



Prevalência de genótipos de alto risco em mulheres com diagnóstico positivo para Papilomavírus Humano (HPV)

Prevalence of high-risk genotypes in women with a positive diagnosis for Human Papillomavirus (HPV)

Perfil epidemiológico y prevalencia de genotipos de alto riesgo en mujeres con diagnóstico positivo para Papilomavirus Humano (HPV)

Greice Bozza¹, Silvane Nenê Portela¹, Giovana Paula Bonfanti Donato¹, Daniela Augustin Silveira¹, Ivana Loraine Lindemann¹, Jossimara Polettini¹, Gustavo Olszanski Acrani¹

RESUMO

Objetivo: Identificar o perfil epidemiológico e a prevalência de genótipos de alto risco em mulheres com diagnóstico positivo para Papilomavírus Humano (HPV) atendidas em ambulatório de ginecologia. **Métodos:** Estudo transversal realizado em um ambulatório especializado em Passo Fundo (RS) com mulheres acima de 18 anos não gestantes, atendidas no período de novembro de 2020 a maio de 2022. A coleta de dados foi feita por meio de questionário e exame ginecológico. Para pesquisa de HPV foi empregada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em amostras de conteúdo cérvico vaginal. **Resultados:** A amostra, (n=44), é caracterizada majoritariamente por mulheres com idade entre 31 e 59 anos (75%), em atividade remunerada (68,2%), brancas (68,2%), ativas sexualmente (88,6%), com relação conjugal estável (81,8%), sem o hábito de utilizar preservativo (89,7%), que realizam Papanicolau periodicamente (97,7%) e que não possuem neoplasia (86,4%). A prevalência de HPV de alto risco (16, 18, 31, 45 e 51) foi de 68,2% (IC95 54-83), sobressaindo-se o genótipo 45 (47,7%). **Conclusão:** Foi estabelecido o perfil da amostra estudada e determinada uma alta prevalência de HPV de alto risco. O estudo auxilia na criação de estratégias preventivas eficazes contra o câncer cervical.

Palavras-chave: Papilomavírus humano, Câncer do colo do útero, Reação em cadeia da polimerase, Exame papanicolau, Sistema único de saúde.

ABSTRACT

Objective: To identify the epidemiological profile and prevalence of high-risk genotypes in women with positive diagnosis for Human Papillomavirus (HPV) treated at a gynecology outpatient clinic. **Methods:** Cross-sectional study carried out in a specialized outpatient clinic in Passo Fundo (RS) with non-pregnant women over 18 years of age, seen from November 2020 to May 2022. Data collection was carried out using a questionnaire and gynecological examination. To research HPV, the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was used in samples of vaginal cervical content. **Results:** The sample, (n=44), is mainly characterized by women aged between 31 and 59 years old (75%), in paid employment (68.2%), white (68.2%), sexually active (88.6%), with a stable marital relationship (81.8%), without the habit of using condoms (89.7%), who undergo Pap smears periodically (97.7%) and who do not have cancer (86.4%). The prevalence of high-risk HPV (16, 18, 31, 45 and 51) was 68.2% (IC95 54-83), with genotype 45 standing out (47.7%). **Conclusion:** The profile of the studied sample was established and a high prevalence of high-risk HPV was determined. The study helps in creating effective preventive strategies against cervical cancer.

Keywords: Human papillomavirus, Cervical cancer, Polymerase chain reaction, Pap smear, Health unic system.

¹ Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Passo Fundo - RS.

RESUMEN

Objetivo: Identificar el perfil epidemiológico y la prevalencia de genotipos de alto riesgo en mujeres con diagnóstico positivo para Virus del Papiloma Humano (VPH) atendidas en un ambulatorio de ginecología.

