

# UFBA

Universidade Federal da Bahia  
Instituto de Ciências da Saúde

**MARTA SORAIA LIMA MENÊSES**



**FREQUÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS  
HUMANO ONCOGÊNICO EM MULHERES  
ATENDIDAS NO CENTRO DE  
ONCOLOGIADA BAHIA (2018/2019)**

**Salvador  
2021**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**Instituto de Ciências da Saúde**



**MARTA SORAIA LIMA MENÊSES**

**FREQUÊNCIA DO PAPILOMA VÍRUS HUMANO  
ONCOGÊNICO EM MULHERES ATENDIDAS  
NO CENTRO DE ONCOLOGIA DA BAHIA  
(2018 e 2019)**

**Salvador  
2021**

**MARTA SORAIA LIMA MENÊSES**

**FREQUÊNCIA DO PAPILOMA VÍRUS HUMANO  
ONCOGÊNICO EM MULHERES ATENDIDAS  
NO CENTRO DE ONCOLOGIA DA BAHIA  
(2018 e 2019)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para fins de obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientador: **Dr. Carlos Maurício Cardeal  
Mendes**

Coorientadora: **Dra. Maria Betânia Pereira  
Torales**

**Salvador  
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Meneses, Marta Soraia Lima.

Frequência do papiloma vírus humano oncogênico em mulheres atendidas no Centro de Oncologia da Bahia (2018 e 2019) / Marta Soraia Lima Meneses. - 2021.

78 f. :il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Maurício Cardeal Mendes.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Betânia Pereira Toralles.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2021.

1. Papiloma vírus. 2. Câncer de colo de útero. 3. Lesões intraepiteliais escamosas cervicais. 4. Neoplasia intraepitelial cervical grau III. 5. Reação em cadeia da polimerase. 6. Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz. I. Mendes, Carlos Maurício Cardeal. II. Toralles, Maria Betânia Pereira. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título.

CDD 616.99466 – 23. ed

ELABORADA POR MARIA AUXILIADORA DA SILVA LOPES - CRB-5/1524



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
Instituto de Ciências da Saúde



---

**TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO**

**MARTA SORAIA LIMA MENÊSES**

**FREQUÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO ONCOGÊNICO EM  
MULHERES ATENDIDAS NO CENTRO DE ONCOLOGIA DA BAHIA  
(2018/2019)**

**Salvador, Bahia. 18 de março de 2021.**

COMISSÃO EXAMINADORA:

DocuSigned by:

*Carlos Mauricio Cardeal Mendes*

2403E4F20FC0490...

---

PROF DR CARLOS MAURÍCIO CARDEAL MENDES (Examinador Interno)

DocuSigned by:

*Maria Betânia Pereira Toralles*

C362237C1E73465...

---

PROFA DRA MARIA BETÂNIA PEREIRA TORALLES (Examinadora Interna)

DocuSigned by:

*Adenilda Lima Lopes Martins*

1EB0EC216CB5454...

---

PROFA DRA ADENILDA LIMA LOPES MARTINS (Examinadora Externa)

*Dedico este trabalho a todos os pesquisadores da Saúde Coletiva do Brasil.*

## AGRADECIMENTOS

Gratidão sempre!

Primeiro, agradeço imensamente a DEUS pelo dom da vida, por estar sempre presente em minha vida, nas situações difíceis, me dando forças, e por permitir e me conduzir na realização deste propósito de vida.

Tenho gratidão ao Programa Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, por proporcionar um curso de pós-graduação *stricto sensu*, multidisciplinar, com a seleção dos melhores especialistas para ministrar os conteúdos e um alto padrão de qualidade.

Agradeço ao diretor do Programa, Prof.º Roberto Paulo Correia de Araújo, aos diretores do Instituto de Ciências da Saúde, do Centro Estadual de Oncologia e do Lacen, instituição esta para a qual tenho orgulho de prestar serviço laboratorial e de vigilância epidemiológica.

À coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Prof.ª Ana Caline de Nóbrega da Costa, pela efetividade na condução do curso até sua conclusão em momentos de pandemia.

Ao colega Fábio Santos, pelas informações prestadas sobre a rotina do PCR, no Lacen.

Agradeço também a Eterine Oliveira Abreu, coordenadora do Serviço de Prontuário do Paciente (SPP) do Centro Estadual de Oncologia, por sua atenção e dedicação com sua brilhante e eficiente equipe, pelo *feedback* das informações indispensáveis para alimentar os sistemas de informações sobre o câncer.

Pela disponibilidade do acesso ao CEPS, à Plataforma Brasil e ao sistema CAPS.

A toda equipe dedicada e eficiente da secretaria do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Marcelo, Célia, Anderson, Tarcísio e Carlos: obrigada pela prontidão, disponibilidade e resolutividade.

Agradeço a ajuda indispensável, estratégica e eficiente do exímio estatístico e presente orientador Prof.º Mauricio Cardeal, a quem sou muito grata por ter acreditado nesta pesquisa.

À querida coorientadora, Prof.ª Maria Betânia Toralles, pela ajuda por meio do seu conhecimento e domínio técnico sobre o tema; ela muito tem contribuído com a saúde pública e de qualidade, tanto clínica quanto laboratorial e científica na Bahia, por isso a admiro como

profissional, como pessoa e por me fazer ter perseverança e autocontrole para alcançar o objetivo.

Aos meus inesquecíveis avós, pais (*in memoriam*), tios e demais familiares, que ajudaram a tecer meu ser e caráter, a minha essência. A meus irmãos, Fábio e Márcia Meneses, por me mostrarem que sempre existe o outro lado da moeda, para seguir em frente; vocês me fizeram ver a vida de forma mais leve ao longo do curso. De modo especial, a meu irmão Válber Meneses, ilustre e humano cirurgião, em quem me espelho na vida, pelos conselhos e incentivo. À minha filha, Marta Caroline, a quem tenho amor incondicional, exemplo de filha e ser humano.

E, para finalizar, aos meus colegas da unida turma Zen do mestrado 2020; posso confessar que amei conhecer a cada um de vocês, com seu jeito especial de ser e agir.

Com muita prontidão e dedicação, dou luz a este estudo, abrindo portas e semeando novas esperanças para novos estudos que possam disseminar informações relevantes sobre decisões e direcionamentos na saúde pública.



“A esperança tem duas filhas lindas, a indignação e a coragem;  
a indignação nos ensina a não aceitar as coisas como estão;  
a coragem, a mudá-las.”  
(Santo Agostinho)

“Nenhum fenômeno pode ser estudado adequadamente  
de forma isolada; para ser bem entendido deve ser considerado em  
conexão com toda a natureza.”

(Sir Francis Bacon)

MENÊSES, Marta Soraia Lima. **Frequência do papiloma vírus humano em mulheres atendidas no Centro de Oncologia da Bahia (2018/2019)**. Orientador: Carlos Maurício Cardeal Mendes. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2021.

## RESUMO

A América Latina, assim como a maioria dos países em desenvolvimento, apresenta uma grande deficiência em relação aos diagnósticos laboratoriais e à realização de exames preventivos do câncer de colo de útero. Pesquisas relacionadas a urbanização, indústrias de alimentos, e novos hábitos alimentares, demonstram uma maior incidência de tumores malignos no colo do câncer de colo. Com uma incidência de 630 mil casos novos anuais, o câncer de colo de útero é o terceiro tipo de câncer mais comum entre as mulheres, apresentando uma mortalidade de 265 mil mulheres por ano. A carcinogênese cervical está intrinsecamente relacionada com o papiloma vírus humano (HPV). Durante a duplicação do DNA, relacionados aos Vírus HPV 16 e 18, os genes E6 e E7 juntam-se a proteínas celulares p53 e pRb, levando à inativação e ao descontrole do ciclo celular, podendo codificar proteínas que degradam seus produtos, resultando em novos erros tais como a exarcebação da proliferação celular. **Objetivo:** Estimar a frequência do papiloma vírus humano em mulheres que foram realizar exames no Centro de Oncologia da Bahia (CICAN) em 2018 e 2019. **Método:** Inquérito Epidemiológico Descritivo Seccional, no qual foi realizado o teste molecular para genotipagem do HPV de alto risco por meio da técnica de PCR, cujos resultados foram obtidos mediante consulta ao banco de dados — Sistema GAL — do LACEN/BA. De cada paciente, no total de 114 mulheres atendidas no CICAN/BA, com lesão intra-epitelial escamosa cervical de alto grau e/ou carcinoma epidermoide invasor do colo uterino, foram extraídos os resultados dos dados socio demográficos e exames de colpocitologia a partir de prontuários que foram alimentados e analisados posteriormente numa Ficha de Investigação Padrão em anexo. Realizou-se uma revisão de literatura a partir de publicações disponíveis em base de dados eletrônicas, como Science Direct; The Lancet Oncology; SciELO; Pubmed; Instituto Nacional do Câncer; Ministério da Saúde do Brasil; Globocan; no período de 1986 a 2020. **Resultados:** No presente estudo, 71% (81 mulheres) apresentaram-se positivas para os genes oncogênicos DNA/HPV, obtendo-se uma frequência global de HPV de 35,1%; destes 15% estão relacionados ao HPV 16 (13,2%) e 1,8 % ao HPV 18. **Conclusão:** A técnica para a rotina DNA/HPV por PCR na saúde coletiva mostrou uma maior acurácia com sensibilidade (90-100%) e especificidade (92,8 a 100%), o que indica a necessidade de implementação de medidas de prevenção e, indiretamente, de redução das taxas de morbidade e mortalidade por câncer de colo de útero.

**Palavras-chave:** HPV. JEC. Câncer de colo do útero. HSIL (NIC III). LACEN/BA. BM. PCR (DNA HPV).

MENÊSES, Marta Soraia Lima. **Frequency of human papillomavirus in women seen at the Oncology Center of Bahia (2018/2019)**. Thesis advisor: Carlos Maurício Cardeal Mendes. 78 s. Thesis (Master) - Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, 2021.

## ABSTRACT

**Introduction:** Latin America, like most developing countries, has a great deficiency in relation to laboratory diagnoses and the performance of preventive exams for cervical cancer. Research related to urbanization, food industries, and new eating habits, show a higher incidence of malignant tumors in the cervix. With an incidence of 630,000 new cases annually, cervical cancer is the third most common cancer among women, with a mortality rate of 265 thousand women per year. Cervical carcinogenesis is intrinsically related to human papillomavirus (HPV). During DNA duplication, related to HPV 16 and 18 viruses, E6 and E7 genes join with p53 and pRb cell proteins, leading to inactivation and uncontrolled cell cycle, being able to encode proteins that degrade their products, resulting in new errors such as the exacerbation of cell proliferation. **-Objective:** To estimate the frequency of human papillomavirus in women who underwent tests at the Oncology Center of Bahia (CICAN) in 2018 and 2019. **Method:** Sectional Descriptive Epidemiological Survey, in which the molecular test for high-risk HPV genotyping was performed using the PCR technique, the results of which were obtained by consulting the LACEN/BA database - GAL System. From each patient, a total of 114 women treated at CICAN/BA, with high-grade cervical squamous intraepithelial lesion and/or invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix, the results of the sócio demographics data and colpocytology exams were extracted from medical records which were fed and analyzed later in an attached Standard Investigation Form. A literature review was carried out based on publications available in electronic databases, such as Science Direct; The Lancet Oncology; SciELO; Pubmed; National Cancer Institute; Ministry of Health of Brazil; Globocan; in the period from 1986 to 2020. **Results:** In the present study, 71% (81 women) were positive for the oncogenic DNA/HPV genes, obtaining an overall HPV frequency of 35.1%; of these 15% are related to HPV 16 (13.2%) and 1.8% to HPV 18. **Conclusion:** Technique for the routine DNA/HPV by PCR in public health showed greater accuracy with sensitivity (90-100%) and specificity (92.8 to 100%), which indicates the need to implement preventive measures and, indirectly, to reduce cervical cancer morbidity and mortality rates.

**Keywords:** HPV. JEC. Cervical cancer. HSIL (NIC III). LACEN/BA. BM. PCR (DNA/HPV).

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AIDS** – Acquired Immunodeficiency Syndrome (Síndrome de Imunodeficiência Adquirida)
- CAPES** – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CDC** – Centers of Diseases Control and Prevention (Centro de Controle e Prevenção de Doenças)
- CEP** – Comitê de Ética em Pesquisa
- CICAN** – Centro de Oncologia da Bahia
- CT** – *Chlamydia Trachomatis*
- DATA SUS** – Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
- DST** – Doenças Sexualmente Transmissíveis
- EBV** – *Epstein Baar*
- ELISA** – Enzyme Lynked Imunosorbent Assay (Ensaio Imunoenzimático Indireto)
- GAL**- Gerenciador de Ambiente Laboratorial
- HBS** – *Hepatitis B vírus* (vírus da Hepatite B)
- HCV** – *Hepatitis C vírus* (vírus da Hepatite C)
- HIV** – Human immunodeficiency virus (vírus da imunodeficiência humana)
- HPV** – Human papillomavirus (Papiloma vírus humano)
- HSV** – *Herpes vírus*
- HTLV I/II** – Human T-lymphotropic virus Type I/II (Vírus linfotrófico T humano Tipo I/II)
- ICS** – Instituto de Ciências da Saúde
- IST** – Infecções Sexualmente Transmissíveis
- JEC** (zona de transformação do colo do câncer de colo)
- LACEN** – Laboratório Central de Saúde Pública Professor Gonçalo Moniz
- MS** – Ministério da Saúde
- NG** – *Neisseria gonorrhoeae*
- OMS** – Organização Mundial da Saúde
- PCR** – Reação em Cadeia de Polimerase
- SUS** – Sistema Único de Saúde
- UFBA** – Universidade Federal da Bahia
- ZT**- Zona de Transformação
- WHO** – World Health Organization

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1</b> – Representação esquemática do genoma do HPV 16 L (Late) –.....	29
<b>Tabela 1</b> - Perfil sociodemográfico das mulheres diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018/2019.....	50
<b>Tabela 2</b> - Frequência de mulheres com HPV oncogênico no colo do útero diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018/2019.....	50
<b>Tabela 3</b> – Classificação da citologia das mulheres diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.....	51
<b>Tabela 4</b> – Colposcopia das mulheres diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.....	51
<b>Tabela 5</b> – Distribuição do perfil sociodemográfico das mulheres diagnosticadas com NIC II, de acordo com a frequência de HPV oncogênico no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.....	52
<b>Tabela 6</b> – Comparação absoluta da frequência da positividade e negatividade oriundas da citologia em relação à frequência da positividade e negatividade do PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.....	53
<b>Tabela 7</b> – Indicadores de acurácia da citologia NIC II e NIC III em relação ao PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.....	53
<b>Tabela 8</b> – Comparação absoluta da frequência da positividade e negatividade detectadas por colposcopia em relação à frequência da positividade e negatividade do PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018/2019.....	54
<b>Tabela 9</b> – Acurácia da colposcopia ZT II, ZT III e ZTA em relação ao PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.....	54

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2 OBJETIVOS</b>	17
2.1 OBJETIVO PRIMÁRIO	17
2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	17
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	18
3.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DO COLO DE ÚTERO	18
3.2 TIPOLOGIA	23
3.3 LATÊNCIA DO HPV	25
3.4 ETIOLOGIA DAS LESÕES DE ALTO GRAU	25
3.5 PRECURSORES DE LESÃO DE ALTO GRAU	26
3.6 ESTRUTURA DO GENOMA HPV-16: AS PROTEÍNAS VIRAIS	29
3.7 CICLOBIOLÓGICO DO HPV	31
3.8 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE HPV	34
3.9 SINERGISMO DO HPV	43
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	46
4.1 DESENHO DO ESTUDO	46
4.1.1 Critérios de inclusão	46
4.1.2 Critérios de exclusão	46
4.1.3 Dados sociodemográficos	46
<b>5 LOCAL /PERÍODO</b>	47
<b>6 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	48
6.1 PLANO AMOSTRAL	48
6.1.1 Amostra	48
<b>7 RESULTADOS</b>	50
<b>8 DISCUSSÃO</b>	55
<b>9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO</b>	62
<b>10 CONCLUSÃO</b>	63
<b>REFERÊNCIAS</b>	64
<b>APÊNDICE-FICHA DE INVESTIGAÇÃO</b>	74
<b>ANEXO A- TIPOLOGIA DO CÂNCER DE COLO DO ÚTERO</b>	75
<b>ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>	76

## 1 INTRODUÇÃO

O papiloma vírus humano (HPV) de alto risco oncogênico é responsável, anualmente, por cerca de 630 mil casos de câncer em todo o mundo (4,5% de todos os casos).

<sup>1</sup> O câncer de colo de útero é o terceiro tipo de câncer mais comum entre as mulheres e é responsável pelo óbito de 265 mil mulheres por ano. <sup>1</sup> Por outro lado, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), ao mencionar a metanálise realizada por De Sanjosé et al., em 2007, estimou que 291 milhões de mulheres no mundo seriam portadoras do HPV, das quais 32% estavam infectadas pelos subtipos 16, 18 ou ambos. <sup>(5)</sup>

No Brasil, em 2020, o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estimou 16.590 casos novos de câncer de colo de útero, e um risco de 12,6 casos a cada 100 mil mulheres. Esse tipo de neoplasia é responsável por 311 mil óbitos por ano, a quarta causa mais frequente de morte por câncer em mulheres. <sup>(2)</sup>

A taxa ajustada de incidência de neoplasia maligna do corpo do câncer de colo por 100 mil mulheres para o ano de 2020 na Bahia é de 5,10 casos, enquanto a taxa bruta é de 5,70 casos. <sup>(2)</sup> Em 2017, ocorreram 6.385 óbitos por esse tipo de neoplasia, representando uma taxa ajustada de mortalidade de 5,14/100 mil mulheres. <sup>1</sup>

O HPV mantém um estreito relacionamento com a carcinogênese cervical. <sup>3</sup> O câncer de colo de útero é raro em mulheres até 30 anos e o pico de sua incidência abrange a faixa etária de 45 a 50 anos. <sup>(3)</sup> A mortalidade aumenta progressivamente a partir da quarta década de vida, com expressivas diferenças regionais. <sup>(4)</sup>

No estudo de corte transversal onde foram analisados dados de 38 países no mundo, foram analisadas 10.575 mulheres com câncer cervical invasivo. A pesquisa encontrou 8.977 (85%) casos positivos para HPV DNA. Os subtipos 16 e 18 do HPV contribuíram com uma frequência de 8.196 (71%) dos 8.977 casos positivos. <sup>(6)</sup>

Os subtipos oncogênicos do HPV, especialmente o HPV 16 e o HPV 18, são responsáveis por cerca de 70% dos cânceres cervicais<sup>1</sup>. O HPV 16 é considerado o mais carcinogênico, responsável por 55% a 60% de todos os casos de câncer cervical <sup>(7)</sup> Os HPVs 16, 18, 31, 33 e 45 são os subtipos mais prevalentes encontrados no câncer cervical e glandulares (adenocarcinomas), mas o HPV 18 é o que causa o câncer em maior proporção, isto é, está presente em de 10 a 15% dos casos glandulares. <sup>(8)</sup>

No início dos anos de 1980, com o advento da pesquisa molecular e a clonagem de genomas do HPV, surgiu a oportunidade de estudar genes virais individuais. No entanto, somente no final dos anos de 1990 a propagação de vírus por culturas organotípicas possibilitou as primeiras tentativas de genética viral. <sup>(9)</sup>

Existem mais de 118 tipos diferentes de HPV, sendo que destes 40 tipos têm potencial para infectar a mucosa ano-genital de humanos, entretanto apenas um subconjunto de 13 a 18 desses tipos é considerado de alto risco para o desenvolvimento do ccervical e respectivas lesões precursoras, em particular, os HPVs 16 e 18, que promovem a interrupção do controle normal do ciclo celular e contribuem para o desenvolvimento da malignidade. <sup>(10)</sup> Segundo a nomenclatura de HPVs eles foram classificados: - Lesão Intraepitelial Escamosa Alto Grau (HSIL) e Lesão Intraepitelial Escamosa Baixo Grau (LSIL), como acontece nos tumores do Colo do Câncer de colo, onde podem ser frequentemente ou raramente encontrados. Os HPV (LSIL) geralmente estão associados a cânceres anogenitais e orofaríngeos, podendo também está presente no câncer em pacientes de epidermo displasia verruciforme (EV).<sup>(11)</sup>

A infecção do HPV na maioria das vezes assintomática é frequentemente eliminada de forma espontânea em mais de 90% dos casos; estima-se que em até 75% de todas as mulheres expostas ao vírus, a infecção é erradicada no período de 6 a 24 meses. <sup>(11,12)</sup>

A relação causal entre o HPV e o câncer de colo de útero, juntamente com a epidemiologia e a história natural da infecção pelo HPV, levou a um novo modelo de carcinogênese cervical: a infecção pelo HPV, seguida da sua persistência, ocasiona a progressão para pré-câncer e, conseqüentemente, invasão. O período de 1 a 2 anos de persistência do vírus HPV, destacadamente o HPV 16, prediz fortemente NICIII ou diagnósticos mais severos (NICIII+) nos anos subsequentes (20 a 30% de risco de NICIII+ no intervalo de 5 com 2 anos de persistência HPV16).<sup>(11,12)</sup> A detecção do HPV DNA por reação em cadeia de polimerase (PCR), por ser uma técnica mais sensível e de maior acurácia, detecta o diagnóstico mais precoce de lesões de alto risco em mulheres de 30 anos ou mais, com citologia negativa para lesão intra-epitelial e malignidade (NILM). <sup>(13)</sup>

Devido à conhecida associação entre HPV oncogênico e câncer de colo e diante da frequência dos casos de mulheres com lesão de alto grau decorrente do vírus, surgiu a oportunidade de realizar um inquérito epidemiológico no Centro de Oncologia da Bahia (CICAN) com o objetivo de estimar a frequência de HPV oncogênico em mulheres, assim



como o grau de concordância entre os métodos diagnósticos: citologia, colposcopia e biologia molecular para HPV, considerando-se o PCR como padrão-ouro.

