SEU PAI E/OU SUA MÃE POSSUEM SOROLOGIA POSITIVA PARA HTLV?

Pai Mãe Ambos Nenhum

MÉTODOS CONTRACEPTIVOS

Oral Injetável Implante DIU Adesivo Anel

USO DE OUTROS HORMÔNIOS

Oral
 Implante
 Transdérmico

OUTRAS MEDICAÇÕES UTILIZADAS

Qual(is)? _____

OBSTETRÍCIA E LACTAÇÃO

Nº de Gestações: Nº de Partos: Nº de Abortos:

VIA DE PARTO

PSNV Cirúrgico

LACTANTE

Sim Não Tempo _____

EXAMES COMPLEMENTARES

FSH:	VDRL:	COLEST. TOTAL:	HEMÁCIAS:
LH:	TOXOPLA. IgM:	HDL:	HEMOGLOBINA:
ESTRADIOL:	TOXOPLA. IgG:	LDL:	LEUCÓCITOS:
TSH:	RUBÉOLA IgM:	VLDL:	PLAQ:
T3: T4:	RUBÉOLA IgG:	SUMÁRIO: _____	
B12:	UREIA:	PARASITOLÓGICO: _____	
T4 LIVRE:	CREATININA:		
ANTI-HBs:	TGO:		
ANTI-HCV:	TGP:		
ANTI-AgHBs:	GLICEMIA:		

INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

 Profissional / Carimbo

ANEXOS

ANEXO A - Índice de Função Sexual Feminina (FSFI)

FORMULÁRIO FSFI

(FEMALE SEXUAL FUNCTION INDEX - VERSÃO FINAL EM PORTUGUÊS)

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DA RESPOSTA SEXUAL FEMININA

Instruções:

Estas questões são sobre seus sentimentos e respostas sexuais nas últimas 4 semanas.

Por favor, responda às perguntas que seguem da forma mais clara e honesta possível.

Suas respostas serão mantidas em sigilo (segredo) completo.

As definições a seguir se aplicam nas respostas:

PARA CADA ITEM, MARQUE APENAS UMA RESPOSTA

O desejo ou interesse sexual é um sentimento que abrange a vontade de ter uma experiência sexual, a receptividade às iniciativas sexuais do parceiro, e pensamentos ou fantasias sobre o ato sexual.

1. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você sentiu desejo ou interesse sexual?

- Sempre ou quase sempre
- Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- Às vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- Poucas vezes (menos do que a metade do tempo)
- Nunca ou quase nunca

2. Durante as últimas 4 semanas, como você classificaria seu nível (grau) de desejo ou interesse sexual?

- Muito alto
- Alto
- Moderado
- Baixo
- Muito baixo ou nenhum

A excitação sexual é uma sensação com aspectos físicos e mentais. Pode aparecer uma sensação de calor ou de vibração na genitália, lubrificação (umidade), ou contrações musculares.

3. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você se sentiu excitada durante o ato ou atividade sexual?

- Sem atividade sexual
- Sempre ou quase sempre
- Muitas vezes (mais da metade do tempo)

- Algumas vezes (metade das vezes)
 - Poucas vezes (menos da metade do tempo)
 - Nunca ou quase nunca
4. Durante as últimas 4 semanas, como você classificaria seu nível (grau) de excitação sexual durante a atividade sexual?
- Sem atividade sexual
 - Muito alto
 - Alto
 - Moderado
 - Baixo
 - Muito baixo ou nenhum
5. Durante as últimas 4 semanas, qual foi seu grau de confiança sobre sentir-se excitada durante a atividade sexual?
- Sem atividade sexual
 - Altíssima confiança
 - Alta confiança
 - Moderada confiança
 - Baixa confiança
 - Baixíssima ou nenhuma confiança
6. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você ficou satisfeita com seu nível (grau) de excitação durante a atividade sexual?
- Sem atividade sexual
 - Sempre ou quase sempre
 - Muitas vezes (mais da metade do tempo)
 - Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
 - Poucas vezes (menos da metade do tempo)
 - Nunca ou quase nunca
7. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você ficou lubrificada ("molhada") durante a atividade sexual?
- Sem atividade sexual
 - Sempre ou quase sempre
 - Muitas vezes (mais da metade do tempo)
 - Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
 - Poucas vezes (menos da metade do tempo)
 - Nunca ou quase nunca
8. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de dificuldade para ficar lubrificada ("molhada") durante a atividade sexual?
- Sem atividade sexual
 - Extremamente difícil ou impossível
 - Muito difícil
 - Difícil
 - Pouco difícil
 - Nada difícil
9. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você manteve sua lubrificação até o final da atividade sexual?