Métodos: Estudio transversal realizado en un ambulatorio especializado de Passo Fundo (RS) con mujeres no embarazadas mayores de 18 años, atendidas entre noviembre de 2020 y mayo de 2022. La recolección de datos se realizó mediante cuestionario y examen ginecológico. Para investigar el VPH se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en muestras de contenido cervical vaginal. **Resultados:** La muestra, (n=44), se caracteriza principalmente por mujeres con edades entre 31 y 59 años (75%), ocupadas (68,2%), blancas (68,2%), sexualmente activas (88,6%), con relación conyugal estable (81,8%), sin hábito de uso de condón (89,7%), que se realizan la prueba de Papanicolaou periódicamente (97,7%) y que no padecen cáncer (86,4%). La prevalencia de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 45 y 51) fue de 68,2% (IC95 54-83), destacándose el genotipo 45 (47,7%). **Conclusión:** Se estableció el perfil de la muestra estudiada y se determinó una alta prevalencia de VPH de alto riesgo. El estudio ayuda a crear estrategias preventivas eficaces contra el cáncer de cuello uterino.

Palabras clave: Virus del papiloma humano, Cáncer de cuello uterino, Reacción en cadena de la polimerasa, Prueba de papanicolaou, Sistema único de salud.

INTRODUÇÃO

O câncer de colo de útero (CCU), também chamado de câncer cervical, é um grave problema de saúde pública. Apesar de ser altamente evitável, cerca de 311 mil óbitos/ano são decorrentes dessa neoplasia, o que representa 7,5% de todas as mortes femininas e configura o CCU como o quarto câncer mais prevalente em mulheres no mundo. No Brasil, o CCU é o terceiro câncer mais frequente entre as mulheres. Em 2019, 6.596 brasileiras foram a óbito por essa causa, representando uma taxa ajustada de mortalidade de 5,33/100 mil mulheres. Para cada ano do triênio 2020-2022, o número esperado de novos casos foi de 16.590, com um risco estimado de 15,43 casos a cada 100 mil mulheres (BRASIL, 2021; MIYAJI KT, et al., 2022).

Do total de casos de CCU, 99% são causados pelo Papilomavirus Humano (HPV), um vírus sexualmente transmissível. Atualmente, são identificados mais de 200 tipos de HPV, sendo que desses, aproximadamente 40 possuem tropismo pelo trato anogenital. Eles são divididos de acordo com seu potencial oncogênico e classificados como de baixo risco (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81) e de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82). Os tipos 26, 53 e 66 provavelmente também são de alto risco oncogênico, enquanto os tipos 34, 57 e 83, são de risco indeterminado (BRASIL, 2022a).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o HPV é uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais incidentes no mundo (CIRINO ES e BARBOSA MC, 2020). Estima-se que 80% das mulheres sexualmente ativas serão infectadas por um ou mais tipos desse vírus em algum momento de suas vidas e que entre 25% e 50% da população feminina mundial esteja infectada por ele (BRASIL, 2022a).

Cerca de 90% das infecções pelo HPV regridem espontaneamente em um período máximo de 24 meses após a exposição, sendo combatidas pelo sistema imune, principalmente entre as mulheres mais jovens, segundo o Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomez da Silva – INCA (2022). No entanto, quando persistentes, podem causar um amplo espectro de atipias celulares, as quais podem evoluir para malignidade de acordo com fatores predisponentes, especialmente quando associadas a cepas de alto risco, como 16 e 18 (BRASIL, 2022a; de CARVALHO NS, et al., 2021).

Os genótipos de HPV mais prevalentes no mundo são o HPV 16 (3,2%), o HPV 18 (1,4%), o HPV 52 (0,9%), o HPV 31 (0,8%) e o HPV 58 (0,7%), assim, estimam-se cerca de 105 milhões de pessoas portadoras do HPV 16 ou 18 no mundo (BRASIL, 2021). No Brasil, estima-se que haja de 9 a 10 milhões de infectados por esse vírus e que, a cada ano, 700 mil novos casos ocorram (FEDRIZZI EN, 2011).

Dessa maneira, o presente estudo tem o objetivo de investigar o perfil epidemiológico e a prevalência de genótipos de alto risco em mulheres com diagnóstico positivo para HPV atendidas em ambulatório de ginecologia no norte gaúcho, a fim de conscientizar a população feminina sobre os riscos dessa infecção, demonstrar a importância do rastreamento de alterações celulares geradas por ela, contribuir para a adoção de medidas e estratégias preventivas necessárias para o enfrentamento dessa problemática e diminuir os impactos gerados pelo HPV.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal realizado no Ambulatório de Ginecologia e no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Passo Fundo – RS, e em Laboratório do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP). A amostra, não probabilística e composta por conveniência, foi formada por pacientes encaminhadas ao exame citológico (Papanicolau) de rotina, atendidas no referido ambulatório no período de novembro de 2020 até maio de 2022. Foram incluídas mulheres acima de 18 anos não gestantes e foram consideradas inelegíveis as participantes com limitações que inviabilizaram a aplicação de questionário e as que estavam menstruadas no momento da realização da entrevista.