A presente pesquisa, portanto, foi realizada com a permissão de acesso ao banco de dados do Laboratório Central da Bahia (LACEN), o Sistema GAL (Gerenciador de Ambiente Laboratorial), onde se encontra os dados do diagnóstico de rotina *Amplification/detection HPV DNA* por PCR, recentemente implantado, e os prontuários de pacientes com a patologia para obtenção dos dados de colpocitologia.

## 2 OBJETIVOS

Observar a frequência do papiloma vírus humano em mulheres com câncer de colo.

### 2.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Estimar a frequência do papiloma vírus humano em mulheres que realizaram exames no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 e 2019.

### 2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- (1) Descrever o perfil sociodemográfico das mulheres atendidas no CICAN/BA que foram submetidas ao método diagnóstico HPV DNA PCR NO LACEN/BA.
- (2) Comparar o perfil sociodemográfico entre as mulheres positivas e negativas.
- (3) Avaliar a acurácia da citologia e da colposcopia no diagnóstico do HPV em relação à biologia molecular por meio da técnica HPV DNA PCR.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DE COLO ÚTERO

A América Latina, assim como a maioria dos países em desenvolvimento, apresenta uma grande deficiência em relação aos diagnósticos laboratoriais e à realização de exames preventivos do câncer de colo de útero. Pesquisas relacionadas a urbanização, indústrias de alimentos, e novos hábitos alimentares, demonstram uma maior incidência de tumores malignos no colo do útero. Com aproximadamente 630 mil casos novos por ano no mundo, o câncer de colo de útero é o terceiro tipo de câncer mais comum entre as mulheres e é responsável pelo óbito de 265 mil mulheres por ano.<sup>1</sup>, Comparando-se esses dados com a incidência anual de aproximadamente 630 mil casos de câncer de colo<sup>(1)</sup>, conclui-se que o câncer é um desfecho raro, mesmo na presença da infecção pelo HPV. Ou seja, a infecção pelo HPV é um fator importante para o desenvolvimento do câncer de colo de útero.<sup>1</sup> Esses vírus são responsáveis pela ocorrência de todos os casos de câncer cervical, 88% de câncer anal, 24,9% de câncer vulvar, 78% de câncer de vagina, 30,8% de câncer orofaríngeo, 2,2% de câncer da cavidade oral, 2,4% de câncer de laringe e 50% de câncer de pênis.<sup>1</sup>

No Brasil em 2020, o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estimou 16.590 casos novos de câncer de colo de útero, e um risco de 12,6 casos a cada 100 mil mulheres.<sup>2</sup> É a terceira localização primária de incidência e de mortalidade por câncer em mulheres no país, sem considerar tumores de pele não melanoma.<sup>2</sup> Esse tipo de neoplasia é responsável por 311 mil óbitos por ano, a quarta causa mais frequente de morte por câncer em mulheres.<sup>3</sup>

Em países da América do Sul com desenvolvimento mais acelerado, observou-se um declínio na mortalidade por câncer de colo de útero, com estimativas de mudança percentual anual variando de -1,4 a -6,3 entre 1983 e 2002.<sup>3</sup>

Essa tendência ocorre em países com renda média mais elevada, como Argentina e Uruguai, em países com histórico de implementação do rastreamento com maior organização, como México, Colômbia, Chile e Costa Rica, onde as taxas de mortalidade foram reduzidas quase à metade, ocasionando uma inversão na razão câncer *in situ*/invasivo<sup>(4)</sup>

Países europeus, Estados Unidos, Canadá, Japão e Austrália apresentam as menores taxas, enquanto países da América Latina e, sobretudo regiões mais pobres da África apresentam valores bastante elevados. Segundo o Globocan, 85% dos casos de câncer de colo

de útero ocorrem nos países menos desenvolvidos e a mortalidade decorrente desse câncer varia em até 18 vezes entre as diferentes regiões do mundo, com taxas de menos de 2 por 100 mil mulheres, na Ásia Ocidental, e de 27,6, na África oriental. <sup>(2)</sup>

As taxas de incidência estimadas e de mortalidade no Brasil apresentam valores intermediários em relação aos países em desenvolvimento, porém são elevadas quando comparadas às de países desenvolvidos, em termos de programas de detecção precoce bem estruturados.<sup>(1)</sup> A distribuição de novos casos, de acordo com a localização primária, é bem heterogênea entre os estados e capitais brasileiras. <sup>(2)</sup> No Brasil, em uma análise regional, observou-se que o câncer de colo de útero é o segundo mais incidente nas regiões Norte (26,24/100 mil), Nordeste (16,10/100 mil) e Centro-Oeste (12,35/100 mil). Na região Sul (17,48/100 mil), ocupa a quarta posição e, na região Sudeste (12,01/100 mil), a quinta posição. <sup>(2)</sup>

Em relação à mortalidade, a região Norte apresenta as maiores taxas do país; a única região que revela nítida tendência temporal de crescimento. Em 2017, a taxa padronizada pela população mundial foi de 12,24 mortes por 100 mil mulheres, representando a primeira causa de óbito por câncer feminino nessa região. <sup>(1)</sup> As regiões Nordeste, com taxa de mortalidade de 6,49/100 mil, foi a terceira causa, e Centro-Oeste, a quarta causa, com taxa de 5,33/100 mil. As regiões Sul e Sudeste tiveram as menores taxas (4,82/100 mil e 3,64/100 mil), representando a quinta e sexta posições, respectivamente, entre os óbitos por câncer em mulheres. <sup>(3)</sup>

No Brasil, em 2017, ocorreram 6.385 óbitos por câncer de colo de útero, representando uma taxa ajustada de mortalidade de 5,14/100 mil mulheres. <sup>(3)</sup> Observou-se um declínio global das taxas de mortalidade por câncer de colo de útero nas últimas décadas, porém de forma heterogênea nas distintas macrorregiões (mudança percentual anual variando de -3,3 a 1,7, mostrando um sucesso parcial).<sup>(3)</sup>

Em 2013, essa neoplasia representou a quarta causa de morte por câncer em mulheres com 5.430 óbitos, o que representa uma taxa de mortalidade ajustada para a população mundial de 4,86 óbitos para cada 100 mil mulheres. <sup>(4)</sup>

Em 2007, aproximadamente 291 milhões de mulheres no mundo eram portadoras do HPV, das quais 32% estavam infectadas pelos subtipos 16, 18 ou ambos. <sup>(5)</sup> Em um estudo de corte transversal, em 38 países no mundo, ao analisarem dados da pesquisa, onde foram

estudadas 10.575 mulheres com câncer cervical invasivo, foram encontrados 8.977 (85%) casos positivos para HPV DNA, em que os subtipos 16 e 18 do HPV contribuíram com uma frequência de 8.196 (71%) dos 8.977 casos positivos. <sup>(6)</sup>

O HPV 16 é considerado o mais carcinogênico, responsável por 55% a 60% de todos os casos de câncer cervical. <sup>(7)</sup> Os HPVs 16, 18, 31, 33 e 45 são os subtipos mais prevalentes encontrados no câncer cervical, já o HPV 18 é o que causa o câncer em maior proporção, isto é, está presente em de 10 a 15% dos casos glandulares (adenocarcinomas). <sup>(8)</sup>

Desde o início dos anos 1980, as técnicas de biologia molecular vêm contribuindo para o conhecimento da infecção genital pelo HPV em diferentes cenários e têm sido utilizadas em pesquisas científicas, porém só mais recentemente foram incorporadas aos serviços de saúde. Com o surgimento da pesquisa molecular e a clonagem de genomas do HPV, possibilitou o estudo de genes virais individuais. <sup>(9)</sup>

“A infecção pelo HPV 16, seguida da sua persistência no período de um a dois anos, gerou um novo modelo de carcinogênese cervical, podendo provocar uma ação sinérgica de NIC III para (NIC III+), em mulheres com NILM, e ocasionar a progressão para pré-câncer e, conseqüentemente, invasão” Estima-se que 75% das mulheres sexualmente ativas irão adquiri-la ao longo de suas vidas. <sup>(11, 12,94)</sup>

A detecção do HPV DNA por reação em cadeia de polimerase (PCR), por ser uma técnica mais sensível e de maior acurácia, realiza o diagnóstico mais precoce de lesões de alto risco em mulheres de 30 anos ou mais, com citologia negativa para lesão intra-epitelial e malignidade (NILM). <sup>(13)</sup>

Em um estudo realizado em 2002, ficou demonstrado que mulheres com infecção por HPV têm 19 vezes mais risco para desenvolver câncer de colo do que mulheres com ausência da infecção; e as que têm os tipos oncogênicos HPV 18, 31 ou 33 correm um risco 50 vezes maior, em comparação com aquelas não infectadas por esses genes; e se for considerado o HPV 16, esse risco aumenta em 100 vezes. <sup>(14)</sup> Ainda no ano de 2002, ficou constatada uma frequência de 16% de HPV em mulheres, utilizando a técnica do PCR HPV DNA. <sup>(15)</sup>

Na prevalência mundial, por meio de uma metanálise realizada na Europa, a partir de dados provenientes dos cinco continentes, verificou-se em amostras de mulheres com citologias normais uma maior frequência do HPV **31**; o segundo genótipo mais comum foi o HPV **18**, porém com algumas variações geográficas. Na América do Norte, na África e na

Ásia, o HPV **52** foi o mais frequente. Já na América Latina, o HPV 58, apresentou maior frequência, e com uma incidência do HPV 16 em 22,5% das mulheres HIV positivas.<sup>(16)</sup>

Em âmbito nacional <sup>(17)</sup>, estudos descrevem o HPV **58** como o segundo mais frequente em Natal <sup>(17)</sup> e em Caxias do Sul <sup>(18)</sup>, enquanto no Rio de Janeiro o segundo mais observado foi o HPV **31** e, em Ouro Preto, o HP **61**.<sup>(19)</sup>

O referido estudo comparou a técnica PCR utilizando os pares de oligonucleotídeos MY09/MY11 e GP5/GP6 e a técnica Nested ( **n** PCR) com pares MY/GP aliados aos oligonucleotídeos MY09/MY11. O resultado obtido detectou 26,3% do DNA do HPV na técnica PCR para os casos de citologia esfoliativa com alterações patológicas, enquanto a Nested (**n** PCR) revelou uma capacidade de detecção 84,2% maior nesses espécimes.<sup>(20)</sup>

Ainda em comparação com PCR e **n** PCR <sup>(21)</sup>, a pesquisa encontrou um aumento de 38,8% na taxa de positividade para o DNA do HPV. Os autores, ao compararem a utilização de PCR simples e Nested- PCR na detecção de HPV em carcinoma epidermoide de lábio, observaram um aumento de mais de 6 vezes no número de casos de HPV pelo método de **n** PCR.<sup>(22)</sup>

Os relatos citados nesse estudo demonstram a evolução e o aprimoramento da técnica do PCR ao longo das últimas quatro décadas, seja com o aumento na temperatura ou mudança da enzima para DNA polimerase termoestável de *Thermococcus aquaticus* Taq DNA, sem necessidade de acréscimo de enzima a cada ciclo, seja com a reamplificação na região-alvo em outra técnica, além da junção de oligonucleotídeos, que amplificam para o gene da beta-globina e servem como controle interno da reação para avaliação da integridade e da suficiência de DNA de cada amostra para a amplificação.<sup>(9)</sup>

Michelli et al. (2011)<sup>(23)</sup>, em uma pesquisa com 100 amostras cervicais de mulheres sexualmente ativas, com o objetivo de comparar três métodos de detecção do DNA do HPV (PCR utilizando *primers* da região L1, PCR utilizando *primers* da região E6/E7 e captura híbrida), encontraram 40% das mulheres positivas em pelo menos umas das técnicas diagnósticas testadas.<sup>(24)</sup>

Os autores observaram que transcritos E6 e E7 de HPV de alto risco aumentavam a especificidade e sensibilidade dos testes de *screening* (Papanicolau e HPV DNA), indicando as lesões com maior chance de progressão do câncer.<sup>(24)</sup>

Deve-se incentivar a criação de fontes e métodos utilizados para compilar dados de incidência e estimativas de mortalidade por regiões e capitais brasileiras, em centros de

referência e em unidades básicas para os principais cânceres. Existem publicações esparsas com resultados diferentes, muitas vezes subnotificadas. <sup>(25)</sup>

Os dados de incidência são derivados do Registro de Câncer por Base Populacional (RCBP), que faz a cobertura das áreas urbanas, particularmente nos países em desenvolvimento, o que, no entanto, torna as outras regiões subestimadas. <sup>(25)</sup>

Ressalta-se a necessidade de que a apuração desses dados seja feita com veracidade, qualidade e que represente a realidade das taxas brutas, ajustadas e específicas (sexo, idade e outros), criando documentação e publicações com base nos métodos utilizados, com apresentação dos resultados globais, gráficos e tabulações, além de estimativas que visem a fornecer evidências que irão nortear os gestores no desenvolvimento de recursos prioritários e estratégias contingentes, sobretudo que venham a mitigar a morbidade do HPV e reduzir o ônus do câncer em todas as regiões brasileiras.

Na prevalência mundial, o HPV **18** foi o segundo genótipo mais comum, porém com algumas variações geográficas, fato evidenciado no artigo realizado por Eluf Neto et al. (1994), no qual a prevalência encontrada foi de 50,0% para HPV de alto risco (HPV **18**), conforme o resultado da citologia, incluindo mulheres com citologia inalterada. Já na população de mulheres com lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL), houve uma grande diminuição da prevalência do HPV **6** em mulheres com citologia normal (0,5%) e prevalência de HPV de **múltiplos tipos** (6,3%), com variação de 0,5% (HPV**18**) a 5,3% (HPV**16**). <sup>(26)</sup>

O estudo de Krambeck et al. (2008)<sup>(27)</sup> estimou prevalências de HPV de baixo risco em 2,0% (HPV **6** e HPV **54**) e de 4,0% (HPV **72**). Para as mulheres com LSIL, a prevalência de HPV de baixo risco foi de 4,5% (HPV **11**, HPV **62** e HPV **81**), assim como para os HPV de alto risco (HPV **45**, HPV **52** e HPV **66**). Nas mulheres com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL), a prevalência foi de 67,0% (HPV **16**). <sup>(27)</sup>

Ribeiro et al. (2011)<sup>(28)</sup>, em Goiânia-GO, demonstraram que a prevalência do HPV **16** foi de 52% (40/76) nas neoplasias intra-epiteliais cervicais de alto grau (NIC II/III) e de 88,8% (8/9) nos casos de carcinomas invasivos. Observou-se que do total de mulheres HPV positivas, 45% (77/171) estavam infectadas por HPV 16 em infecções simples e múltiplas, considerando que os tipos HPV **31** e **35** foram, respectivamente, o segundo e o terceiro mais prevalentes; e 10,5% (8/76) e 6,6% (5/76), respectivamente, nos casos de neoplasias intra-epiteliais cervicais de alto grau (NIC II/III). <sup>(28)</sup>

Ao demonstrar a predominância dos fatores oncogênicos para HPV em um estudo de revisão na região Sudeste, o segundo tipo de HPV mais comum variou entre o **18**, **31** e **35**, a

depender da técnica utilizada.<sup>(29)</sup> Estudos nacionais registraram o perfil de prevalência da infecção por HPV, semelhante aos países subdesenvolvidos: 17,8% (31) a 27% (34), com uma prevalência mais elevada em mulheres na faixa etária abaixo de 35 anos; a partir dos 35 até 65 anos, as taxas permanecem de 12 a 15%.<sup>(30)</sup>

Em São Paulo, observou-se uma discreta redução na taxa de mortalidade por câncer de colo e, no Paraná, uma nítida diminuição, fato observado devido à introdução de um programa de rastreamento dessa doença por meio do aumento na cobertura do exame colpocitopatológico.<sup>(30)</sup>

No Rio Grande do Norte, em mulheres que apresentavam anormalidades citológicas, com displasia de baixo grau NIC I (neoplasia intraepitelial de grau I), a infecção pelo HPV estava presente em 62,5%; já em displasia moderada NIC II (neoplasia intraepitelial de grau II), em 75% e 82,6%, na displasia grave NIC III (neoplasia intraepitelial de grau III). O tipo mais prevalente foi o HPV **16**, seguido do HPV **58** e **18**.<sup>(30)</sup>

Um estudo realizado no Brasil, em 2008, mostrou que a prevalência de infecções por tipos de HPV de alto risco oncogênico foi de 27,1%, considerando mulheres com idade menor ou igual a 25 anos<sup>(31)</sup>.

No Brasil, o tipo HPV 16 é também o mais prevalente nos casos de carcinoma invasor e a presença de NIC III foi diagnosticada histologicamente em todas as regiões representadas nos estudos de prevalência<sup>(32)</sup>.