- Sem atividade sexual
- Sempre ou quase sempre
- Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- Nunca ou quase nunca

10. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de dificuldade para manter sua lubrificação até terminar a atividade sexual?

- Sem atividade sexual
- Extremamente difícil ou impossível
- Muito difícil
- Difícil
- Pouco Difícil
- Nada Difícil

11. Durante as últimas 4 semanas, na atividade sexual ou quando sexualmente estimulada, com que frequência você atingiu o orgasmo (clímax)?

- Sem atividade sexual
- Sempre ou quase sempre
- Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- Nunca ou quase nunca

12. Durante as últimas 4 semanas, na atividade sexual ou quando sexualmente estimulada, qual foi o grau de dificuldade para atingir o orgasmo (clímax)?

- Sem atividade sexual
- Extremamente difícil ou impossível
- Muito difícil
- Difícil
- Pouco Difícil
- Nada Difícil

13. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de satisfação com sua habilidade de chegar ao orgasmo (clímax) durante a atividade sexual?

- Sem atividade sexual
- Muito satisfeita
- Moderadamente satisfeita
- Indiferente
- Moderadamente insatisfeita
- Muito insatisfeita

14. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de satisfação com a quantidade de envolvimento emocional entre você e seu parceiro durante a atividade sexual?

- Sem atividade sexual
- Muito satisfeita
- Moderadamente satisfeita
- Indiferente
- Moderadamente insatisfeita

Muito insatisfeita

15. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de satisfação na relação sexual com seu parceiro?

- Muito satisfeita
- Moderadamente satisfeita
- Indiferente
- Moderadamente insatisfeita
- Muito insatisfeita

16. Durante as últimas 4 semanas, de forma geral, qual foi o grau de satisfação com sua vida sexual?

- Muito satisfeita
- Moderadamente satisfeita
- Indiferente
- Moderadamente insatisfeita
- Muito insatisfeita

17. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você sentiu desconforto ou dor durante a penetração vaginal?

- Não houve tentativa de penetração
- Sempre ou quase sempre
- Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- Nunca ou quase nunca

18. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você sentiu desconforto ou dor após a penetração vaginal?

- Não houve tentativa de penetração
- Sempre ou quase sempre
- Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- Nunca ou quase nunca

19. Durante as últimas 4 semanas, como você classificaria seu grau (nível) de desconforto ou dor durante ou após a penetração vaginal?

- Não houve tentativa de penetração
- Altíssimo
- Alto
- Moderado
- Baixo
- Baixíssimo ou nenhum

ESCORE DAS RESPOSTAS PARA CADA QUESTÃO DO INSTRUMENTO

1. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você sentiu desejo ou interesse sexual?

- (5) Sempre ou quase sempre
- (4) Muitas vezes (mais da metade do tempo)

- (3) Às vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- (2) Poucas vezes (menos do que a metade do tempo)
- (1) Nunca ou quase nunca

2. Durante as últimas 4 semanas, como você classificaria seu nível (grau) de desejo ou interesse sexual?

- (5) Muito alto
- (4) Alto
- (3) Moderado
- (2) Baixo
- (1) Muito baixo ou nenhum

A excitação sexual é uma sensação com aspectos físicos e mentais. Pode aparecer uma sensação de calor ou de vibração na genitália, lubrificação (umidade), ou contrações musculares.

3. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você se sentiu excitada durante o ato ou atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Sempre ou quase sempre
- (4) Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- (3) Algumas vezes (metade das vezes)
- (2) Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- (1) Nunca ou quase nunca

4. Durante as últimas 4 semanas, como você classificaria seu nível (grau) de excitação sexual durante a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Muito alto
- (4) Alto
- (3) Moderado
- (2) Baixo
- (1) Muito baixo ou nenhum

5. Durante as últimas 4 semanas, qual foi seu grau de confiança sobre sentir-se excitada durante a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Altíssima confiança
- (4) Alta confiança
- (3) Moderada confiança
- (2) Baixa confiança
- (1) Baixíssima ou nenhuma confiança

6. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você ficou satisfeita com seu nível (grau) de excitação durante a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Sempre ou quase sempre
- (4) Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- (3) Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- (2) Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- (1) Nunca ou quase nunca

7. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você ficou lubrificada ("molhada") durante a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Sempre ou quase sempre
- (4) Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- (3) Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- (2) Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- (1) Nunca ou quase nunca

8. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de dificuldade para ficar lubrificada ("molhada") durante a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (1) Extremamente difícil ou impossível
- (2) Muito difícil
- (3) Difícil
- (4) Pouco difícil
- (5) Nada difícil

9. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você manteve sua lubrificação até o final da atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Sempre ou quase sempre
- (4) Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- (3) Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- (2) Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- (1) Nunca ou quase nunca

10. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de dificuldade para manter sua lubrificação até terminar a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (1) Extremamente difícil ou impossível
- (2) Muito difícil
- (3) Difícil
- (4) Pouco Difícil
- (5) Nada Difícil

11. Durante as últimas 4 semanas, na atividade sexual ou quando sexualmente estimulada, com que frequência você atingiu o orgasmo (clímax)?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Sempre ou quase sempre
- (4) Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- (3) Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- (2) Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- (1) Nunca ou quase nunca

12. Durante as últimas 4 semanas, na atividade sexual ou quando sexualmente estimulada, qual foi o grau de dificuldade para atingir o orgasmo (clímax)?

- (0) Sem atividade sexual
- (1) Extremamente difícil ou impossível

- (2) Muito difícil
- (3) Difícil
- (4) Pouco Difícil
- (5) Nada Difícil

13. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de satisfação com sua habilidade de chegar ao orgasmo (clímax) durante a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Muito satisfeita
- (4) Moderadamente satisfeita
- (3) Indiferente
- (2) Moderadamente insatisfeita
- (1) Muito insatisfeita

14. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de satisfação com a quantidade de envolvimento emocional entre você e seu parceiro durante a atividade sexual?

- (0) Sem atividade sexual
- (5) Muito satisfeita
- (4) Moderadamente satisfeita
- (3) Indiferente
- (2) Moderadamente insatisfeita
- (1) Muito insatisfeita

15. Durante as últimas 4 semanas, qual foi o grau de satisfação na relação sexual com seu parceiro?

- (5) Muito satisfeita
- (4) Moderadamente satisfeita
- (3) Indiferente
- (2) Moderadamente insatisfeita
- (1) Muito insatisfeita

16. Durante as últimas 4 semanas, de forma geral, qual foi o grau de satisfação com sua vida sexual?

- (5) Muito satisfeita
- (4) Moderadamente satisfeita
- (3) Indiferente
- (2) Moderadamente insatisfeita
- (1) Muito insatisfeita

17. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você sentiu desconforto ou dor durante a penetração vaginal?

- (0) Não houve tentativa de penetração
- (1) Sempre ou quase sempre
- (2) Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- (3) Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- (4) Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- (5) Nunca ou quase nunca

18. Durante as últimas 4 semanas, com que frequência você sentiu desconforto ou dor após a penetração vaginal?

- (0) Não houve tentativa de penetração
- (1) Sempre ou quase sempre
- (2) Muitas vezes (mais da metade do tempo)
- (3) Algumas vezes (aproximadamente a metade do tempo)
- (4) Poucas vezes (menos da metade do tempo)
- (5) Nunca ou quase nunca

19. Durante as últimas 4 semanas, como você classificaria seu grau (nível) de desconforto ou dor durante ou após a penetração vaginal?

- (0) Não houve tentativa de penetração
- (1) Altíssimo
- (2) Alto
- (3) Moderado
- (4) Baixo
- (5) Baixíssimo ou nenhum

Cálculo dos Escores

Domínio	Questões	Variação do escore	Fator de multiplicação	Escore mínimo	Escore máximo
Desejo	1, 2	1-5	0,6	1,2	6
Excitação	3, 4, 5, 6	0-5	0,3	0	6
Lubrificação	7, 8, 9, 10	0-5	0,3	0	6
Orgasmo	11, 12, 13	0-5	0,4	0	6
Satisfação	14, 15, 16	0(ou1)-5*	0,4	0,8	6
Dispaurenia	17, 18, 19	0-5	0,4	0	6
Escore Total				2,0	36

*Questão 14 varia de 0,0 a 5,0. Questões 15 e 16 variam de 1,0 a 5,0

ANEXO B - Parecer consubstanciado do CEP

Página 01 de 04

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA****Título da Pesquisa:** Associação entre infecção pelo HTLV-1 e disfunção sexual em mulheres**Pesquisador:** Bernardo Galvão Castro Filho**Área Temática:****Versão:** 2**CAAE:** 33098414.4.0000.5544**Instituição Proponente:** Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências**Patrocinador Principal:** Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências - FUNDECI**DADOS DO PARECER****Número do Parecer:**

803.974

Data da Relatoria:

27/08/2014

Apresentação do Projeto:

O Vírus Linfotrópico Humano de Células T do tipo 1 (HTLV-1) infecta cerca de 15 a 20 milhões de pessoas em todo o mundo. No Brasil, Salvador é a cidade que apresenta a maior prevalência desta infecção, atingindo cerca de 9% das mulheres acima de 50 anos. A transmissão sexual é uma das principais vias de transmissão do vírus. O HTLV-1 é o agente etiológico da leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL), da mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP), da uveíte associada ao HTLV-1 (HAU) e da dermatite infecciosa (DIH). Existem relatos de uma associação entre Síndrome de Sjögren/Ceratoconjuntivite seca infecção pelo HTLV-1. Além disso, disfunção Erétil (DE) está amplamente relatada em portadores de HTLV-1, porém em mulheres infectadas pelo HTLV-1, não existem estudos sobre disfunção sexual (DS), ou a prevalência de vagina seca.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

1) Determinar a associação entre infecção pelo HTLV-1 e disfunção sexual em mulheres.