As participantes que concordaram em participar da pesquisa foram entrevistadas pela equipe do projeto e responderam a um questionário, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Posteriormente, as pacientes foram examinadas por equipe médica de acordo com o protocolo ginecológico padrão e submetidas ao Papanicolau. Durante a consulta ginecológica foi realizado exame especular não invasivo, empregando-se o espéculo bi-valvo de Collins. Amostras do conteúdo vaginal foram coletadas do terço médio da parede vaginal utilizando-se zangaratoas estéreis para a confecção de esfregaços vaginais em lâminas de vidro em duplicata e o Whiff test foi realizado, através da adição de 1 ou 2 gotas de KOH a 10% ao conteúdo vaginal. Foi realizado o Teste de Schiller, a partir da aplicação de solução de lugol no colo uterino e da utilização de colposcópio para visualização.

As amostras cérvico-vaginais foram obtidas pela técnica de citologia em meio líquido (CML). A coleta de material foi realizada com espátula de Ayres e escova cervical descartável- Kolplast (Kolplast, Itupeva, SP, Brasil) para obtenção das células escamosas e glandulares, respectivamente, de acordo com as instruções do fabricante. A escova foi vigorosamente agitada em frasco contendo fluido preservador CellPreserv® (Kolplast) previamente identificado. As amostras foram mantidas à temperatura ambiente, transportadas ao laboratório de acordo com a rotina e triadas em laboratório do Hospital São Vicente de Paulo, local onde foi feita a análise do exame citológico, conforme rotina.

Previamente à preparação das lâminas para avaliação citológica coletada em meio líquido, 1mL do conteúdo coletado foi separado em microtubo para posterior extração de DNA e pesquisa de DNA-HPV, seguindo descrição a seguir. Para o processamento e confecção das lâminas, o material coletado em meio líquido foi submetido ao processo de rotina utilizando-se o sistema automatizado ThinPrep 2000 system LBC slide, com uso de lâminas CellPreserv e posterior coloração pelo método de Papanicolau. As lâminas resultantes da citologia em meio líquido foram avaliadas e revisadas por citopalogistas experientes do grupo de pesquisa e classificadas de acordo com a nomenclatura brasileira para laudos cervicais, adaptada do Sistema de Bethesda de 2001.

Foram consideradas amostras insatisfatórias as que contiveram, em mais de 75% do esfregaço, material acelular ou hipocelular, presença de sangue, artefatos de dessecação, intensa sobreposição celular e contaminantes externos. As amostras satisfatórias foram classificadas como: Dentro dos limites da normalidade; Inflamação; Células atípicas de significado indeterminado: o Escamoso: possivelmente não neoplásica (ASC-US), ou não se pode afastar lesão de alto grau (ASC-H); o Glandular: possivelmente não neoplásica (AGCUS), ou não se pode afastar lesão de alto grau (AGC-H); o De origem indefinida: possivelmente não neoplásica (AOCUS), ou não se pode afastar lesão de alto grau (AOC-H); Lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL); Lesão intra-epitelial de alto grau (HSIL); Lesão intra-epitelial de alto grau, não podendo excluir microinvasão (HSIL micro); Carcinoma epidermóide invasor (CA); Adenocarcinoma in situ (Adeno in situ); Adenocarcinoma invasor; Outras neoplasias malignas.

O volume de amostra separado do meio líquido foi submetido à centrifugação e coleta do *pellet* celular com subsequente extração de DNA total utilizando-se os reagentes comerciais de purificação de DNA (Kit NúcleoSpin® Blood Macherey-Nagel, Düren, GE) seguindo as instruções do fabricante. As amostras foram armazenadas a -20°C até sua utilização na detecção e genotipagem do DNA-HPV, protocolo esse que foi realizado no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFFS, Bloco A, *campus* Passo Fundo.