Em Campinas, um estudo indicou a prevalência total de HPV de 99%, incluindo 35,3% de infecções simples e 64,7% de infecções múltiplas em mulheres diagnosticadas com NIC II ou NIC III<sup>(33)</sup>.

### 3.2 TIPOLOGIA

A inserção do termo "neoplasia intraepitelial cervical" (NIC) para designar o espectro de doenças cervicais foi pensada para desempenhar um papel na carcinogênese cervical. O raciocínio por trás da terminologia da NIC começou com uma mudança contínua de displasia leve e terminou com câncer invasivo, isso depois de passar progressivamente por estágios intermediários da doença intraepitelial. O impacto clínico dessa nova terminologia é o fato de que as lesões precursoras presumidas passaram a ser tratadas com base em seu tamanho e localização.<sup>(34)</sup>



Na NIC I (displasia leve), as células epiteliais neoplásicas ocupam um terço inferior do epitélio; na NICII (displasia moderada), células epiteliais neoplásicas e figuras mitóticas ocupam os dois terços inferiores do epitélio; e em NIC III, figuras mitóticas e as células epiteliais neoplásicas podem ser encontradas ao longo de toda a espessura do epitélio. <sup>(34)</sup>

Na classificação das lesões NIC II, NIC III, incluem-se a displasia grave e o carcinoma *in situ*; em termos de tratamento, novas medidas foram tomadas em favor dos pacientes, muitas vezes mulheres ainda em fase reprodutiva, como para conservação do câncer de colo e a histerectomia, indicada apenas nos casos em que esses quadros da doença levam à progressão da neoplasia e à diminuição da expectativa de vida. <sup>(34)</sup>

À medida que os dados moleculares se acumulavam, tornou-se evidente que o espectro do epitélio atípico apresentou mudanças que ocorreram no trato genital feminino inferior e que estavam etiologicamente relacionadas ao HPV. A partir disso, a doença pode ser melhor descrita como de dois níveis, em vez de uma de três níveis, e a classificação NIC foi modificada de acordo com os autores. <sup>(35)</sup>

Por causa dos problemas causados por um grau extremamente baixo de intra e inter observador na reprodutibilidade dos diagnósticos citológicos, um grupo foi convocado em Bethesda, MD (EUA), para elaborar uma terminologia citológica uniforme. <sup>(35)</sup>

Essa nova nomenclatura, conhecida como Sistema Bethesda, introduziu os termos "lesão intraepitelial escamosa de baixo grau" (LSIL) e "lesão intraepitelial escamosa de alto grau" (HSIL). LSIL inclui NIC I ou displasia leve, coilocitose, atipias coilocitóticas e condiloma plano. HSIL inclui NICII e NIC III ou displasia moderada e grave e carcinoma *in situ*. <sup>(32)</sup> Para avaliar e atualizar a classificação de Bethesda 1991 para Bethesda 2001, o seguinte sistema foi estabelecido: a divisão dicotômica do SIL em LSIL e HSIL foi baseada em observações virológicas, moleculares e clínicas em que a LSIL é frequentemente resultado de uma infecção transitória por HPV, enquanto a HSIL é mais frequentemente associada à persistência viral e ao alto risco de progressão. LSIL inclui alterações que refletem principalmente a infecção pelo HPV, o que elimina a distinção entre atipia condilomatosa e NIC I, e a HSIL inclui lesões de alto grau, incluindo precursores do câncer. <sup>(34)</sup>

Além disso, interpretações ambíguas das células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) são mais comuns do que em lesões definitivas; aproximadamente metade dessas lesões está relacionada à infecção pelo HPV. Além disso, a HSIL é geralmente associada a tipos de HPV de alto grau; e é monoclonal e aneuplóide em contraste com a LSIL. <sup>(34)</sup>

### 3.3 LATÊNCIA DO HPV

Os genomas do HPV estão presentes nas camadas basais dos epitélios infectados, por isso é necessária sua diferenciação para a produção e replicação viral<sup>(29,96)</sup>

A latência do HPV pode ser definida como uma infecção silenciosa, na qual a replicação de DNA viral é sincronizada com o ciclo celular, embora nela não sejam detectados nenhum dos efeitos citopatogênicos ou não causem efeitos mínimos do HPV; portanto, é assintomática, com ausência de produção de novos viriões ou partículas virais, assim o HPV é mantido em baixo número de cópias, ficando a replicação viral dependente da replicação celular, ou seja, fica em um estado cujo DNA viral está presente, mas sem expressão viral até o surgimento de alguma lesão ou alteração morfológica do epitélio, o que pode durar em torno de 1 semana a 6 meses. Algumas mulheres apresentam lesões, isto é, saem desse estado de latência após 6 anos, mas sejam exceções.<sup>(29,96)</sup>

Embora não haja evidência direta de um HPV exclusivamente latente, em várias observações clínicas, a presença do DNA HPV sugere que isso pode ocorrer, mesmo diante de um epitélio cervical aparentemente normal<sup>(30)</sup>

Por outro lado, estudos demonstram que o risco para mulheres com HPV positivo de alto risco, cito morfologicamente com esfregaço normal, podem desenvolver um esfregaço anormal dentro de 2 anos ou NIC III dentro de 4 anos.<sup>(30)</sup>

### 3.4 ETIOLOGIA DAS LESÕES ALTO GRAU

Os agentes carcinogênicos que levam à neoplasia dividem-se em três grupos: químicos, físicos e biológicos.<sup>(35)</sup>

As exposições ao HPV podem ter etiologias diversas, por exemplo, a presença de outros vírus associados, tais como HIV, HCV, HTLV-1, Epstein Baar, herpes (HSV 1, HSV 2, HHV 8); bactérias como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea*; mudanças de comportamento, como início sexual precoce, vida sexual intensa, promiscuidade, vulnerabilidade; uso prolongado de hormônios esteroidais, tabagismo, multiparidade, baixa de imunidade e deficiências metabólicas de nutrientes (enzimas, proteínas, imunoglobulinas, vitaminas); falta de avaliação clínico-laboratorial e assiduidade ao exame preventivo, além da ausência de vacinação no período de 14 a 26 anos<sup>(35)</sup>. Estes são fatores sociodemográficos que favorecem o desenvolvimento do câncer cervical.

Vários países incluem no programa de *screening* populacional de risco para o HPV de alto risco os subtipos 16 e 18 com infecção persistente, por se encontrarem forte e frequentemente vinculados às alterações epiteliais escamosas e estarem diretamente associados ao câncer cervical. <sup>(36)</sup>

### 3.5 PRECURSORES DE LESÃO ALTO GRAU

Todos os HPVs — sigla, em inglês, para papiloma vírus humano (*human papilloma virus*) — partilham uma estrutura genética comum que é distinta da família *Papillomaviridae*. <sup>(37)</sup> Até o momento, cerca de 200 tipos de papiloma vírus foram identificados e agrupados em diferentes gêneros (Alpha-, Nu-/Mu-, Beta- e Gamma-papillomavirus), de acordo com sua estrutura genômica e tropismo. <sup>(38)</sup> O gênero Alpha inclui os genótipos que foram descritos como os principais causadores de câncer, enquanto as infecções pelos tipos virais pertencentes ao grupo Beta são geralmente assintomáticas, exceto em casos de imunossupressão, os quais podem aumentar a predisposição ao câncer. <sup>(38)</sup> A classificação em tipos e subtipos e variantes de um mesmo tipo depende da semelhança na sequência dos nucleotídeos. Isto foi possível graças ao desenvolvimento das técnicas de hibridização molecular. <sup>(39)</sup>

Quando existe menos do que 50% de semelhança com outros membros, define-se um novo tipo e se atribui um número na ordem de descoberta. Se a semelhança é maior do que 50%, caracteriza-se um subtipo, e se for próxima de 100%, considera-se uma variante do mesmo tipo. Logo, os papilomas vírus são genotipados e não sorotipados. <sup>(40,41)</sup>

Os HPVs são vírus que infectam epitélios e mucosas de grande parte dos vertebrados superiores (incluindo humanos) e induzem de maneira específica a proliferação celular. O DNA de seu genoma mede de 6,8 a 8,4 kb e codifica entre 8 e 10 ORFs (quadros de leitura aberta). <sup>(41)</sup>

A ORF pode ser dividida em três partes funcionais: a região precoce (E), que codifica as proteínas (E1-E7) necessárias para a replicação viral; o tardio (L), região que codifica as proteínas estruturais (L1-L2) necessárias para a montagem do vírion; e em grande parte, a região de controle longo (LCR), para não codificação, que contém elementos necessários para a replicação e transcrição do DNA viral. <sup>(41)</sup>

A replicação é o processo de duplicação de uma molécula de DNA de dupla cadeia (hélice) que deve acontecer antes da divisão celular. A replicação também pode ser reproduzida em laboratório por meio de um ensaio conhecido como PCR. <sup>(30)</sup>

Os mecanismos de verificação de erros, em nível celular, permitem que a replicação do DNA seja praticamente perfeita. As proteínas E6 e E7 têm como alvo um número de reguladores do ciclo celular, principalmente p105Rb e p53, respectivamente. <sup>(30)</sup>

Durante o ciclo viral, as proteínas E6 e E7 facilitam a manutenção estável dos epissomas virais e estimulam a diferenciação de células para reentrar na fase S (interfase) do ciclo celular. As proteínas L1 e L2 se reúnem em capsômeros, que formam capsídeos icosaédricos em torno do genoma viral durante a geração da progênie de vírions. A partícula viral do vírus consiste em um capsídeo icosaédrico formado por 72 capsômeros não envelopados, medindo de 52 a 55 nm. Seu DNA possui 7.900 pares de bases e seu peso molecular é de  $5,2 \times 10^6$  DA. <sup>(13)</sup>

A replicação e a montagem dos vírions (partícula viral completa, infecciosa) ocorrem no núcleo celular. Alguns papilomas vírus são oncogênicos, como o vírus do papiloma vírus humano (HPV). Ele integra o grupo I do sistema de Classificação de Baltimore. A Classificação de Baltimore é um sistema de classificação viral desenvolvido pelo biólogo americano David Baltimore. Ela é baseada na síntese viral de RNA mensageiro. O sistema agrupa os vírus em sete classes, dependendo do seu genoma (DNA, RNA, cadeia dupla, cadeia simples) e de sua replicação de DNA. <sup>(14)</sup>

A compreensão da biologia da infecção pelo papiloma vírus humano foi prejudicada pela falta de sistemas de cultura de tecidos para propagar os vírus, de modelos animais para HPV e pelas dificuldades de se encontrar modelos animais de infecção natural. <sup>(40)</sup>

O câncer de colo é uma parte do aparelho reprodutor feminino, situado no abdome inferior, localizando-se na parte de trás da bexiga e na frente do reto. O câncer de colo divide-se em corpo e colo, que é a porção inferior do câncer de colo localizada no interior do canal vaginal. <sup>(41)</sup> O colo do câncer de colo tem uma parte interna, a qual forma o canal cervical ou endocérvice. Ele é coberto por apenas uma camada de células cilíndricas produtoras de muco — epitélio colunar simples. A parte externa, chamada de ectocérvice, fica ligada diretamente à vagina. <sup>(42)</sup> No meio dos dois epitélios, fica a junção escamo colunar (JEC), representada por uma linha que pode estar tanto na ecto como na endocérvice, a depender da situação hormonal que a mulher apresente. Quando a mulher está na fase de infância ou no período pós-menopausa, normalmente a JEC fica no interior do canal cervical. Já no período da menacme, fase reprodutiva da mulher, a JEC costuma ficar no nível do orifício externo ou para fora dele — ectopia ou eversão. <sup>(11)</sup>

O epitélio colunar tem contato direto com um ambiente vaginal ácido, hostil a tais células. Dessa forma, as células subcilíndricas, de reserva, bipotenciais, por metaplasia, tornam-se células mais bem adaptadas (escamosas), originando um novo epitélio, que se encontra entre os epitélios originais, denominado de terceira mucosa ou zona de transformação. <sup>(42)</sup> A JEC (zona de transformação do colo do câncer de colo) é susceptível à carcinogenicidade do HPV. <sup>(43,97)</sup>

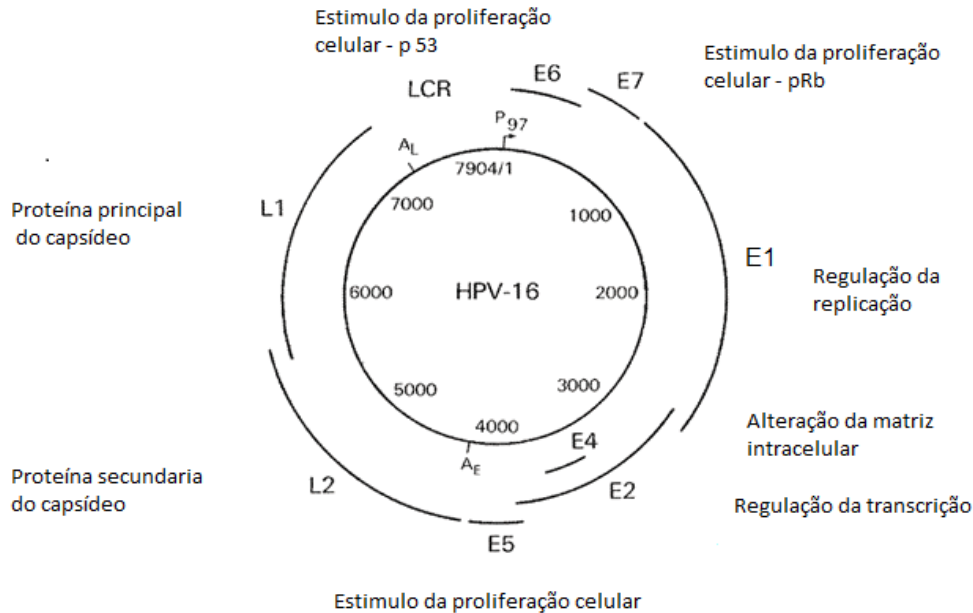
À medida que uma célula sofre transformação em virtude da mutação genética do DNA no processo do ciclo celular, a célula divide-se desordenadamente e produz novas células anormais.<sup>(97)</sup> Quando ocorrem falhas nos sistemas de reparo e imunológico na tarefa de destruir e controlar essas células anormais, as novas células vão se tornando cada vez mais diferenciadas, o que desencadeia a formação de células cancerosas. As células possuem uma fase em que se multiplicam, crescem, diferenciam-se e morrem, cumprindo um controle genético e um sistema complexo de sinais bioquímicos. <sup>(44)</sup>

Esse controle genético é desempenhado por duas classes de genes específicos: os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor. Os genes são segmentos do DNA (ácido desoxirribonucléico, o reservatório das moléculas de informação genética) que controlam as funções normais das células. <sup>(11,94,95)</sup>

Existem genes supressores tumorais, que são moléculas de superfície celular; genes que regulam a apoptose; genes que regulam o reparo do DNA, moléculas que regulam a transdução de sinal e moléculas que regulam transcrição nuclear (entram aqui dois genes mais importantes; o gene Rb e o gene P53, que são proteínas responsáveis pelo fenótipo maligno cervical).<sup>(94,95,98)</sup>

Alguns tipos de HPV codificam proteínas E6 e E7 que degradam o produto do gene p53. O vírus HPV subtipo 16 eleva bastante a frequência do câncer cervical e a presença das proteínas E6 e E7, o que eleva o valor preditivo positivo na progressão da doença, como podemos constatar na Figura 1. <sup>(11,95)</sup>

**Figura 1** – Representação esquemática do genoma do HPV-16 L (*Late*) – genes que se expressam tardiamente no ciclo vital do vírus. E (*Early*) – genes que se expressam precocemente no ciclo vital do vírus. LCR (*Long Control Region*) – gene que fica entre o final da L1 e o início de E6



**Fonte:** Adaptado de Bringhenti et al.<sup>(45)</sup>

### 3.6 ESTRUTURA DO GENOMA DO HPV-16 E DAS PROTEÍNAS VIRAIS

Os genes **L** codificam proteínas do capsídeo viral e os genes **E** codificam proteínas com funções reguladoras da atividade celular.<sup>(46)</sup>

Outra maneira de se classificar um novo tipo é mediante a sequência dos nucleotídeos dos genes E6, E7 e L1. Quando há uma diferença maior do que 10% em relação aos outros já conhecidos, identifica-se um novo tipo.<sup>(47)</sup>

Além disso, o vírus do HPV pode ser classificado em dois grupos: o de alto risco oncogênico (16 e 18, principalmente) e o de baixo risco (6 e 11, em especial), segundo sua relação com a gênese do câncer ano-genital,<sup>(47)</sup> ou de baixo risco (6, 11, 42, 43 e 44), risco intermediário (31, 33, 35, 51, 52 e 58) e alto risco (16 e 18).<sup>(48)</sup>

Os genes E1 e E2 são responsáveis pela replicação do DNA viral e pelo controle da transcrição dos demais genes, além de estarem envolvidos na proliferação viral. A proteína E1, juntamente com a E2, forma um complexo que se liga à região LCR, direcionando fatores de transcrição do hospedeiro e favorecendo a replicação viral. E2, por sua vez, participa da

regulação da transcrição do DNA viral, ativando ou inibindo. E1 e E2 são essenciais para a estabilização do DNA viral e exercem papel importante na regulação da expressão das proteínas E6 e E7, favorecendo a manutenção da forma episossomal<sup>(44)</sup>

O gene E4 codifica uma proteína associada à maturação e à montagem viral. E4 se associa a ceratinas do citoesqueleto da célula hospedeira, abrindo uma ampla cavitação em torno do núcleo, conhecida morfológicamente como coilócito.<sup>(49)</sup> A abertura desse espaço favorece a montagem dos vírions e é a marca microscópica da infecção por HPV. A região de E5 codifica uma proteína hidrofóbica, que se associa às membranas do complexo de Golgi, do retículo endoplasmático, e tem como destino final a membrana citoplasmática das células do hospedeiro<sup>(50)</sup>. A proteína E5 é produzida logo no início da infecção e atua estimulando o crescimento celular por meio de interações com várias outras proteínas transmembranas, como os receptores do fator de crescimento epidérmico (EGFR), do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), entre outros.<sup>(51)</sup> A presença de E5 parece estimular o EGFR na presença de seu ligante.<sup>(52)</sup> Age conjuntamente com a proteína E7, exercendo, então, função sinérgica com o fator de crescimento epidérmico (EGF), além de estimular a proliferação celular e impedir a apoptose.<sup>(53)</sup> Para a sua replicação, o HPV precisa da DNA polimerase e dos fatores de transcrição, que são abundantemente produzidos pelas células do epitélio escamoso estratificado do hospedeiro durante a divisão celular. Essa produção é cessada à medida que as células escamosas começam a amadurecer e se diferenciar.<sup>(54)</sup> Esse problema é resolvido pela atuação dos genes E6 e E7, os quais codificam proteínas que podem viabilizar a manutenção da maquinaria de replicação celular, levando a erros durante a duplicação do DNA e cooperando para a imortalização celular.<sup>(98)</sup> A proteína E6 complementa o papel desempenhado por E7, evitando a indução de apoptose em resposta à proliferação celular mediada por E7.<sup>(47,97)</sup>

Essa oncoproteína liga-se à proteína p53, uma proteína supressora de tumor, que regula a expressão das proteínas responsáveis pelo controle do ciclo celular, causando sua degradação proteolítica via ubiquitinação. A ligação da proteína E6 anula as propriedades de p53 e interrompe sua habilidade de corrigir erros de duplicação, de bloquear o ciclo celular e de induzir a apoptose.<sup>(48)</sup>

As proteínas E6 e E7 são as condutoras do papel carcinogênico por meio de vários mecanismos, principalmente a inibição dos supressores de tumores, como a proteína p53 e a proteína do retinoblastoma (pRB).<sup>(49)</sup> A E7 promove a instabilidade genômica e o acúmulo de anormalidades cromossômicas.<sup>(95,96)</sup> Essas atividades criam um ambiente propício para a

transformação das células epiteliais.<sup>(50)</sup> E7 liga-se à pRb em seu sítio de ligação a fatores de transcrição.<sup>(53)</sup> Esta interação leva à liberação do fator de transcrição E2F do complexo repressor transcricional, desencadeando a proliferação celular descontrolada e a destruição de pRb via ubiquitinação.<sup>(54)</sup> As funções de E6 incluem ativação da telomerase e desregulação das vias envolvidas na resposta do sistema imune, da diferenciação epitelial e da proliferação celular<sup>(55,95)</sup>.