Objetivo Secundário:

- 1) Determinar a prevalência e os tipos de disfunção sexual;
- 2) Determinar a carga proviral, citocinas pró-inflamatórias e microflora na secreção vaginal;

3) Estudar o perfil clínico e laboratorial na DS e o papel da infecção pelo HTLV nesse fenômeno.



Página 02 de 04

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Segundo o Pesquisador Responsável não haverá riscos determinados pois as entrevistas e exames serão feitos por profissional médico com especialidade na área da pesquisa.

Benefícios:

Apontam os benefícios diretos relacionados ao diagnóstico e acompanhamento dos casos positivos e orientações a todas as participantes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será realizado estudo observacional - transversal descritivo e analítico, cuja variável desfecho é a Disfunção Sexual e a exposição ter ou não diagnóstico de HTLV-1.

Critérios de inclusão:

Diagnóstico de HTLV-1, idade entre 20 e 50 anos; Vida sexual ativa nas últimas quatro semanas; Concordem em participar do estudo e assinem o TCLE.

Critérios de Exclusão: Pacientes em uso de drogas que sabidamente causam DS; Pacientes submetidas a cirurgias mutiladoras em vagina e ovário; Pacientes submetidos à radiação para tratamento de câncer; Pacientes climatéricas.

Local do estudo e população: As pacientes serão atendidas no Centro Integrativo e Multidisciplinar de Atendimento ao Portador de HTLV (CHTLV) do Ambulatório Docente Assistencial (ADAB) da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP).

O ambulatório possui uma equipe multidisciplinar formada por médicos, psicólogos, fisioterapeutas, urologistas, neurologistas, enfermeiros e técnicos, sob a coordenação do pesquisador Prof. Dr. Bernardo Galvão. As pacientes de controle serão atendidas no ambulatório de Ginecologia do ADAB, que atende aproximadamente 400 mulheres por mês distribuídas em 10 turnos por semana. Neste caso o número de participantes estimado será de 103 mulheres com diagnóstico de HTLV-1, após correções. Serão selecionadas igualmente 103 mulheres não infectadas (controles) no ambulatório de Ginecologia do ADAB. Após convite para participar do estudo, as pacientes assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Será aplicado um questionário para coleta de dados sócio demográficos. A disfunção sexual será avaliada mediante a aplicação, pela pesquisadora, do questionário Female Sexual Function Index (FSFI), validado no Brasil. O FSFI contém 19 itens que avaliam 6 domínios: desejo sexual, excitação sexual, lubrificação vaginal, orgasmo, satisfação sexual e dispareunia nas últimas quatro semanas. O padrão de resposta



recebe pontuação de crescente de 0 a 5 (exceto nas questões sobre dor). O escore total é a soma de cada domínio multiplicado por um fator que homogeneiza a influência de cada um destes domínios. Valores 26 indicam disfunção sexual

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto: totalmente preenchida;

Cronograma: adequado;

Orçamento: adequado informando que a EBMSM será a financiadora;

TCLE: adequado;

Declaração de concordância da instituição: anexada.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sanadas as pendências anteriormente assinaladas no parecer consubstanciado datado de 11.08.2014 o projeto garante o atendimento aos princípios básicos da bioética para pesquisa com seres humanos preconizados pela Res. 466/12 do CNS: autonomia dos participantes, equidade, beneficência e não maleficência.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Atenção: o não cumprimento à Res. 466/12 do CNS abaixo transcrita implicará na impossibilidade de avaliação de novos projetos deste pesquisador. Tendo sido sanadas as pendências anteriormente assinaladas e, estando de acordo com a Res. 466/12 do CNS o projeto encontra-se exequível.

XI ¿ DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

XI.1 - A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

XI.2 - Cabe ao pesquisador: a) e b) (...)

c) desenvolver o projeto conforme delineado;



- d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final;
- e) apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento;
- f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;
- g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e
- h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados

SALVADOR, 24 de Setembro de 2014

**Assinado por:
Roseny Ferreira
(Coordenador)**