Para pesquisa de HPV foi empregada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando os iniciadores MY09 e MY11, os quais flanqueiam uma região do gene L1 do HPV e que gera um produto amplificado de 450pb, seguido de Nested-PCR com os primers e GP5+/GP6+, os quais flanqueiam um fragmento interno à região anterior, de 150 pares de base, para ampliar a sensibilidade da reação (GUPTA I, et al., 2020).

As reações foram realizadas em volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix (Promega); 1,0 uL de cada primer na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2 uL de cada amostra pesquisada. As incubações foram realizadas em termociclador com os parâmetros de 95°C durante 5 minutos e 95°C durante 45 segundos para desnaturação, 47,7°C durante 45 segundos para anelamento dos iniciadores e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 44 ciclos idênticos ao descrito. A temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C. Em todas as reações realizadas foi utilizado um controle negativo, através da substituição do ácido nucléico por água estéril, e um controle positivo contendo DNA de HPV extraído de células HeLa.

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

Para a determinação dos tipos virais de alto risco presentes nas amostras que apresentaram positividade para DNA de HPV foi empregada a técnica de PCR. Foram utilizados primers específicos para os subtipos 16, 18, 31, 45 e 51, cujos respectivos primers direto (5'-3') e indireto (5'-3') estão descritos a seguir: HPV 16 (ATGCATGGAGATACACCTACATTGCAT e GTTTCTGAGAACAGATGGGGCACAC), HPV 18 (GCTTTGAGGATCCAACACGG e TGCAGCACGAATGGCACTGG), HPV 31 (GGGCTCATTGGAATCGTGTG e AACCATTCGCATCCCGTCCCC), HPV 45 (CCCACGCGAACCCACAG e TCTAAGGTCCTCTGCCGAGC) e HPV 51 (TACGTGTTACAGAATTGAAG e AACCAAGGCTTAGTTCGCCATT) (GUPTA I, et al., 2020). As amostras com positividade para HPV de alto risco foram aquelas que apresentaram resultado positivo para pelo menos um dos PCRs dos subtipos supracitados. As reações foram realizadas com volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix (Promega); 1,0 uL de cada primer na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2uL de amostra de DNA. Os parâmetros utilizados foram 94°C durante 5 minutos e 94°C durante 1 minuto para desnaturação, temperatura de anelamento específica durante 30 segundos e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 37 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos e resfriamento a 4°C.

Além da determinação da positividade para HPV de alto risco, aferida por PCR convencional, conforme protocolo descrito acima, as demais variáveis estudadas incluíram: características sociodemográficas (faixa etária, cor da pele autoreferida, escolaridade – anos de estudo, se exerce atividade remunerada e situação conjugal), de saúde (tabagismo, sexarca, atividade sexual, número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses, uso de preservativo, uso de método contraceptivo, realização de exame ginecológico preventivo prévio e quando foi a última vez, infecção prévia por Papilomavírus Humano, vacinação para HPV e, caso não tenha feito, qual o motivo da não realização) e clínicas (prurido, dispareunia, leucorréia, odor, dor, amenorreia, ectopia, Whiff test, Teste de Schiller e Papanicolau. As participantes foram posteriormente informadas quanto aos resultados dos exames diretamente no ambulatório de atendimento e orientadas quanto à necessidade de acompanhamento frequente para rastreio de lesões celulares precursoras de neoplasias.

O processamento dos dados obtidos nos questionários e os laudos dos resultados dos exames citopatológicos e da PCR foram duplamente digitados em um banco criado no EpiData versão 3.1, de distribuição livre. Além disso, para o presente estudo, foi feito um recorte incluindo todas as pacientes com resultado positivo para detecção molecular de HPV e excluindo aquelas com negatividade para o vírus.

A análise estatística descritiva consistiu na distribuição de frequências absolutas e relativas das variáveis e prevalência da positividade para HPV de alto risco, com intervalo de confiança de 95% (IC95), através do programa PSPP versão 3.03, de distribuição livre.