### 3.7 CICLO BIOLÓGICO DO HPV

Por meio de pequenos traumas que podem ocorrer na barreira epitelial, os vírus infectam as células da camada basal, inicialmente; após infecção, o HPV é mantido em baixo número de cópias, ficando a replicação viral dependente da replicação celular. Esse período é conhecido como fase latente.<sup>(95)</sup>

Estudos relatam que o baixo número de cópias virais (10-200 cópias por célula) nas células basais favorece a manutenção da forma episomal e colabora para a estabilidade genômica, além de dificultar a identificação da célula infectada pelo sistema de defesa do hospedeiro.<sup>(47,95,96)</sup>

Existem evidências de que o processo de integração do genoma do HPV ao do hospedeiro é gradativo, podendo ocorrer em qualquer fase do processo infeccioso, presente em células normais e até tumorais.<sup>(47,94)</sup>

Sabe-se também que a integração viral contribui significativamente para o processo carcinogênico, na medida em que atua basicamente de duas formas. Primeiramente, com a linearização do genoma viral, os genes E1 ou E2 são danificados e todo o mecanismo de regulação da replicação e transcrição viral pode ser perdido.<sup>(51)</sup> A proteína E2 atua como o principal inibidor da expressão de E6 e E7 e, como consequência, estas proteínas aumentam significativamente em número, acelerando o processo de transformação celular, por outro lado, segundo Doorbar et al. (2012)<sup>(52)</sup>, estudos mostram ser importante também para a carcinogênese o local onde o vírus se integra, podendo haver ativação de genes oncogênicos e inativação de supressores de tumor, não só pelo processo de integração em si, mas também pelas metilações que irão ocorrer nas regiões flanqueadoras.<sup>(51)</sup> A forma mista, portanto, é uma condição considerada intermediária entre a episomal, encontrada em lesões mais simples, e a integrada, frequente em lesões mais graves e cancerosas.<sup>(52)</sup>



Estudiosos investigaram a expressão concomitante de genes pelas formas virais episomais e integradas, algo semelhante à infecção mista. Plasmídeos expressando E1 e E2 foram usados para transfectar células SiHa e HeLa, as quais contêm, respectivamente, os genomas integrados dos HPV 16 e 18.<sup>(47)</sup> Os experimentos demonstraram que o genoma do HPV integrado permanece ativo e disponível a replicação e transcrição, e é controlado pelas proteínas E1 e E2, as quais são produzidas pela forma episomal. O material genético integrado, assim duplicado, conterá o genoma do HPV integrado, assim como as regiões flangeadoras, pertencentes ao genoma do hospedeiro, gerando um intermediário replicativo, ainda ligado ao genoma da célula hospedeira.<sup>(95)</sup> Esse genoma amplificado será novamente integrado ao genoma do hospedeiro, o que aumenta assim o número de cópias virais e intensifica o processo de integração. Os autores chamaram esse mecanismo de formação “de novo”. O aumento do número de cópias do HPV integrado promove um aumento da quantidade das proteínas E6 e E7 disponíveis, aumentando mais ainda a instabilidade genômica.<sup>(94,95)</sup> A atuação das proteínas oncogênicas, em conjunto com a ocorrência de vários eventos de integração viral “de novo”, promovem ganhos e perdas de função de genes do hospedeiro e favorecem o processo de carcinogênese.<sup>(96)</sup>

Infecções causadas por tipos diferentes de HPV ou uma reinfecção pelo mesmo tipo viral podem mimetizar o que ocorre na forma mista da infecção, contribuindo também para aumentar o estado de instabilidade genômica celular.<sup>(94,95)</sup>

Com a integração total das formas episomais, a replicação viral fica limitada à multiplicação celular, estabelecendo um ciclo produtivo incompleto (ciclo abortivo) em que partículas virais não chegam a ser formadas<sup>(52)</sup>.

O tempo de duração da fase latente pode variar de indivíduo para indivíduo. Ainda não se sabe o motivo, mas se acredita que, devido a alguma fragilidade imunológica, o HPV sai do estado de latência e, sob a forma episomal, entra em estado replicativo, agora de forma independente da divisão celular. Dá-se, então, início à fase proliferativa da infecção.<sup>(29,96)</sup>

Durante a proliferação viral, primeiramente ocorre um aumento da expressão dos genes E1 e E2, seguido do aumento na expressão de E5, E6 e E7; E4 é o último gene precoce a ser expresso já em células maduras, formando assim os coilócitos. Os últimos genes do HPV a serem expressos são L1 e L2. Estas proteínas se organizam dentro do coilócito, formando o capsídeo e dando origem a uma nova partícula viral (vírion), a qual será liberada

na superfície epitelial. O aumento na expressão de E1 e E2 é necessário para a elevação do número de cópias virais. <sup>(44,94,95)</sup>

A replicação muito intensa do DNA viral proporciona níveis elevados de E1 e o aparecimento de formas aberrantes por erros na duplicação e na transcrição, o que ameaça a estabilidade do genoma viral; este, inclusive, é um possível gatilho para a sua integração. <sup>(4)</sup>

Os HPVs de alto risco são mais eficientes na transformação celular e na manutenção do estado proliferativo. <sup>(52)</sup> Uma explicação para esse fenômeno deve-se à atividade das oncoproteínas E6 e E7, que, apesar de estarem presentes também nos HPVs de baixo risco, têm seu papel limitado para desencadear o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas e câncer por esses tipos virais. <sup>(53)</sup>

Existem algumas estratégias utilizadas pelos HPVs de alto risco para evitar que sejam detectados pelo sistema imune do hospedeiro; uma delas é manter um perfil muito baixo de cópias virais. <sup>(54,96)</sup>

A retenção intracelular dos antígenos virais também pode comprometer a detecção do vírus pelo sistema imune <sup>(55)</sup>

Além disso, o HPV possui mecanismos que limitam a apresentação de epítomos nas camadas mais baixas do epitélio <sup>(55)</sup>, e estes são fatores importantes para a persistência viral e progressão das doenças neoplásicas.

A integração do HPV ao genoma humano também tem sido associada à manutenção da infecção persistente, que é considerada o principal fator para o desenvolvimento do câncer cervical. <sup>(56)</sup>

Devido ao fato das ISTs pelos HPVs comumente não apresentarem nenhum sintoma, as pessoas não têm como saber se são ou não portadoras do vírus. <sup>(57)</sup>

A maioria das mulheres descobre que tem HPV por intermédio de um resultado anormal do exame citológico cervical por esfregaço (Papanicolau), exame que ajuda a detectar células anormais no revestimento do colo do câncer de colo, que podem ser tratadas antes de se tornarem malignas. O câncer de colo é um dos mais fáceis de serem prevenidos, por isso é tão importante fazer a prevenção regularmente, estratégia globalmente adotada para o rastreamento das lesões pré-invasivas por meio do Papanicolau. <sup>(51)</sup>

Nos países em desenvolvimento, o impacto da introdução e da ampliação do rastreamento como política de saúde foi menor do que o observado nos países desenvolvidos,

em função da organização deficiente, das baixas coberturas e da falta de garantia da qualidade.<sup>(57)</sup>

No pequeno número de casos em que a infecção persiste, pode ocorrer o desenvolvimento de lesões precursoras que, se não forem identificadas e tratadas, podem progredir para o câncer, principalmente no colo do câncer de colo, mas também na vagina, na vulva, no ânus, pênis, orofaringe e boca.<sup>(57)</sup>

Porém, essa infecção pode aparecer em qualquer parte do nosso corpo, basta haver o contato do vírus com a pele ou mucosa com alguma lesão, ou seja, pele e mucosas não íntegras. Manifestações extragenitais mais frequentes, tanto benignas quanto malignas, são observadas na cavidade oral e no trato aero digestivo.<sup>(55)</sup>

Uma lesão particularmente agressiva pode ocorrer em crianças ou adolescentes contaminados no momento do parto, que podem desenvolver lesões verrucosas nas cordas vocais e laringe (Papilomatose Respiratória Recorrente), casos em que são necessários inúmeros tratamentos cirúrgicos.<sup>(58)</sup>

No diagnóstico da infecção por HPV, nenhuma metodologia é soberana; leva-se em conta os dados da história, exame físico e exames complementares com a pesquisa direta do vírus ou indireta pela observação das alterações provocadas pela infecção nas células e no tecido.<sup>(58)</sup>

### 3.8 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DO HPV

#### **Papanicolau**

Em 1934, George Papanicolau desenvolveu um exame chamado Papanicolau, que permitiu o diagnóstico do câncer de colo de útero por meio de análises de esfregaço cervical, na medida em que tornou possível a detecção da presença de células anormais na mucosa cervical.<sup>(55)</sup> O Papanicolau, exame ginecológico também denominado citologia cérvico-vaginal oncótica ou exame preventivo, detecta as alterações que o HPV pode causar nas células e um possível câncer, mas não é capaz de diagnosticar a presença do vírus. No entanto, é considerado o melhor método para detectar câncer de colo, suas lesões precursoras e, inclusive a presença de várias doenças sexualmente transmissíveis (DSTs), tais como: gonorréia, clamídia, *Trichomonas*, e principalmente o condiloma, lesão clínica verrucosa também causada pelo vírus HPV, chamada popularmente de crista de galo<sup>(10)</sup>.

O Papanicolau é feito mediante a coleta de material citológico extraído do colo do câncer de colo por meio da introdução de um espéculo vaginal com a utilização de uma espátula de madeira e de uma escovinha endocervical, ocasião em que é feita a escamação ou esfoliação da superfície externa e interna do colo. <sup>(55)</sup>

Esse exame é indicado na rotina de *screening* ou rastreamento para o câncer cervical ou genital de lesão HPV induzida, visando ao diagnóstico de neoplasia intraepitelial ou câncer invasor associado. <sup>(56)</sup> Quando essas alterações que antecedem o câncer são identificadas e tratadas precocemente, é possível prevenir 100% dos casos. <sup>(56)</sup> O exame deve ser feito, preferencialmente, nas mulheres entre 25 a 64 anos, que têm ou já tiveram atividade sexual. Os dois primeiros exames devem ser feitos com intervalo de 1 ano, e se os resultados forem normais, o exame passará a ser realizado a cada 3 anos, conforme a Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia. <sup>(42)</sup>

### **Colposcopia**

A colposcopia é um procedimento realizado para examinar a vagina, a vulva e o colo do útero.

Recebe esse nome porque é feita com um aparelho chamado colposcópico, semelhante a um microscópio, através do qual o médico realizador consegue observar pequenas lesões ou anormalidades pela ampliação e iluminação dessas estruturas. <sup>(35)</sup>

A colposcopia é muito parecida com exame ginecológico comum. Para realizar o exame, também é utilizado um espéculo vaginal, material de plástico ou de metal introduzido na vagina com o objetivo de mantê-la aberta durante o processo. <sup>(35)</sup> No decurso do exame, o médico mantém o colo do câncer de colo aberto e aplica uma solução de 3% a 5% de ácido acético e lugol (teste de Schiller), que consiste na aplicação de solução citada e observação imediata a olho nu para verificar a existência de áreas iodo negativo. <sup>(46)</sup>

O teste de Schiller é um exame de diagnóstico que consiste na aplicação de uma solução com iodo, o lugol, na região interna da vagina e no colo do câncer de colo. <sup>(46)</sup> Ele é indicado para mulheres sexualmente ativas e é solicitado pelo ginecologista quando há suspeita de alguma doença ginecológica, como HPV, sífilis, inflamação vaginal, por exemplo. <sup>(47)</sup> Caso sejam identificadas alterações, o médico pode coletar uma pequena amostra da região e enviar para biópsia em um laboratório. O teste de Schiller é considerado positivo quando uma área do colo uterino não fica corada com o iodo (lugol),

sugerindo a presença de células atípicas; é negativo quando todo o cérvix uterino fica corado de marrom, evidenciando a presença de tecido rico em glicogênio e, portanto, a presença de células normais.<sup>(47)</sup> Além disso, esse teste pode ser utilizado para detectar com eficácia o câncer de colo.<sup>(47)</sup>

A Inspeção Visual com Ácido Acético (IVA) consiste na aplicação de solução de ácido acético a 5% sobre o colo uterino.<sup>(48)</sup> Em seguida, aguarda-se de 1 a 2 minutos e se faz observação a olho nu do colo para verificar a existência ou não de áreas acetobranças.<sup>(48)</sup> A avaliação do colo uterino com essa solução mostra-se eficaz para ajudar na identificação de lesões precursoras do câncer cervical, na medida em que aumenta a sensibilidade da citologia cérvico-vaginal.<sup>(49)</sup> Pode ainda ser de grande auxílio na triagem dos casos para a colposcopia e biópsia, mesmo em locais onde não há condições adequadas para a realização da citologia.<sup>(50)</sup> Porém, a diferença é que na colposcopia o médico tem uma visão mais ampliada na superfície dos tecidos capaz de ressaltar possíveis lesões e o faz com um colposcópio a 30 centímetros de distância.<sup>(51)</sup>

A colposcopia é feita após observação a olho nu de uma mucosa anormal do colo do câncer de colo ou na vagina.<sup>(52)</sup> O Papanicolaou anormal requer uma análise aprofundada do colo do câncer de colo, com a realização de biópsias guiadas, acompanhamento do curso da infecção por HPV, vigilância após o tratamento da displasia para detectar recorrência.<sup>(53)</sup>

As verrugas genitais encontradas no ânus, no pênis, na vulva ou em qualquer área da pele podem ser diagnosticadas pelos exames urológico (pênis), ginecológico (vulva) e dermatológico (pele), enquanto o diagnóstico subclínico das lesões precursoras do câncer de colo de útero, produzidas pelo papiloma vírus, pode ser realizado pelo exame citopatológico preventivo citado.<sup>(54)</sup>

As lesões subclínicas podem ser diagnosticadas por meio de exames laboratoriais (citopatológico, histopatológico e de biologia molecular) ou do uso de instrumentos com poder de magnificação (lentes de aumento), após a aplicação de reagentes químicos para contraste (colposcopia, peniscopia, anoscopia).<sup>(55)</sup>

E para distinguir a lesão benigna da maligna são realizadas biópsias e confirmação histopatológica.<sup>(56)</sup>

Esse risco adicional da estratificação pode ser utilizado na formulação de decisões no exame de Papanicolaou anormal, que requer a confirmação do teste, colposcopia e biópsia para o monitoramento do alto custo do exame clínico, do tratamento e o aprimoramento da vacina do HPV.<sup>(57)</sup>

## Biópsia

É a retirada de um pequeno pedaço do tecido para análise. A sua indicação baseia-se no aspecto e na localização.<sup>(58)</sup> Se a atipia colposcópica for maior, a lesão é plana e está localizada no colo uterino; fica claro que se deve biopsiá-la para obter o correto diagnóstico histológico e, assim, dirigir a conduta.<sup>(59)</sup> Lesões verrugosas, localizadas na vagina ou vulva, que pelo aspecto levam ao diagnóstico clínico de infecção viral, em geral não precisam ser biopsiadas.<sup>(60,61,62)</sup>

A realização da biópsia é indicada para a confirmação diagnóstica dos casos alterados na citologia, após a avaliação colposcópica.<sup>(62)</sup>

Exérese da zona de transformação (EZT) e conização (excisões tipo 1, 2 e 3) são métodos excisionais para o tratamento das lesões precursoras do câncer de colo de útero.<sup>(62)</sup>

A partir das *Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo*,<sup>(42)</sup> esses métodos passaram a ser denominados “excisões dos tipos 1, 2 ou 3”, conforme a profundidade do tecido e a apresentação da zona de transformação, definidos na *Nomenclatura colposcópica* da International Federation of Colposcopy and Cervical Pathology — Federação Internacional de Colposcopia e Patologia Cervical.<sup>(42)</sup>

Às mulheres após tratamento da lesão precursora, recomenda-se a realização de dois exames citopatológicos aos 6 e 12 meses depois do tratamento e exames anuais por mais 4 anos, a fim de completar 5 anos de seguimento, o que corresponde a 6 novos exames para cada mulher submetida à EZT no período definido.<sup>(42)</sup>

## Técnicas de Biologia Molecular

O diagnóstico do HPV é atualmente realizado por meio de exames de biologia molecular que mostram a presença do DNA do vírus.<sup>(63)</sup> Entretanto, não é indicado procurar diagnosticar a presença do HPV, mas sim quando há algum tipo de lesão clínica ou subclínica.

O diagnóstico das verrugas ano-genitais pode ser feito em homens e em mulheres por meio do exame clínico.<sup>(64)</sup> Dentre esses métodos, os quais são classificados de acordo com sua sensibilidade, destacam-se: a hibridização molecular, que possui boa sensibilidade; a hibridização *in situ*, considerado de baixa sensibilidade; *southern blot* e *dot blot*, de sensibilidade intermediária; a reação em cadeia da polimerase (PCR) e captura híbrida, de alta sensibilidade.<sup>(66)</sup> A sensibilidade e especificidade das diversas técnicas de detecção do HPV

disponíveis variam amplamente.<sup>(65)</sup> A hibridização *in situ* (ISH) é considerada de baixa sensibilidade, uma vez que apenas detecta o vírus quando presente em mais de 10 cópias do DNA viral por célula. Os métodos *southern blot*, *dot blot* e *hibridização dot reversa* são considerados de moderada sensibilidade pelo fato de só detectarem o vírus quando de 1 a 10 cópias do DNA viral estiverem presentes.<sup>(66)</sup> O PCR, por outro lado, é considerado de alta sensibilidade, porque detectar o vírus quando menos de uma cópia do DNA viral estiver presente<sup>(64)</sup>.

### **Hibridização molecular**

Método considerado como padrão de análise do genoma do HPV, requer fragmentos de DNA de comprimento total, além de informações adicionais importantes, como integração viral e subtipagem, o que, porém, constitui procedimentos que consomem muito tempo e dinheiro. Além disso, quando se aumenta muito a sensibilidade, principalmente na análise de lesões de baixo grau, pode haver reação cruzada, diminuindo a acurácia do método, devido à grande reação cruzada entre as sondas.<sup>(65)</sup>

Os métodos de biologia molecular possuem boa sensibilidade e identificam principalmente os casos de infecção latente por HPV presente em 30% das mulheres sexualmente ativas.<sup>(116)</sup> O uso da tecnologia de hibridização molecular serve para o reconhecimento da presença do HPV oncogênico, o que pode reduzir consideravelmente o número de citologias falso-negativas.<sup>(70)</sup>

### **Hibridização *in situ***

Método de hibridização que demonstra o DNA viral na célula, uma vez que fornece a oportunidade de avaliação do tecido ou esfregaço celular, ao mesmo tempo em que se avalia a presença ou não do vírus.<sup>(47)</sup> Ocorre a hibridização (ligação) de uma sonda específica (sequência curta de DNA) para um tipo de HPV, por exemplo, tipo 16, e a partir daí se faz uma lâmina com a amostra previamente preparada com tampões específicos. Por meio de uma reação de peroxidase, é possível a visualização de pontos amarronzados no núcleo celular, indicando a presença do HPV.<sup>(92)</sup>

Esse método é menos sensível do que a captura híbrida e a biologia molecular. Quando se aumenta muito essa sensibilidade, principalmente na análise de lesões de baixo

grau, pode haver reação cruzada, o que diminui a acurácia do método, devido à grande reação cruzada entre as sondas (tipos 6,11, 16, 18, 31 e 33) e outros tipos não relacionados nas sondas (39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58 e 66).<sup>(91)</sup>

Uma análise do tipo viral por PCR deve ser realizada para confirmação.<sup>(15)</sup> Estudos realizados com essa técnica sugerem que a genotipagem do HPV presente no trato genital poderia ser um importante indicador prognóstico para o carcinoma de colo uterino.<sup>(63)</sup>

### ***Hibridização southern blot***

A *hibridização southern blot* é considerada como padrão de análise do genoma do HPV e requer fragmentos de DNA de comprimento total, além de informações adicionais importantes, como integração viral e subtipagem. Porém, estes são procedimentos que consomem muito tempo e dinheiro.<sup>(64)</sup>

### ***Dot blot***

Após extração do DNA, aplica-se este em gotas sobre o filtro de nitrocelulose, onde são observados sinais típicos de hibridização após autorradiografia. Esse teste possibilita o exame de um grande número de amostras.<sup>(64)</sup>

A confirmação da infecção pelo HPV pode ser feita por exames laboratoriais de diagnóstico molecular como os testes de captura híbrida e PCR.<sup>(9)</sup> Tem sido utilizado principalmente em pesquisas, especialmente como padrão ouro para comprovar ou não a existência do DNA do HPV.<sup>(65)</sup>

Atualmente existem várias modificações da técnica de PCR convencional; as principais são a PCR em tempo real (*real time PCR*) ou Q-PCR (PCR quantitativa); RT-PCR (*reverse transcriptase PCR*), para amplificar amostras de RNA; multiplex PCR, que pode ser aplicada para amplificação de vários loci em uma única reação; e a **n** PCR, que, com o objetivo de aumentar a especificidade em 80% no processo da amplificação do DNA, constitui uma variação da técnica de PCR, e é conhecida como *nested PCR* (**n** PCR). Nesta técnica, o produto da amplificação da primeira PCR é utilizado como molde para a segunda, gerando um produto menor no final das duas etapas. A vantagem da técnica *nested PCR* (**n** PCR) é que o DNA da segunda PCR está em concentrações altíssimas e os *primers* têm



menos chances de anelamento em sequências inespecíficas, devido à redução do tamanho do molde. <sup>(44)</sup>

### **Método PCR-RFLP**

A PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) usa enzimas de restrição para a genotipagem viral. Na PCR-RFLP, o DNA é amplificado por uma PCR convencional, seguida de um processo de ação enzimática que é capaz de reconhecer sítios de restrição específicos e clivados (cada indivíduo possui alterações ao longo do seu material genético).

Ao clivar as moléculas, as endonucleases formam fragmentos com diferentes pesos moleculares e, com o auxílio de sondas hibridizadoras, a detecção das variações gênicas do organismo em estudo pode ser realizada. Essa técnica, quando utilizada juntamente com a convencional, possibilita detectar 40 tipos de HPV; é financeiramente vantajosa <sup>(115)</sup>. Atualmente existem tecnologias que permitem detectar e quantificar os transcritos dos oncogenes virais E6 e E7; são estratégias atuais que visam avaliar a atividade oncogênica viral e aumentar a acurácia do método. <sup>(65)</sup>

A pesquisa dos transcritos E6 e E7 de HPV de alto risco aumenta a especificidade e sensibilidade dos testes usados na triagem (citologia e detecção de DNA do HPV), indicando as lesões com maior chance de progressão do câncer <sup>(24)</sup> Ela está intimamente relacionada à presença de lesões pré-cancerosas de alto grau em mulheres com resultado de citologia anormal. As oncoproteínas E6/E7 são, portanto, marcadores precoces de câncer <sup>(65)</sup>.

Kary Mullis recebeu um prêmio por sua invenção da reação em cadeia da polimerase (PCR) e Smith desenvolveu um procedimento conhecido como mutagênese sítio dirigida e o aplicou ao estudo de proteínas. O avanço nessa técnica de Smith seria a PCR-RFLP (*Restriction fragment length polymorphism*), ou seja, a identificação de polimorfismos de nucleotídeos (modificação genética). Inclusive ela pode ser feita por análise da curva de dissociação ou curva de melting (HRM – *high resolution melting*), cuja análise é obtida do produto amplificado de DNA e RNA (amplicon) que é realizada automaticamente após a termociclagem por PCR em tempo real, para detecção de mutações na sequência alvo <sup>(9)</sup> A partir daí foram desenvolvidas variações da técnica que têm permitido avanços consideráveis na biologia molecular e particularmente na detecção do HPV <sup>(9)</sup> A grande difusão da PCR somente foi possível após a identificação de uma enzima polimerase de DNA resistente ao calor (Taq – *Thermophilis aquática*) em 1986, pois a mesma suporta temperaturas acima de 100°C, onde nos experimento iniciais de PCR, utilizou-se a enzima de DNA polimerase de E.

Coli, cuja temperatura de polimerização é de 37°C.<sup>(10)</sup> Ela era adicionada manualmente a cada ciclo de amplificação, mas era destruída toda vez que a temperatura era elevada em 95°C para promover a desnaturação do DNA molde.<sup>(44)</sup>

## PCR

É um teste de alta sensibilidade, utilizado, principalmente, em pesquisas para comprovar a existência ou não do DNA do HPV.<sup>(61)</sup> A reação de PCR consiste na amplificação do DNA viral (HPV) utilizando-se, como iniciadores (*primers*), sequências conservadas da região L do HPV. E nas amostras com DNA detectado, possibilita a identificação do genótipo do HPV por meio da amplificação de regiões específicas para cada um dos vírus de alto ou baixo grau, geralmente sequências dos genes E6 e E7 dos subtipos de HPV(45, 57).<sup>(62)</sup>

A PCR-RT (*Real Time*) é uma técnica inovadora, capaz de promover a quantificação acurada e o monitoramento em tempo real do produto amplificado, possui as mesmas três etapas da PCR convencional diferenciando pela quantificação de expressão viral em tempo real. Essa técnica possui a capacidade de detectar e quantificar a amplificação do produto à medida que vai sendo sintetizado. Utiliza, além dos primers, uma sonda marcada com um fluorocromo. A sonda é complementar a uma região interna do produto e é marcada com uma substância fluorogênica.<sup>(9)</sup>

É uma das técnicas mais utilizadas atualmente na detecção do HPV, devido a sua alta sensibilidade permitindo o uso de uma pequena quantidade de material. A PCR possui alta especificidade e alta sensibilidade, amplifica fragmentos específicos de DNA do vírus, através da desnaturação das fitas de DNA pelo aquecimento, anelamento de iniciadores específicos, para as regiões complementares, que consiste na separação das fitas do DNA-molde em temperatura de aproximadamente 95°C.<sup>(9)</sup> Em seguida, com o DNA já desnaturado, os primers, com suas sequências de base complementar a região delimitada, liga-se à região de DNA que irá ser amplificada, ou seja, anela-se ao DNA-molde, esta etapa ocorre em baixa temperatura; e extensão das fitas de DNA, com atuação de uma enzima polimerase. Esse processo gera milhões de cópias do molde, quando presente na amostra, e como controle simultaneamente a PCR é amplificado o segmento da região B-globina, presente para verificar a integridade do DNA.<sup>(10)</sup>

Essa técnica de PCR qualitativo *in vitro*, com posterior hibridização de ácidos nucleicos para a detecção de 14 tipos de HPV de alto risco (HR) numa única análise. <sup>(9)</sup>

O teste identifica especificamente os tipos HPV 16 e HPV 18 enquanto detecta simultaneamente os outros tipos de alto risco (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68); por níveis de infecção clinicamente relevantes, faz parte do diagnóstico de rotina do Laboratório Central da Bahia (LACEN/BA), possibilitando a realização desse Inquérito Epidemiológico. <sup>(10)</sup>

### **Método Microarray**

O *Microarray* (microarranjos) também conhecido como biochip, é frequentemente utilizado na análise de expressão gênica e análise de genoma funcional.

Nesta técnica “Microarray” as seqüências de sondas, ficam fixas em uma lâmina (in vitro) de forma organizada e possuem a capacidade de se hibridizarem com a amostra, isso devido ao princípio da complementaridade ou pela semelhança na seqüência. Na detecção do HPV, o biochip tem a capacidade de determinar a presença de 24 tipos de HPV; destes, 9 são considerados de baixo risco oncogênico e 15 de alto risco <sup>(91)</sup>.

### **Captura Híbrida**

É uma reação de amplificação de sinal e associa métodos de hibridização molecular e antígenos monoclonais <sup>(70)</sup> A captura hídrice é uma técnica molecular bastante específica que fornece a tipagem viral por grupos, permitindo avaliar a carga viral. Utiliza-se o genoma viral juntamente com sondas complementares e, em presença de partículas virais, ocorre formação de híbridos constituídos pelo DNA viral e sondas específicas <sup>(90)</sup>.

Detecta com alta sensibilidade e especificidade o DNA/HPV em amostra de escovado ou biópsia do trato genital inferior, grupo baixo ou alto risco e a carga viral. <sup>(91)</sup>

Atualmente, o teste de captura hídrice II é muito utilizado. Este utiliza sondas de ácido ribonucleico (RNA) específicas para treze tipos de HPV de alto risco e cinco tipos de baixo risco. O resultado do teste não especifica o tipo de HPV presente na amostra, ele só indica se a amostra é positiva ou negativa, e se o vírus é de alto ou baixo risco <sup>(92)</sup>

O teste de captura hídrica I (primeira geração) detecta HPV oncogênicos (16,18,31,33,35,45,51,52 e 56) e captura hídrica II (segunda geração) detecta quatro tipos de vírus adicionais (39,58,59 e 68).<sup>(91)</sup>

### 3.9 SINERGISMO DO HPV

Alguns autores demonstraram que, em comparação com as soronegativas, as mulheres HIV soropositivas são, aproximadamente, quatro vezes mais propensas a serem infectadas pelo HPV e cinco vezes mais a desenvolver NIC, além de lesões em múltiplos sítios, como vagina, vulva e região perianal<sup>(67, 68, 69, 70)</sup>.

Na Bahia, em 1999, em estudo para avaliar o perfil de lesões do trato genital inferior em 110 mulheres infectadas pelo HIV, encontrou-se alteração citológica em 39,5% das pacientes avaliadas, sendo 31,4% lesões intra epiteliais de baixo grau e 8,1% de alto grau. A associação do CD4 <200 céls/mm<sup>3</sup> e a presença de alterações foram significativas ( $p < 0,02$ ), demonstrando a imunossupressão como fator de risco para a presença de lesões<sup>(93)</sup>.

Sabemos através dos estudos, da importância para a carcinogênese o local onde o vírus se integra, podendo haver ativação de genes oncogênicos e inativação de tumores supressores, não só pelo processo de integração em si, mas também pelas metilações que irão ocorrer nas regiões flanqueadoras demonstrando fortes evidências da potencialização da infecção pelo HPV, quando essas ocorrem, em mulheres HIV positivas.<sup>(49)</sup>

Em um estudo, 19 (58%) de 33 lesões de colo uterino do grupo A correspondiam a NIC, o que demonstra frequência média maior do que a da literatura. Também observou-se que a maioria das 55 (73%) lesões do grupo A tinham o diagnóstico de CoA/HPV no exame histopatológico, quando comparadas às 32 (54%) lesões do grupo B.<sup>(70)</sup>

O vírus Epstein-Barr (EBV) pertence ao grupo dos herpesvírus e infecta os linfócitos B e células epiteliais da orofaringe.<sup>(70)</sup> O EBV infecta epitélio da pele e mucosas e está associado a tumores malignos.<sup>(71,72)</sup>

A antiproteína latente de membrana 1 (LMP1) é um gene associado à fase de latência do EBV, é oncogênica e pode ser detectada por imuno-histoquímica (IHQ), com marcação citoplasmática ou raramente de membrana.<sup>(71,72)</sup>

A descoberta do EBV em secreção vaginal, uretral e de sêmen indicou a possibilidade de uma transmissão sexual do vírus e um possível sinergismo na etiologia do carcinoma

genital.<sup>(72)</sup> Alguns estudos relatam o achado de infecções múltiplas na região genital, como aquelas causadas por Papiloma vírus humano EBV, herpes simples e citomegalovírus<sup>(75,76)</sup>

Em um estudo, autores que investigaram a presença do EBV na região ano genital feminina, utilizaram a técnica da reação em cadeia pela polimerase (PCR) e/ou ISH. Sasagawa et al.<sup>(62)</sup> foram os únicos que, ao investigar o EBV, usaram as três técnicas (PCR, ISH e IHQ [LMP1]), identificando 45%, 35% e 50%, respectivamente, nas lesões de NIC-III estudadas.<sup>(62,77)</sup>

Vários estudos sugerem que múltiplas infecções com HPV de alto risco, conferem ao condiloma acuminado um risco potencial para o desenvolvimento de tumores malignos.<sup>(78)</sup>

HPV de baixo risco oncogênico apresentam menor relevância clínica, por estarem frequentemente associados a lesões mais resolutivas, benignas, assintomáticas, menos graves, podendo manifestar neoplasias intraepiteliais de baixo grau, raramente evoluindo para lesões malignas; podem surgir alguns casos em pacientes imunossuprimidos e em algumas lesões exofíticas e benignas denominadas condilomas acuminados, ou verrugas genitais, com prevalência em HPV 6 e HPV 11, responsáveis por 90% dos condilomas acuminados, mais frequentes nos homens.<sup>(79, 95, 96)</sup>

Em seu estudo realizado com homens de diversas nacionalidades detectou múltiplas infecções dos HPV-16 e 18 e HPV-6 e 11 em 12,5% dos condilomas acuminados.<sup>(79)</sup>

Apesar das lesões provocadas por HPV de baixo risco serem consideradas pouco relevantes na progressão para o câncer, existem fortes evidências de que pacientes com condiloma acuminado apresentam maior chance de desenvolver tumores malignos, quando comparados aos pacientes sem essa lesão.<sup>(80,94)</sup>

Supõe-se que a elevação do risco nesses pacientes deve-se à potencialização da ação carcinogênica dos HPV de alto risco presentes em múltiplas infecções com HPV de baixo risco, ou à presença de uma deficiência imunológica prévia, não sendo o risco aumentado em consequência da ação direta desses tipos virais.<sup>(81,95, 96)</sup>

Ressalva-se que a presença de HPV de baixo risco pode estar relacionada à progressão ao câncer, seja por ação direta ou indireta (potencializando a ação carcinogênica dos HPV de alto risco). Estudos em mulheres associam fortemente a presença de altas cargas virais à persistência de infecção e ao desenvolvimento e agravamento de lesões, promovendo um aumento na frequência da integração viral.<sup>(84)</sup>

Segundo as *Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo*<sup>(42)</sup> recomenda-se encaminhar para investigação colposcópica todas as mulheres que apresentem

exame citopatológico de rastreamento com resultado de células escamosas atípicas de significado indeterminado, quando não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H), células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGC), células atípicas de origem indefinida (AOI), lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL), adenocarcinoma *in situ* invasivo e carcinoma epidermoide. <sup>(42)</sup>

Considerando a periodicidade do rastreamento de um exame citopatológico a cada três anos após dois exames negativos anuais consecutivos, calcula-se que, a cada ano, deva ser convocado 1/3 da população-alvo, ou seja, 33,3% da população feminina na faixa etária de 25 a 64 anos. A repetição de exames citopatológicos é indicada na investigação da persistência de LSIL e de ASC-US. <sup>(42)</sup>

Também é indicada para a avaliação dos casos após investigação colposcópica (resultados discordantes do citopatológico de rastreamento prévio), no acompanhamento pós-conclusão diagnóstica e no seguimento pós-tratamento da lesão precursora. <sup>(42)</sup>

Ainda de acordo com as diretrizes, mulheres com LSIL ou ASC-US no resultado do exame de rastreamento devem repetir o exame citopatológico após seis meses ou um ano, de acordo com a faixa etária: em um ano para mulheres de até 30 anos e em seis meses para aquelas com mais de 30 anos. <sup>(42)</sup>

O exame citológico necessita de uma coleta com quantidade suficiente de células para seu diagnóstico, porém ainda que revelador das lesões uterinas, esse exame não permite que sejam identificados os tipos de HPV. <sup>(44)</sup>

É consenso que, pelas características mencionadas, as mulheres infectadas pelo HIV devem ser submetidas ao rastreio citológico de forma mais frequente. <sup>(85)</sup>

Diretrizes americanas recomendam a coleta anual da citologia após duas citologias semestrais normais e, em mulheres positivas para HIV com CD4 abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>, realizarem citologia e encaminhar para colposcopia a cada seis meses <sup>(86)</sup>. Também, considerando a maior frequência de lesões múltiplas, é recomendado cuidadoso exame da vulva (incluindo região perianal) e da vagina, destas mulheres. <sup>(87)</sup> No caso da citologia, mostrar inflamação acentuada ou alterações celulares escamosas reativas, realizar nova coleta citológica em três meses, após tratamento adequado. <sup>(87)</sup>

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 DESENHO DO ESTUDO**

Foi realizado um inquérito epidemiológico descritivo seccional.

#### **4.1.1 Critérios de inclusão**

Mulheres sem limite de idade que realizaram Papanicolau e colposcopia no (CICAN/BA) com diagnósticos NICII e NIC III, no período de 1º de março de 2018 a 1º de setembro de 2019, que coletaram material para realização do exame de biologia molecular COBAS 4800 HPV DNA PCR (Reação em Cadeia de Polimerase PCR / DNA HPV), no LACEN/BA.

#### **4.1.2 Critérios de exclusão**

Amostra inadequada ou perda do material biológico do paciente.

#### **4.1.3 Dados socio demográficos**

Foram obtidos secundariamente, a partir da ficha de investigação padrão, alimentada através dos prontuários e do Banco de Dados do Lacen (Sistema GAL), pela pesquisadora principal. Todos os dados estão contidos no protocolo (Apêndice A).

## 5 LOCAL / PERÍODO

A pesquisa para o inquérito epidemiológico foi realizada no Centro de Oncologia da Bahia (CICAN), com coleta de dados dos exames Papanicolau e colposcopia, dados socio demográficos e no Laboratório Central (LACEN-BA), no período de 1º de março 2018 a 1º de setembro 2019. Como busca na literatura foram realizadas as pesquisas eletrônicas usando : Science Direct; The Lancet Oncology; SciELO (Scientific Electronic Library Online); PubMed, Instituto Nacional do Câncer e Ministério da Saúde do Brasil, Globocan, no período de 1986 a 2020, e para alcançar o máximo de sensibilidade na estratégia de busca, usaram-se os descritores: HPV- Papiloma vírus Humano. JEC (zona de transformação do câncer de colo). Câncer de colo de útero. Lesão intraepitelial cervical de alto grau (NICIII). Biologia Molecular. PCR (Reação em Cadeia de Polimerase / DNA HPV). Também foram extraídos os resultados do Banco de Dados do Laboratório Central (LACEN/BA), no (Sistema GAL), provenientes do diagnóstico de rotina *Amplification/ detection* HPV DNA por PCR, para realização do projeto.



## 6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 6.1 PLANO AMOSTRAL

Efetuuou-se uma amostragem não probabilística, por conveniência e propositiva, portanto, foram calculadas as estatísticas descritivas pertinentes à natureza das variáveis estudadas, a fim de responder aos objetivos propostos e não foram estimadas estatísticas inferenciais. Os dados foram digitados no Epidata versão 2.8 e analisados no pacote estatístico R, versão 3.

#### 6.1.1 Amostra

##### *Cálculo amostral*

Devido o tempo de coleta previsto 18 meses, em consequência de uma recente implantação da rotina dessa metodologia, do quantitativo dos testes PCR HPV DNA (240), e pelo número de testes (22) por genotipagem, sendo que 10% desses testes destinam-se ao controle de qualidade do método, além das limitações orçamentárias principalmente, seja pela capacidade operacional da pesquisadora em realizar a coleta de dados, bem como divulgação do oferecimento do serviço SUS, para conhecimento e conscientização da equipe médica, em criar uma demanda, das informações de literatura; dos exames de citologia oncológica, colposcopia, e os respectivos dados socio demográficos das pacientes, espera-se um tamanho amostral de 114 prováveis mulheres, provenientes do (CICAN/BA), portadoras de lesões, que foram realizar exames moleculares (PCR) para DNA HPV no Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/BA), em 2018 e 2019.

##### *Análise estatística*

Por se tratar de um plano amostral não probabilístico, cuja amostra não foi obtida mediante sorteio das unidades amostrais, não foram calculados o valor de p ou o intervalo de confiança, dada a inadequada estimativa do erro-padrão consequente aos vieses de seleção existentes no plano amostral. <sup>(88)</sup>

Entretanto, foram calculadas estatísticas descritivas padronizadas, conhecidas como estatísticas de tamanho de efeito, ou de associação não probabilística, ou de significância prática, para obter-se uma medida sumária de comparabilidade entre as características sócio demográficas segundo a presença de HPV oncogênico, segundo natureza das variáveis envolvidas. Assim, o coeficiente Q de Yule foi empregado na comparação das variáveis qualitativas nominais; a diferença padronizada (Dp) para variáveis, cujas médias não representam o centro da distribuição e o d de Cohen para a comparação de médias (Cohen, 1988; Ferguson, 2009).<sup>(89)</sup> Adotou-se o critério de Cohen (1988) adaptado por Ferguson (2009) para a qualificação das medidas citadas, no intuito de facilitar a sua interpretação, como segue: diferença entre grupos ausente: [0-0,2]; pequena: [0,2-0,5]; moderada: [ 0,5-0,8]; grande: > 0,8.<sup>(89)</sup>

## 7 RESULTADOS

O perfil socio demográfico das mulheres estudadas, independentemente da genotipagem, se caracterizou quanto à idade, por terem em média 40 (DP=13) anos, cerca de 1/6 delas eram fumantes, em torno de 1/3 consumiam bebida alcoólica, mais de 90% eram sexualmente ativas e contavam medianamente poucos parceiros sexuais (Tabela 1).

**Tabela 1-** Perfil socio demográfico das mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.

<b>Características gerais</b>	<b>N = 114</b>
Idade (anos), Média (DP)	40 (13)
Hábito de fumar, n (%)	18 (15,8)
Consumo atual de bebidas alcoólicas, n (%)	38 (33,3)
Atividade sexual, n (%)	104 (91,2)
Número de parceiros anteriores, Mediana (IIQ)	1 (2)
Número de parceiros atuais, Mediana (IIQ)	1 (1)

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Legenda: DP: desvio-padrão; IIQ: intervalo interquartilico = P75-P25

No que se refere à genotipagem, conforme se observa na Tabela 2, a frequência de positividade para pelo menos um HPV oncogênico foi elevada na amostra estudada (35,1%). Entretanto, o HPV 16 esteve presente em 15 das 114 mulheres, isoladamente.

**Tabela 2** - Frequência de mulheres com HPV oncogênico no colo do útero, diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019, N = 114.

<b>Genotipagem (PCR)</b>	<b>n (%)</b>
. HPV 16 ou 18 ou Outro	40 (35,1)
HPV 16	15 (13,2)
HPV 18	2 (1,8)
HPV Outro	24 (21,1)

**Fonte:** Dados da pesquisa

Quanto ao grau de neoplasia intraepitelial cervical, considerando o critério de inclusão grau II como mínimo, cerca de 2/3 possuíam neoplasias com grau II e também cerca de 2/3 com grau III (Tabela 3).

**Tabela 3** – Classificação da citologia das mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.

<b>Grau de Neoplasia Intraepitelial Cervical</b>	<b>n(%)</b>
NIC II	38 (33,3)
NIC III	40 (35,1)

**Fonte:** Dados da pesquisa

Na Tabela 4, no que tange à visibilidade da junção escamocolunar pela colposcopia, nota-se que cerca de 30% das mulheres possuíam zona de transformação anormal e que 19,3% delas ou tinham componente endocervical completamente visível ou possuíam componente endocervical não completamente visível, com possibilidade de ter componente ectocervical de pequena ou grande extensão.

**Tabela 4** – Colposcopia das mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.

<b>Colposcopia</b>	<b>n(%)</b>
ZT I	58 (50,9)
ZT II	9 (7,9)
ZT III	13 (11,4)
ZTA	34 (29,8)

**Fonte:** Dados da pesquisa

Ao se observar a distribuição de frequência de HPV oncogênico segundo o perfil socio demográfico (Tabela 5), destaca-se inicialmente que, apesar de não haver associação estatística ([0-0,2]) entre faixa etária e positividade, percebe-se que à medida que a idade aumenta a cada dez anos há uma redução na frequência da positividade.

A única associação estatística encontrada, porém pequena (0,2-0,5]), se deu entre o hábito de fumar e a frequência da positividade. Ainda pode-se ressaltar que apesar da positividade passar de 21,4% (nenhum parceiro anterior) para 40,0% (1 ou mais de 1 parceiro anterior) a associação estatística foi ausente ([0-0,2]).

**Tabela 5** – Distribuição do perfil socio demográfico das mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II de acordo com a frequência de HPV oncogênico no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019.

Características	HPV oncogênico		Q <sup>2</sup>	d <sup>3</sup>	Dp <sup>4</sup>
	Negativo, N = 74	Positivo, N = 40			
Idade (anos), Média (DP <sup>1</sup> )	41 (12)	38 (13)	-	0,23	-
Hábito de fumar, n/N (%)	9/74 (12,2)	9/40 (22,5)	0,35	-	-
Consome bebidas alcoólicas, n/N (%)	24/74 (32,4)	14/40 (35,0)	0,06	-	-
Atividade sexual, n/N (%)	67/74 (90,5)	37/40 (92,5)	0,13	-	-
Número de parceiros anteriores, Mediana (IIQ)	1 (3)	1 (2)	-	-	0,11
Número de parceiros atuais, Mediana (IIQ)	1 (1)	1 (1)	-	-	0,02

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Legenda: **1** DP: desvio-padrão; **IIQ**: intervalo interquartilico = P75-P25; **2** Coeficiente de associação de Yule; **3** d de Cohen; **4** Diferença padronizada

A Tabela 6 apresenta a frequência conjunta absoluta entre positividade e negatividade na citologia e PCR para HPV oncogênico, enquanto a Tabela 7 apresenta os indicadores de acurácia da citologia em relação à biologia molecular (padrão ouro) no diagnóstico do HPV de alto risco. Chama a atenção um aumento dos indicadores quando comparados NIC II com NIC III e para ambos a citologia é mais específica do que sensível, embora possua um poder discriminatório elevado na verdadeira positividade em relação à falsa positividade, em torno de 3:1 Entretanto, a citologia apresenta uma proporção elevada de falso negativo, devido à sua baixa sensibilidade, ou seja, a citologia foi mais específica do que sensível comparativamente ao PCR.

**Tabela 6** – Comparação absoluta da frequência da positividade e negatividade oriundas da citologia em relação à frequência da positividade e negatividade do PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019. N=114.

Grau de Neoplasia Intra-epitelial Cervical	HPV Oncogênico		Total
	Positivo	Negativo	
<b>NIC II</b>	-	-	-
Positivo	23	15	38
Negativo	17	59	76
<b>NIC III</b>	-	-	-
Positivo	25	15	40
Negativo	15	59	74
<b>Total</b>	40	74	114

Fonte: Dados da pesquisa.

**Tabela 7** – Indicadores de acurácia da citologia NIC II e NIC III em relação ao PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019. N=114.

Indicadores de acurácia	NIC II %	NIC III %
Sensibilidade	57,5	62,5
Falso negativo	42,5	37,5
Especificidade	79,7	79,7
Falso positivo	20,3	20,3
Valor preditivo positivo	60,5	62,5
Valor preditivo negativo	77,6	79,7
Taxa de concordância global	71,9	73,7
Razão de verossimilhança na positividade	2,8	3,1
Razão de verossimilhança na negatividade	0,5	0,5

Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 8 apresenta a frequência conjunta absoluta entre positividade e negatividade na colposcopia e PCR para HPV oncogênico, enquanto a Tabela 9 apresenta os indicadores de acurácia da colposcopia em relação à biologia molecular (padrão ouro) no diagnóstico do HPV de alto risco. Chama atenção a semelhança dos indicadores quando comparadas as ZT II com a ZT III e para ambas a colposcopia é bem mais específica (acima de 90%) do que sensível (abaixo de 18%).

Apesar disso, ambas apresentam um bom poder discriminatório da verdadeira positividade em relação à falsa positividade, entre 1,5:1 e 2:1. Porém, a colposcopia apresenta uma proporção muito elevada de falso negativo: acima de 82,5%.

**Tabela 8** – Comparação absoluta da frequência da positividade e negatividade oriundas da colposcopia em relação à frequência da positividade e negatividade do PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019. N=114.

Zona de transição	HPV Oncogênico		Total
	Positivo	Negativo	
<b>ZT II</b>	-	-	-
Positivo	4	5	9
Negativo	36	69	105
<b>ZT III</b>	-	-	-
Positivo	7	6	13
Negativo	33	68	101
<b>ZTA</b>	-	-	-
Positivo	15	19	34
Negativo	25	55	80
<b>Total</b>	40	74	114

Fonte: Dados da pesquisa.

**Tabela 9** – Acurácia da colposcopia ZT II, ZT III e ZTA em relação ao PCR no diagnóstico do HPV de alto risco nas mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II no Centro de Oncologia da Bahia em 2018 /2019. N=114.

Indicadores de acurácia	ZT II %	ZT III %	ZTA %
Sensibilidade	10	17,5	37,5
Falso negativo	90	82,5	62,5
Especificidade	93,2	91,9	74,3
Falso positivo	6,8	8,1	25,7
Valor preditivo positivo	44,4	53,8	44,1
Valor preditivo negativo	65,7	67,3	68,8
Taxa de concordância global	64	65,8	61,4
Razão de verossimilhança na positividade	1,5	2,2	1,5
Razão de verossimilhança na negatividade	1	0,9	0,8

Fonte: Dados da pesquisa.

## 8 DISCUSSÃO

Os HPV são vírus capazes de infectar a pele ou as mucosas e apesar de comumente não apresentarem nenhum sintoma têm alto risco oncogênico, o que requer o uso na rotina laboratorial do método PCR, o qual apresenta maior acurácia e ao mesmo tempo rapidez nas análises, pois temos conhecimento que a persistência da infecção com a presença do vírus HPV 16 de pré-câncer à invasão e passado poucos anos mais (1 a 2 anos) a presença do vírus provoca uma ação sinérgica para lesão alto grau NICIII /(NICIII+), em paciente negativo para lesão intraepitelial, e malignidade, em 30 anos ou mais. Todas essas lesões são passíveis de cura em até 100% dos casos quando tratadas precocemente. Se o rastreamento for realizado de forma correta, ele apresenta uma cobertura de 80% para o câncer e com o tratamento das lesões iniciais se reduz o aparecimento de câncer de colo do útero em até 90% .

O diagnóstico do CCU necessita de uma técnica que possa diagnosticar precocemente essas lesões para direcionamento do tratamento, evitando assim a sua progressão para câncer de colo. A PCR, apesar de apresentar um alto custo não sustentado pelo SUS, ganhou em custo benefício comprovadamente nesse estudo em relação às metodologias adotadas (citologia e colposcopia) na rotina para *screening* e diagnóstico do CCU. O exame citológico necessita de uma coleta com quantidade suficiente de células para seu diagnóstico, porém ainda que revelador das lesões uterinas, esse exame não permite que sejam identificados os tipos de HPV.

Essa técnica PCR possibilita a identificação do genótipo do HPV por meio da amplificação de regiões específicas para cada um dos vírus de alto ou baixo grau, geralmente sequências dos genes E6 e E7 dos subtipos de HPV, ela consegue proporcionar uma análise genética utilizando pouco material, onde essa pequena amostra após ser amplificada, possibilita saber se há junção entre o DNA viral do DNA do hospedeiro, dessa forma, confirmando o diagnóstico citológico; apresenta-se como a mais eficaz para diferenciações das lesões e do agente causador do carcinoma cervical, por sua alta sensibilidade, especificidade e velocidade na análise.

Através da associação entre o HPV oncogênicos e lesões intra epiteliais escamosas, a PCR tem sido realizada em diversos estudos para garantir a diferenciação das lesões uterinas com material genético viral para uma maior precisão nos resultados e no diagnóstico e quantificação dos diversos tipos virais.



Conforme foi constatado as diferenças encontradas em estudos realizados nos diversos estados do país sugere a necessidade de realização de um estudo multicêntrico para conhecimento das especificidades desta população e o planejamento de políticas públicas baseado nessas estimativas.

Apesar de a frequência encontrada de 71 % (81 mulheres) n= 114, em 2018 /2019, no Centro de Oncologia da Bahia, se apresentar positiva para os genes oncogênicos DNA-HPV e de esse percentual ser bastante conhecido na população baiana, os resultados encontrados no presente estudo foram relevantes e corroboram estudo de corte transversal em 38 países no mundo, composto por 10.575 mulheres com câncer cervical invasivo, que encontrou 8977 (85%) casos positivos para HPV DNA. Desses 85% os subtipos **16** e **18** HPV contribuíram com uma frequência de 8.196 (71%). Na prevalência mundial foi o HPV **18**, o segundo genótipo mais comum, porém com algumas variações geográficas, sendo esse fato evidenciado no artigo realizado por Eluf Neto et al. (1994), onde a prevalência encontrada foi de 50,0% para HPV de alto risco (HPV **18**), segundo resultado de citologia, incluindo mulheres com citologia inalterada<sup>(26)</sup> Já o HPV **58** figurou entre os mais encontrados na América Latina, com apresentação do HPV **16** em 22,5% das mulheres HPV positivas.

Nesse estudo a frequência de positividade para pelo menos um HPV oncogênico foi de (35,1%), quanto ao grau de neoplasia intra-epitelial cervical, considerando o critério de inclusão grau II como mínimo, cerca de (33,3%), n= 38 mulheres referentes a NIC II, e considerando o critério de inclusão grau III, cerca de (35,1), n = 40 mulheres para NICIII, o que foi elevada na amostra estudada, sendo que os valores encontrados foram semelhantes aos achados por Michelli, ao comparar três métodos de detecção do DNA do HPV (PCR utilizando primers da região L1, PCR utilizando *primers* da região E6/E7 e captura híbrida), onde encontraram a frequência de 40% das mulheres positivas em, pelo menos, umas das técnicas diagnósticas testadas.

O HPV (especialmente o HPV-16 e o HPV-18) é responsável por cerca de 70% dos cânceres cervicais.

No Brasil, o tipo HPV 16 é também o mais prevalente nos casos de carcinoma invasor e a presença de NICIII e confirma os resultados encontrados nessa pesquisa. No estudo realizado, a frequência encontrada foi de (15%) para HPV Alto Risco, sendo que desses (13,2%) foram referentes ao HPV **16** e (1,8%), ao HPV **18**, apresentando uma estimativa inferior cerca da metade do valor estimado pela literatura citada (32%), porém ela é explicada por diferenças metodológicas e regionais no diagnóstico do HPV, bem como por variações de estimativa em si, o que se aproxima ao estudo feito por Nonnenmacher *et al.* em 2002, utilizando PCR, encontrou uma frequência de 16% HPV DNA em mulheres.

Um exemplo dessas diferenças metodológicas foi a pesquisa feita com a técnica PCR utilizando os pares de oligonucleotídeos MY09/MY11 e GP5/GP6 e a técnica Nested (n PCR) com pares MY/GP, com a utilização dos oligonucleotídeos MY09/MY11, onde foi detectado 26,3% do DNA do HPV, na técnica PCR, sendo que a Nested (n PCR) esta capacidade de detecção aumentou para 84,2% nestes espécimes, nos casos de citologia esfoliativa com alterações patológicas.

Em âmbito nacional estudos descrevem o HPV **58** como o segundo mais frequente em Natal e em Caxias do Sul, enquanto no Rio de Janeiro o segundo mais observado foi o HPV **31** e em Ouro Preto, o HPV **61**. No estudo de revisão na região Sudeste, o segundo tipo de HPV mais comum variou entre o **18, 31 e 35**, a depender da técnica utilizada.

Estudos nacionais registraram o perfil de prevalência da infecção por HPV, semelhante aos países subdesenvolvidos: 17,8% (HPV**31**) a 27% (HPV**34**), com uma prevalência mais elevada em mulheres com faixa etária abaixo de 35 anos; a partir dos 35 até 65 anos, as taxas permanecem de 12 a 15%, o que não ocorreu nesse estudo, em que o perfil socio demográfico quanto à idade, por terem em média de 40 anos (DP=13) anos, e a frequência de positividade para pelo menos um HPV oncogênico na população da unidade referenciada (CICAN) foi elevada na amostra estudada 35,1%, igual a prevalência encontrada no estudo multicêntrico realizado em seis capitais brasileiras, a investigação através de captura híbrida II, a prevalência de HPV encontrada em gestantes foi de 35,3%.

Quando analisamos os tipos virais oncogênicos pesquisados, nosso estudo achou uma frequência de 15% HPV de alto risco, sendo que no estudo multicêntrico 13,5% eram HPV de alto risco e 30,0% HPV de baixo risco. Nesse estudo multicêntrico foi identificado como um dos fatores de risco a associação com infecção pela *Chlamydia trachomatis* nas gestantes.

Estudos multicêntricos confirmaram a presença do DNA do Papiloma vírus humano em quase 100% dos epitélios dos carcinomas invasivos, levando à tese mundialmente aceita de que a infecção pelo vírus HPV é “causa necessária para o desenvolvimento do carcinoma invasivo”. Casos de carcinomas sem a presença do vírus HPV são raros e supõe-se, nestas situações, que o carcinoma não foi originado pela infecção viral ou possa ter ocorrido falha na detecção do vírus HPV.

Em estudo realizado na Bahia por em 2004, foram avaliados os tipos de HPV em 55 mulheres acompanhadas em serviços de referência em Patologia Cervical. Neste estudo, a positividade para o HPV através de PCR, em mulheres infectadas pelo HIV foi de 100%. Identificou-se que estas apresentavam um maior número de tipos virais que as pacientes não infectadas pelo HIV. Os tipos encontrados mais frequentes foram **16,52 e 56** em mulheres infectadas e **16,52 e 58** em mulheres não infectadas.

A co-infecção do HPV e HIV são investigadas desde o início da epidemia de AIDS. A diminuição de resposta imunológica de Células Th1 causada pela destruição de linfócitos T CD4 pelo vírus HIV facilita a infecção e persistência do HPV. O uso de Terapia anti retroviral (HAART) não parece mudar a evolução das lesões precursoras do câncer cervical nem eliminar o HPV nas mulheres infectadas pelo HIV, sendo necessário manter a vigilância.

Em comparação absoluta da frequência da positividade e negatividade provenientes da citologia, em relação à frequência da positividade e negatividade do PCR no diagnóstico do HPV foram encontradas n= 23 mulheres positivas para NICII e n= 25 mulheres positivas para NICIII, totalizando n=40 mulheres.

Já em comparação absoluta da frequência da positividade e negatividade oriundas da colposcopia em relação à frequência da positividade e negatividade do PCR no diagnóstico do HPV foram encontradas n=15 mulheres positivas para ZTA; n= 4 mulheres positivas para ZTII; n = 7 mulheres positivas para ZTIII no total n=40 mulheres.

Na distribuição do perfil socio demográfico das mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II de acordo com a frequência de HPV oncogênico encontrou-se um percentual de 92,5 % para atividade sexual ; para o consumo de bebida alcoólica 35,0 % ; visualizando-se 22,5% para o hábito de fumar. Apesar de não haver associação estatística entre faixa etária e positividade, percebe-se que à medida que a idade aumenta, a cada dez anos há uma redução na frequência da positividade, o que vêm ratificar a literatura, sendo o câncer de colo de útero raro em mulheres até 30 anos e o pico de sua incidência se dá na faixa etária de 45 a 50 anos.

A mortalidade aumenta progressivamente a partir da quarta década de vida, com expressivas diferenças regionais.

Nesse estudo não houve associação estatística entre os grupos, a única associação estatística encontrada, porém discreta foi no hábito de fumar ([ 0,2 - 0,5] ), e a frequência da positividade.

Observamos que apesar da positividade passar de 21,4% (nenhum parceiro anterior) para 40,0% (1 ou mais de 1 parceiro anterior), a associação estatística foi ausente ([0-0,2]).

Ao serem analisados os indicadores de acurácia, observou-se porcentagens elevadas de falsos negativos tanto para a citologia (Papanicolaou), quanto para a colposcopia, devido à sua baixa sensibilidade, relativamente ao PCR como padrão ouro. Tanto os indicadores de frequência, quanto de acurácia da citologia em relação ao PCR, quando comparados NIC II com NIC III, para ambos, a citologia é mais específica (79,7%).

Comparando os resultados da citologia oncológica com os achados da genotipagem (PCR), obteve-se um valor preditivo positivo: Sensibilidade de 57,5% para NIC II e 62,5 % para NIC III com um valor elevado de falso negativo (42,5 % e 37,5% respectivamente), e com 20,3% de falso positivo para ambas.

Ao associar os resultados da Colposcopia com os achados da genotipagem (PCR), obteve-se um valor preditivo positivo para os graus de alterações nas Zonas de Transformação com: Sensibilidade para ZTII; ZT III ; e ZTA (10%; 17,5% e 37,5 %), apresentando valores falso negativo de : (90%; 82,5% e 62,5 % respectivamente). E para ambas ZT II e ZT III a Colposcopia é mais específica (acima de 90%), do que sensível (abaixo de 18%).

Na colposcopia das mulheres diagnosticadas com pelo menos NIC II, na junção escamo colunar se observa que 51% possuíam zona de transformação normal, ZT I componente completamente ectocervical e visível de pequena ou grande extensão. Apresentou cerca de 30% das mulheres com zona de transformação anormal, destas 19,3% delas tinham componente endocervical completamente visível ou possuíam componente endocervical não completamente visível, com possibilidade de ter componente ectocervical de pequena ou grande extensão, ZTII 7,9% e ZT III 11,4 % respectivamente.

Este estudo trouxe conhecimentos e informações relevantes sobre os desfechos e frequência do HPV, que são requisitos essenciais para fortalecer a vigilância dos dados epidemiológicos do HPV, na população baiana estudada, relacionando com os dados demográficos. Estudos realizados com esta técnica sugerem que a genotipagem do HPV presente no trato genital poderia ser um importante indicador prognóstico para o carcinoma de colo uterino.

Nosso estudo, apesar da técnica PCR utilizada (a) apresentar maior acurácia comprovadamente em relação à citologia e à colposcopia, (b) de ser um teste confirmatório junto a outros testes de biologia molecular, principalmente em pesquisas, especialmente como padrão ouro para comprovar ou não a existência do DNA do HPV, (c) e de poder detectar precocemente pacientes com lesão alto grau e com predisposição a desenvolver câncer de colo de útero (CCU), teve limitações na metodologia, pois identifica especificamente os tipos HPV **16** e HPV **18**, enquanto detecta simultaneamente os outros tipos de alto risco por níveis de infecção clinicamente relevantes, no tamanho amostral; também por ser uma população referenciada apresenta essa estimativa expressiva em lesão alto grau, servindo como indicador para a busca de mais estudos e conhecimentos nas especificidades dessas populações, já que existe a disponibilidade de sequências genômicas, com mais de 118 tipos de HPV, o que permite o rastreo dos HPV oncogênicos de uma ampla variedade de tipo de HPV, para que se possa inferir associações de diferentes tipos de HPV de forma abrangente, que venham efetivamente favorecer o aprimoramento do tratamento, na acurácia e na eficácia dos métodos diagnósticos laboratoriais, vacinas e novas tecnologias.

Confirmamos que no diagnóstico da infecção por HPV nenhuma metodologia é soberana: levam-se em conta os dados da história, exame físico e exames complementares com a pesquisa direta do vírus ou indiretamente através das alterações provocadas pela infecção nas células e no tecido.

A concordância dos resultados prévios das citologias oncóticas (Papanicolaou), método de *screening* (triagem), das colposcopias, com os resultados dos testes moleculares para HPV, que apresentam uma maior acurácia, propiciará uma rápida intervenção diagnóstica, além de identificar e priorizar mulheres com elevado risco de desenvolvimento de câncer de colo; assim, os citados exames constituem uma indispensável ferramenta como medida de prevenção e controle da doença.

Devido aos resultados falsos positivos nos exames citológicos - que podem levar a exames colposcópicos desnecessários, a biópsias e tratamentos ablacional (excisão), elevando os custos com saúde e morbidade - e à escassez de estudos que conheçam a frequência de mulheres com lesão de alto grau (ASC H) - atendidas em programas públicos de saúde, o que dificulta o planejamento adequado de medidas de prevenção e intervenção em saúde coletiva - recomenda-se a implantação do diagnóstico de rotina HPV DNA por reação em cadeia de polimerase (PCR); trata-se, de uma técnica mais assertiva e de maior acurácia, com alta sensibilidade e especificidade, superior à técnica de citologia cervical (Papanicolaou) para a detecção de doença alto grau (ASC H), que deverá aumentar significativamente a eficácia dos programas de rastreio do câncer cervical.

## **9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO**

A população inicial do estudo foi constituída por 154 mulheres, as quais tiveram genotipagem positiva para um ou mais tipos de HPV e eram provenientes do estado da Bahia. Deste contingente, não tivemos acesso aos dados de 22 mulheres, pois ocorreu suspensão da coleta de dados realizadas pela pesquisadora, devido à pandemia do Sars CoV2 , há 10 meses, sendo que 15 das mulheres não tiveram prontuários, o que inviabilizou a pesquisa, 2 mulheres estavam em duplicidade e 1 obteve resultado do PCR indeterminado.

## 10 CONCLUSÃO

- A pesquisa observou uma frequência alta para HPV oncogênico nas amostras estudadas.
- A infecção por HPV oncogênico foi inversamente proporcional à idade das pacientes, em acordo com os dados da literatura. Também foi encontrada uma positividade maior em mulheres com hábito de fumar.
- A colposcopia e a citologia foram mais específicas do que sensíveis e apresentaram baixos valores preditivos positivo e negativo, quando comparadas à técnica molecular HPV DNA PCR.
- O reconhecimento da presença e dos tipos de HPV oncogênico pela implementação do método PCR como rotina laboratorial na saúde pública do Estado da Bahia levará a reduzir o número de citologia falso negativa. Esta medida acarretará melhor acurácia no diagnóstico da infecção.



## REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2016: incidência do câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2015. 126 p. Disponível em: [santa.casa.dermatoazulay.com.br/wp-content/uploads/2017/06/estimativa-2016-v11.pdf](http://santa.casa.dermatoazulay.com.br/wp-content/uploads/2017/06/estimativa-2016-v11.pdf). Acesso em: 2015 dez 20.
2. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Globocan; Instituto Nacional de Câncer Estimativa 2020. Incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2020. Acesso em: 10 fev. 2020.
3. Instituto Nacional de Câncer. Atlas da mortalidade. Rio de Janeiro: INCA; 2020. Acesso em: 10 fev. 2020.
4. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012: estimated cancer incidence mortality and prevalence worldwide in 2012. WHO, 2012. Disponível em: <http://globocan.iarc.fr/>.
5. De San José S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *The Lancet Infectious*. Jul. 2007; 7 (7): 453-9. doi: 10.1016 / S1473-3099 (07) 70158-5.
6. De San José, Set. al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet Oncology*. Nov. 2010; 11:1048- 56.
7. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Review: molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol* 2005; 32(suppl. 1):S43.51.
8. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, for colposcopy and cervical pathology, and American society for clinical pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer CA. *CA Cancer J Clin* 2012; 62(3):147-72. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21139/pdf>.
9. Zur Hausen H, De Villiers EM. Human papillomavirus. *Annu Rev. Microbiol* 1994; 48:427 -47.
10. Iarc monographs on the valuation of carcinogenic risks to humans. International Agency for Research on Cancer. Geneva: Who Press; 2007. v. 90.

11. Pillai MR, Lakshmi S, Sreekala S, Devi TG, Jayaprakash PG, Rajalakshmi TN et al. High-risk human papillomavirus infection and e 6 protein expression. In: Lesions of the uterine cervix. Pathobiology. 1998; 66(5): 240-6.
12. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, et al. The elevated 10 year risk of cervical pre cancer and cancer in women with Human Papillomavirus (HPV) type 16 Or 18 and the possible utility of type specific hpv testing and clinical practice. J natl cancer inst 2005; 97(14):1072-9.
13. Stoler Mark H, Junior Wright TC, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL. High-risk Human Papillomavirus testing in women with ASC- US cytology: results from the ATHENA HPV study. Am J Clin Pathol 2011; 135(3):468-75.
14. Van Dergraaf, Y. *et al.* Human papillomavirus and the long-term risk of cervical neoplasia. Am. J. Epidemiol. Baltimore. 2002;56:158-64.
15. Nonnenmacher B. *et al.* Identificação do papiloma vírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. Rev. Saúde Pública, São Paulo. 2002;36:95-100.
16. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. J Infect Dis. 2010;202(12):1789-99.
17. Medeiros Fernandes TA, de Vasconcellos Meissner R, Bezerra LF, Azevedo PR, Fernandes JV. Human papillomavirus infection in women attended at a cervical cancer screening service in Natal, Brazil. Braz J Microbiol. 2008;39(3):573-8.
18. Paesi S, Serafini EP, Barea F, Madi SR, Echeverrigaray S. High prevalence of human papillomavirus type 58 in patients with cervical pre-malignant lesions in southern Brazil. J Med Virol .2009;81(7):1270-5.
19. Miranda PM, Pitol BC, Moran MS, Silva NN, Felix PM, Lima-Filho JL et al. Human papillomavirus infection in Brazilian women with normal cervical cytology. Genet Mol Res. 2012;11(2):1752-61.
20. Evander et al. Comparison of a one-step and a two-step polymerase chain reaction with degenerate general primers in a population based study of human papillomavirus infection in young Swedish women. J Clin Microbiol. 1992;30:987-92.
21. Husnjak K et al. Comparison of five different polymerase chain reaction methods for detection of human papillomavirus in cervical cell specimens. J Virol Methods. 2000;88(2):125-34.

22. Demathe A et al. Comparação entre dois métodos de detecção de DNA de Papiloma vírus humano em carcinoma epidermoide de lábio. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, Rio de Janeiro. 2010;46(2):85-90.
23. Michelli E. et al. Comparative analysis of three methods for HPV DNA detection in cervical samples. *Invest Clin.*, Granada. 2011;52(4):344-57.
24. Nonogaki S. et al. Hybrid capture II and polymerase chain reaction for identifying HPV infections in samples collected in a new collection medium: a comparison. *Acta Cytol.* 2004;48:514-20.
25. Barros NKS, Costa MC, Alves RR, Villa LL, Derchain SF, Zeferino LC, et al. Association of HPV infection and Chlamydia trachomatis seropositivity in cases of cervical neoplasia in Midwest Brazil. *J Med Virol*, 2012;84(7):1143-50.
26. Eluf-Neto J, Booth M, Muñoz N, Bosch FX, Meijer CJ, Walboomers JM. Human papillomavirus and invasive cancer in Brazil. *Br J Cancer*, 1994;69(1):114-9.
27. Krambeck WM, Cadidé RM, Dalmarco EM, de Cordova CM. HPV detection and genotyping as an earlier approach in cervical cancer screening of the female genital tract. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 2008;35(3):175-8.
28. Ribeiro AA, Figueiredo Alves RR, Costa MC, Villa LL, Zeferino LC, Mauricette Derchain SF et al. Association between HPV types and species groups and cervical neoplasia from a high-risk area for cervical cancer, Goiânia, Brazil. *Int J Gynecol Pathol*, 2011;30(3):288-94.
29. Nunes JDC, Monteiro SCM, Vidal FCB, Brito LMO. Identificação molecular do HPV em infecções do colo uterino no Brasil: revisão. *Femina*, 2013; 41(2):93-8.
30. Wright Jr TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis*. 2007; 11(4): 201 222 62-1151
31. Rama CH, Roteli-Martins CM, Derchain SFM, Longatto-Filho A, Gontijo RC, Sarian LOZ, et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para câncer cervical. *Rev Saúde Pública*. 2008;42(1):123-30.
32. Rabelo-Santos SH, Zeferino L, Villa LL, Sobrinho JP, Amaral RG, Magalhães AV. Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiânia, Brazil. *MemInst. Oswaldo Cruz*, 2003; 98:181-4.

33. Pitta DR, Sarian LO, Campos EA, Rabelo-Santos SH, Syrjänen Kari, DSF. Phylogenetic classification of human papillomavirus genotypes high-grade cervical intraepithelialneoplasia in women from a densely populated Brazilian urban region. *São Paulo Med. J.*, 2009; 127(3): 122-7.
34. Solomon D, Ritu N. Sistema bethesda para citopatologia cervicovaginal: definições, critérios e notas explicativas. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2005.
35. Meisels A, Fortin R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns *Acta Cytol.*1976; 20:505-9.
36. Cox JT, Castle PE, Behrens CM, Sharma A, Wright Junior RC, Cuzick J et al. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the athena HPV study. *Am J Obstet Gynecology* 2012; 208(3):1-184.
37. Virus Taxonomy Portal. Viral bioinformatics resource center & viral bioinformatics - Canada. Disponível em: <http://athena.bioc.uvic.ca/bioDoc/cuptionclass/virus-taxonomy>"Virus Taxonomy Portal."
38. De Villers, E. M. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*, v. 445, n. 1-2, p. 2-10, Oct 2013. ISSN 1096-0341. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23683837> >
39. Doobar, J. et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, v. 30 Suppl 5, p. F55-70, Nov 2012. ISSN 1873-2518. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23199966>>
40. Chang F. Role of papillomaviruses. *J Clin Pathol* 1990; 43(4):269-76.
41. Brown DR, Fife KH. Human papillomavirus infections of the genital tract. *Med Clin North Am* 1990; 74:1455-85.
42. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer de colo de útero. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: INCA; 2016.
43. The 2011- IFCPC nomenclature was developed by Prof. Jacob Bornstein with the help of the Nomenclature Committee. It was accepted by the, 23 de nov. de 2017.

44. Carmo, E. F. S. do; Fiorini, A. Principais Técnicas Moleculares Para Detecção Do Papiloma vírus Humano. SaBios-Revista de Saúde e Biologia, v. 2, n. 1, p. 29–31, 2007.
45. Bringhenti M E Z et al. Cervical cancer prevention: association of new techniques of molecular biology with the oncotoc cytology in detection of human papillomavirus (HPV). DST J. Bras. Doenças Sex. Transm., Rio de Janeiro. 2010; 22(3):135-40.
46. Ayre JE. The vaginal smear: “precancer” cell studies using a modified technique. Am j obstet gynecol 1949; 58:1205-19.
47. Walboomers JM, Roda Husman AM, Snijders PJ, Stel HV, Risse EK, Helmerhorst TJ et al. Human papillomavirus in false negative archival cervical smears: implications for screening for cervical cancer. J Clin Pathol. 1995; 48(8):728-32.
48. Galvane JO, Roteli-Martins C, Tadini V. Achados da inspeção visual com ácido acético para rastreamento de câncer do colo uterino. DST J Bras Doenças Sex Transm 2002; 14:43-5.
49. Egawa N, Doorbar J. The low-risk papillomaviruses. Virus Res. Mar. 2017; 231:119-27. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28040475>
50. Kadaja M, Isok-Paas H, Laos T, Ustav E, Ustav M. Mechanism of genomic instability in cells infected with the high-risk human papillomaviruses PLoS Pathog. Apr. 2009; 5 (4):e1000397
51. Schoell WM, Janicek MF, Mirhashemi R. Epidemiology and biology of cervical cancer. Semin Surg Oncol 1999; 16:203-11.
52. Doorbar, J. The papillomavirus life cycle. J Clin Virol. Mar. 2005; 32(Suppl 1): S7-15. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15753007>.
53. Schiffman, M. et al. Carcinogenic human papillomavirus infection. Nat Rev Dis Primers, v. 2, p. 16086, 12 2016. ISSN 2056-676X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27905473>
54. De San José S et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. The Lancet infectious diseases, New York. 2007; 7(7):453-9.

55. McBride AA, Warburton A. The role of integration in oncogenic progression of HPV-associated cancers. Apr. 2017.doi: 10.1371/ journal.ppat.1006211
56. Brasil .Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações. Guia prático sobre HPV perguntas e respostas. Brasília: 2017.
57. Dallabrida FA, Loro MM, Rosanelli CLSP, Souza MM de, Gomes JS, Kolankiewicz ACB. Qualidade de vida de mulheres tratadas por câncer do colo de câncer de colo. Revista RENE. Jan, Feb. 2014; 15(1):116-22.
- 58 Peñaloza-plascencia M, Montoya-Fuentes H, Flores-Martínez SE, Fierro-Velasco FJ, Peñaloza-González JM, Sánchez-Corona J. Molecular identification of 7 human papillomavirus types in recurrent respiratory papillomatosis. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2000; 126:1119-23.
59. Schneider A, Meinhardt G, De-Villiers EM, Gissmann L. Sensitivity of the cytologic diagnosis of cervical condyloma in comparison with HPV DNA hybridization studies. Diagn cytopathol .1987;3(3):250-5.
60. Rastreio de lesões precursoras do câncer de colo de útero, foi a demonstração da relação entre o HPV (papiloma vírus humano) e o ser submetidas ao rastreio citológico de forma mais frequente .(USA/CDC, 2006).
61. Santos N B et al. Epstein-Barr virus detection in invasive and pre-invasive lesions of the uterine cervix. Oncol Rep.2009;21(2):403-59.
62. Sasagawa T et al. Epstein-Barr virus (EBV) genes expression in cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer: a comparative study with human papillomavirus (HPV) infection. Hum Pathol.2000;31(3):318-26.
63. Marin J, Ursic-Vrscaj M, Erzen M. Detection of human papillomaviruses (HPV-16,18) in cervical smears by in situ hybridization. Isr J Med Sci. 1994; 30:448-50.
64. Wolschick N M et al. Câncer de colo de útero: tecnologias emergentes no diagnóstico, tratamento e prevenção da doença. Rev. Bras. Anal. Clin 2007;39(2):123-9.
65. Bagarelli L B, Oliani A H. Tipagem e estado físico de papiloma vírus humano por hibridização in situ em lesões intra-epiteliais do colo uterino. Rev Bras Ginecol Obstet. 2004; 26(1):59-64.

66. Piva, M. R. et al. Detecção de HPV em lesões orais através da Técnica de Hibridização in Situ. *Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilar Facial, Camaragibe*, v. 8, n. 4, p.6168, Out/dez.2008. Disponível em: <http://www.revistacirurgiabmf.com/2008/V8n4/08%2020detecção%20de%20HPV%20corrigido.pdf>. Acesso: 16 mai. 2013.
67. Abramowitz L. et al. Anal squamous intraepithelial lesions and condyloma in HIV-infected heterosexual men, homosexual men and women: prevalence and associated factors. *AIDS*.2007; 21(11):1457-65. 2.
68. Jamieson D J et al. HIV Epidemiology Research Study Group. Vulvar, vaginal, and peri anal intraepithelial, neoplasia in women with or at risk for human immunodeficiency virus. *Obstet Gynecol*. 2006;107(5):1023-8.
69. Kreuter A et al. Clinical spectrum and virologic characteristics of anal intraepithelial neoplasia in HIV infection. *J Am Acad Dermatol*.2005; 52(4):603-8.
70. Marais, D. J. et al. Cervical and oral human papillomavirus types in HIV-1 positive and negative women with cervical disease in South Africa. *J Med Virol*.2008;80(6):953-9.
71. Delecuse H J et al. Epstein-Barr virus-associated tumours: an update for the attention of the working pathologist. *J Clin Pathol*. 2007;60(12):1358-64.
- 72 .Enbom M et al. Detection of Epstein -Barr virus, but not human herpesvirus 8, DNA in cervical secretions from Swedish women by real-time polymerase chain reaction. *Sex Transm Dis*.2001; 28(5):300-6.
73. Tavares S B N et al. Controle de qualidade em citopatologia cervical. *Rev. Bras. Cancerol*.2007;53(3):355-64. Disponível em: [http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_53/v03/pdf/revisao6.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_53/v03/pdf/revisao6.pdf). Acesso em: 15 ago. 2011.
74. Boccardo E, Villa L. Viral origins of human cancer. *Curr Med Chem*. 2007;14(24): 2526-39, 2007. 5.
75. Grandilone A et al. Prevalence of human papillomavirus, cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus in the cervix of healthy women. *J Med Virol*, 1996;50(1):1-4.
76. Sobhani I et al. Anal carcinoma: incidence and effect of cumulative infections. *AIDS*.2004;18(11):1561-9.
77. Voog E et al. Prevalence of Epstein-Barr virus and human papillomavirus in cervical samples from women attending an STD-clinic. *Int J Std Aids*.1995;6(3):208-10.

78. Bennets L E et al. Associations of anogenital low-risk human papillomavirus infection with cancer and acquisition of HIV. *Sex Transm Dis.* Oct.2005; 42(10):541-4. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26372925> .
79. Anic G M et al. Risk factors for Incident condiloma in a multinational cohort of men: the HIM study. *J Infec Diseases.* Mar. 2002; 205(5):789-93.
80. Ball S L et al. Analyses of human papillomavirus genotypes and viral loads in anogenital warts. *J Med Virol.* Aug.2011; 83(8):1345-50. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21678438> .
81. Kumala S M et al. Human papillomavirus testing with the hybrid capture 2 assay and PCR as screening tools. *J Clin Microbiol.* 2004;42:2470-5.
82. Moberg M, Gustavsson I. Gillesten PCR-based system for simultaneous quantification of human papillomavirus types associated with high risk of cervical cancer. *J Clin Microbiol.* 2003;25(5):311-6.
83. Lonky N. M. Triage of atypical squamous cells of undetermined significance with hybrid capture II: colposcopy and histologic human papillomavirus correlation. *Obstet Gynecol.* 2003;101:481-9. 15. Lorincz
84. Schemeler, K. M.; Sturgis, E. M. Expanding the benefits of HPV vaccination to boys and men. *Lancet*, v. 387, n. 10030, p. 1798-9, Apr 2016. ISSN 1474-547X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27203488>.
85. Giuliano A R et al. Incidence and clearance of genital human papillomavirus infection in men (HIM): a cohort study. *Lancet.* Mar2011;377( 9769): 932-40. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21367446>.
86. Nomenclatura citológica brasileira- inflamação acentuada ou alterações celulares escamosas reativas, realizar nova coleta em três meses, após tratamento adequado. (USA/CDC, 1998; USA/USPHS/IDSA, 1999)
87. Nomelin R S et al. Utilization of human papillomavirus testing for cervical cancer prevention in a university hospital. *Cad. Saúde Pública.* 2007;23(6):1309-1
88. Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira , superior conforme dados do Censo da Educação Superior 2016 (INEP, uma vez que o plano amostral foi não probabilístico (sem sorteio), dado que toda a amostragem de interesse foi incluída no estudo (Ludwig, 2005; Wasserstein;. Lazar, 2016).



89. Cohen1988; Ferguson, 2009). Cervical Cancer Screening Programs in Europe: The Transition Towards HPV Vaccination and Population-Based HPV Testing.
90. Rocha, G. A.; Melo, V. H. Biologia molecular no rastreamento das neoplasias cervicais uterinas. *Femina*, [S.l.]v.38,n.3,p.167-172Mar2010. Disponível em: [http://www.febrasgo.org.br/arquivos/femina2010/fevereiro/Femina\\_v38\\_n3/Femina-v38n3\\_p167-72.pdf](http://www.febrasgo.org.br/arquivos/femina2010/fevereiro/Femina_v38_n3/Femina-v38n3_p167-72.pdf). Acesso em: 30 nov. 2012.
91. Guildani, I. C.; Tufik, S. Uso de microarrays na busca de perfis de expressão gênica – aplicação no estudo de fenótipos complexos. **Rev. Bras. Psiquiat.**, São Paulo, v.29, n. 4, p.370-374, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-44462007000400014](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462007000400014). Acesso em: 03 ago. 2011.
92. Vidal, F. C. B. et al. Análise crítica dos métodos moleculares para detecção do papiloma vírus humano: revisão de literatura. *FEMINA*, [S.I.] v.40. n. 5. p. 263 – 267.Set/Out 2012. Disponível em: [http://itarget.com.br/clients/febrasgo.org.br/arquivos/revista%20femina/Femina\\_40\\_05/263.pdf](http://itarget.com.br/clients/febrasgo.org.br/arquivos/revista%20femina/Femina_40_05/263.pdf). Acesso em: 16 mai. 2013.
93. Queiroz, C, AG Travassos, E Studart, JB Araújo Filho, CK Sarno, and CC Pinheiro. 2004. “Prevalence of Human Papilloma Virus in HIV-positive and HIV-negative Patients in the State of Bahia: a Pilot Study.” *Brazilian Journal of Infections Diseases* 8 (5) (October): 356–62. doi:S1413-86702004000500004.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15798811>.
94. Infecções e lesões refratárias à eliminação espontânea (Stanley, 2010). A ação ... célula transformada e promovendo a progressão tumoral (Yuan et al., 2012). Stanley M, Pinto LA, Trimble C Human papillomavirus .
95. Manawapat A. et al. Physical state and viral load as predictive biomarkers for persistence and progression of HPV16-positive cervical lesions: results from a population based long-term prospective cohort study. *Am J Cancer Res*, v. 2, n. 2, p. 192-203, 2012.. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22432058> .
96. Grabowska A.K, Riemer A B. The invisible enemy - how human papillomaviruses avoid recognition and clearance by the host immune system. *Open VirolJ*,v.6,p.249-56,2012.ISSN1874-3579. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23341860> . Graham, S. V. The human papillomavirus replicat.
97. HPV em mais de 99,7% dos casos, do epitélio estratificado, na camada basal e servem de reservatório de DNA viral para as posteriores integrações e infecções. Stubenrauch F, Laimins LA.

98. Cai, Q. et al. Human papillomavirus early proteins and apoptosis. *Arch Gynecol Obstet*, v. 287, n. 3, p. 541-8, Mar 2013. ISSN 1432-0711. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23263171> .

<b>APÊNDICE - FICHA DE INVESTIGAÇÃO</b>			
<b>IDENTIFICAÇÃO E DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS</b>			
<b>INSTITUIÇÃO:</b>		<b>Cód. CNES:</b>	
<b>PACIENTE:</b>		<b>DATA NASCIMENTO:</b>	<b>REGISTRO:</b>
<b>NOME DA MÃE:</b>			<b>DATA:</b>
<b>SEXO:</b>		<b>Nº IDENTIDADE:</b>	
<b>ENDEREÇO:</b>		<b>CNS do Paciente:</b>	
<b>TELEFONE:</b>			
<b>ESTADO CIVIL:</b> CASADO ( ) SOLTEIRO ( ) DIVORCIADO ( ) DESQUITADO ( ) VIÚVO ( ) OUTROS _____			
<b>RAÇA AUTOREFERIDA:</b> PRETA ( ) BRANCA ( ) PARDA ( ) AMARELA ( ) INDIGÊNA ( ) SEM INFORMAÇÃO ( )			
IDADE DO INICIO SEXUAL		SIM ( ) IDADE:	
VIDA SEXUAL ATIVA		SIM ( ) Nº de Parceiros: NÃO ( )	
GESTAÇÕES		SIM ( ) Nº de Gestações : NÃO ( )	
<b>ANTECEDENTES FAMILIARES ( Histórico de Câncer )</b> SIM ( ) Quais : NÃO ( )			
<b>HÁBITOS: FUMANTE:</b> SIM ( ) NÃO ( )			
<b>USO DE PRESERVATIVO:</b> SIM ( ) NÃO ( )			
<b>AVALIAÇÃO LÍNICO / LABORATORIAL</b>		<b>EXAME PREVENTIVO</b>	
SIM ( ) NÃO ( )		SIM ( ) DATA : NÃO ( )	
<b>VACINAÇÃO HPV</b> SIM ( ) DATA :		NÃO ( )	
<b>ANTECEDENTES PATOLÓGICOS NAS DST: (HPV, HIV, HCV, CLAMIDIA, HERPES, HTLV, EPSTEIN BAAR, NEISSERIA GONORRHOEAE)</b> SIM ( ) Quais : NÃO ( )			
<b>EXAME CITOLOGIA ONCÓTICA (PAPANICOLAOU)</b>			
<b>EXAME COLPOSCOPIA – EXAME (PCR / DNA HPV - Reação em Cadeia de Polimerase) –</b>			

## ANEXO A - Tipologia do Câncer de Colo do Útero

Classificação dos tumores do colo do câncer do câncer de colo, segundo o período do seu desenvolvimento ou estágio da doença.

Critérios adotados para realização do **Sistema Bethesda**:

**NIC I** – Neoplasia Intraepitelial Cervical com graduação I

**NIC II** - Neoplasia Intraepitelial Cervical com graduação II

**NICIII**- Neoplasia Intreptelial Cervical com graduação III

**LSIL**- Lesão Intraepitelial Escamosa Baixo Grau

**HSIL**- Lesão Intraepitelial Escamosa Alto Grau

**SIL**- Lesão Intraepitelial Escamosa Indeterminado

(Quando não é possível determinar o grau)

**ASC US** - Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado

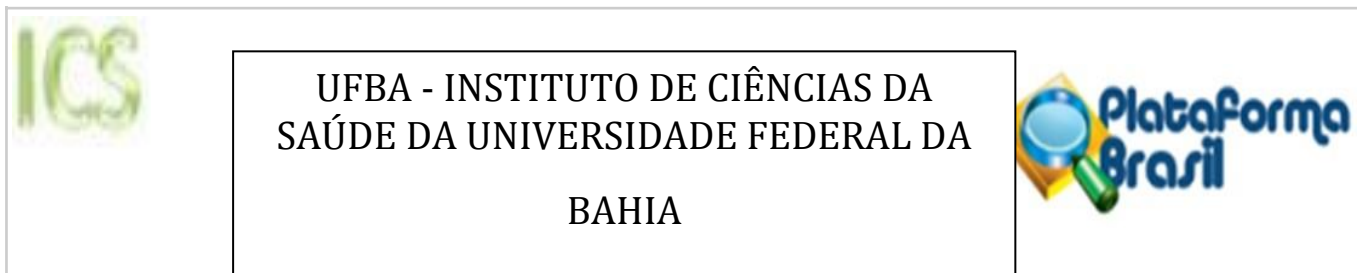
(Não sendo possível excluir uma LSIL)

**ASC H** - Células Escamosas Atípicas

(Não sendo possível excluir uma HSIL)

As lesões intraepiteliais alto grau ASC H- HSIL abrangem os diagnósticos de NIC II e III (neoplasia intraepitelial cervical com graduação), que são os precursores do câncer cervical.

As lesões intraepiteliais alto grau se caracterizam: HSIL por células pleomórficas (fusiformes, caudadas e girino); apresentam um tipo mais imaturo e abundante de citoplasma que pode ser tanto entrelaçado, como denso metaplásico com limites celulares arredondados, alta proporção núcleo/citoplasma). As lesões intraepiteliais de baixo grau que se caracterizam: LSIL por um aumento nuclear de pelo menos três vezes a área de um núcleo celular intermediário, envolvendo células escamosas com citoplasma maduro intermediário ou superficial com bordas celulares poligonais bem definidas. <sup>(34)</sup>

**ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** FREQUÊNCIA DE HPV S ONCOGÊNICOS NO COLO DO CÂNCER DE COLO NO CIGAN/BA EM 2018 / 2019

**Pesquisador:** MARTA SORAIA LIMA MENESES

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 06905518.0.0000.5662

**Instituição Proponente:** Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.186.092

**Apresentação do Projeto:**

"América Latina caracteriza-se através de expressiva urbanização junto aos países em desenvolvimento, com pobreza urbana em relação aos diagnósticos laboratoriais, na realização de exames preventivos, na mudança na condição nutricional pela industrialização, na mudança de comportamento de vida, o que desencadeou uma elevação nas taxas de incidência de tumores associados com essa pobreza tais como; o Câncer do colo de câncer de colo, pênis, verrugas ano genitais, cavidade oral, conjuntiva e outros. Com aproximadamente 530 mil casos novos por ano no mundo, o câncer de colo de útero é o terceiro tipo de câncer mais comum entre as mulheres, sendo responsável pelo óbito de 265 mil mulheres por ano, as maiores taxas de incidência e mortalidade concentram-se nas capitais das regiões norte e nordeste e centro

-oeste. O papiloma vírus (HPV), possui um intrínseco relacionamento com a carcinogênese cervical. Objetivo: no presente estudo procurara determinar a frequência de (HPV 16/18 +) , de alto risco oncogênicos, com persistência de infecção ,em mulheres portadoras de lesão intra-epitelial escamosa cervical de alto grau (NICIII), pela técnica de Biologia Molecular, visando a progressão do câncer cervical. Os genes E6 e E7 de alguns tipos de vírus HPV codificam proteínas que degradam o produto do p53. Essa metodologia, garante a detecção de uma lesão cervical atual (NIC II +) e permite a predição da progressão da doença (NIC III +). Método: O estudo será inquérito epidemiológico, genotipagem em 2000 mulheres sem limite de idade, atendidas no (CICAN/BA) com lesão intra-epitelial escamosa cervical de alto grau até carcinoma epidermóides invasoras do colo uterino, onde os exames vão ser executados, no laboratório de Análises Clínicas (LACEN/BA),com a aplicação da metodologia PCR, e posterior extração dos dados, através da pesquisadora do banco de dados do LACEN/BA, e prontuários físico do CICAN/BA, o que vai demonstrar uma comparável para a detecção de lesão cervical escamosa de alto grau de desempenho (NICIII). Em adição a outros fatores socio demográficos, levando a uma diminuição da incidência e mortalidade do cancro do colo do câncer de colo e dos seus precursores por HPV.Palavras-chave: HPV- Papiloma vírus Humano. JEC (Zona de Transformação do colo do câncer de colo). Mortalidade. Incidência. Prevenção. Câncer de colo de útero. Lesão intra -epitelial escamosa cervical de alto grau (NICIII). Laboratory Central Publich Health (LACEN/BA). Biologia Molecular. PCR (Reação em Cadeia de Polimerase / DNA HPV). Carcinogênese. Regiões brasileiras Norte. Nordeste. Centro-Oeste."

#### **Objetivo da Pesquisa:**

"Determinar a frequência dos HPVs oncogênicos, no Colo do Câncer de colo, no Centro de Oncologia da Bahia (CICAN) em 2018 / 2019."

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

"Vazamento de dados, pois o projeto extrairá os dados secundários dos prontuários.Medidas que serão adotadas:

- 1) os dados serão coletados apenas pela pesquisadora principal;
- 2) não serão coletados dados de identificação dos pacientes;
- 3) será adicionado um número sequencial na ficha de coleta que substitua o número do prontuário."

Benefícios:

"Não trará um benefício direto ao paciente, entretanto ao obter e analisar os resultados da pesquisa, poderão avaliar a concordância e a acurácia das metodologias para diagnóstico de HPV,e comparar o perfil socio demográficos, o que levará indiretamente à diminuição da incidência e mortalidade do Câncer de colo de útero e dos seus precursores na infecção do

HPV, e norteará aos gestores o planejamento adequado de medidas de prevenção e intervenção em saúde coletiva e conseqüentemente no monitoramento do alto custo do tratamento, e no aprimoramento da vacina do HPV."

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Sem comentários.

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

Em acordo com o CEP/ICS.

**Recomendações:**

Não há.

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

Considerando que as informações prestadas estão em consonância os preceitos éticos da pesquisa com seres humanos, o CEP/ICS é de parecer favorável à aprovação do projeto.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1060121.pdf	04/02/2019 12:25:19		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.PDF	29/11/2018 15:03:39	MARTA SORAIA LIMA MENESES	Aceito
Outros	docs.pdf	01/11/2018 13:51:44	MARTA SORAIA LIMA MENESES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	01/11/2018 13:51:08	MARTA SORAIA LIMA MENESES	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Continuação do Parecer: 3.186.092

SALVADOR, 07 de  
Março de 2019

Assinado por:

\_\_\_\_\_  
**Maria LúciaVaz Masson (Coordenador(a))**



Instituto de Ciências da Saúde  
Programa de Pós Graduação  
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas  
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100  
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>