O presente estudo consiste em um recorte da pesquisa intitulada: “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papilomavírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS (CAAE número 17632919.0.0000.5564 e parecer número 3.736.932).

RESULTADOS

Ao final do estudo, 124 mulheres corresponderam aos critérios de inclusão anteriormente citados e aceitaram participar da pesquisa. Um total de 124 amostras de conteúdo vaginal foram coletadas e testadas para HPV, resultando 44 amostras positivas (35,5%) e 80 amostras negativas (64,5%). Assim, selecionado o critério de positividade para HPV, tem-se um tamanho amostral de 44 mulheres para este estudo.

Quanto às características sociodemográficas da amostra, de acordo com a **Tabela 1**, observou-se um predomínio de pacientes com idade entre 31 e 59 anos (75%), brancas (68,2%), com 5 ou mais anos de estudo (52,3%), exercendo atividade remunerada (68,2%) e com companheiro (81,8%).

Tabela 1 - Caracterização sociodemográfica de uma amostra de mulheres com diagnóstico positivo para HPV atendidas em Ambulatório de Especialidades. Novembro de 2020 a maio de 2022. (n=44).

Variáveis	n	%
Faixa etária (anos completos)		
18-30	7	15,9
31-59	33	75,0
60	4	9,1
Cor da pele autorreferida		
Branca	30	68,2
Outra	14	31,8
Escolaridade (anos de estudo)		
≤ 4	21	47,7
≥ 5	23	52,3
Atividade remunerada		
Sim	30	68,2
Não/Aposentado/Pensionista	14	31,8
Situação Conjugal		
Tem companheiro	36	81,8
Não tem companheiro	8	18,2

Fonte: Bozza, G, et al., 2024.

A **Tabela 2** apresenta informações comportamentais e de saúde da amostra estudada. Constata-se que 79,5% das pacientes não fumam ou são ex-tabagistas. Em relação ao comportamento sexual das participantes, 72,7% relatam sexarca após os 16 anos de idade, 88,6% é sexualmente ativa, 82,9% tiveram apenas um parceiro sexual nos últimos 12 meses e 89,7% não têm o hábito de usar preservativo ou faz uso apenas algumas vezes. Ainda, 76,9% faz uso de método contraceptivo e 97,7% realizou exame ginecológico preventivo alguma vez na vida, sendo o último realizado há menos de 36 meses em 72,7% da amostra. Em relação ao HPV, 18,2% relataram terem sido previamente infectadas pelo vírus, enquanto 86,4% afirmaram não terem sido imunizadas com a vacina para o vírus, sendo que, dentre essas, um total de 46,2% não o fizeram em razão de a vacina não estar disponível na rede pública de saúde à época em que elas possuíam a faixa etária recomendada (**Tabela 2**).

Tabela 2 - Caracterização de saúde de uma amostra de mulheres com diagnóstico positivo para HPV atendidas em Ambulatório de Especialidades. Novembro de 2020 a maio de 2022. (n=44).

Variáveis	n	%
Tabagismo		
Sim	9	20,5
Não/Ex fumante	35	79,5
Sexarca (idade em anos)		
≤ 15	12	27,3
≥ 16	32	72,7
Sexualmente ativa		
Sim	39	88,6
Não	5	11,4
Número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses (n=41)		
Nenhum	2	4,9
1 parceiro	34	82,9
2 ou mais parceiros	5	12,2
Uso de preservativo (n=39)		
Sim, sempre	4	10,3
Algumas vezes/Não	35	89,7
Uso de método contraceptivo (n=39)		
Sim	30	76,9
Não	9	23,1
Realização de Papanicolau prévio		
Sim	43	97,7
Não	1	2,3
Tempo desde o último Papanicolau (em meses)		
1-36	32	72,7
> 36	12	27,3
Infecção prévia pelo HPV		
Sim	8	18,2
Não/Não sabe/Não lembra	36	81,8
Vacinação para HPV		
Sim	6	13,6
Não	38	86,4
Motivos para a não realização da vacina para HPV (n=26)		
Não disponível na rede	12	46,2
Desconhece a vacina	6	23,0
Não contemplado na campanha devido à idade	8	30,8

Fonte: Bozza, G, et al., 2024.

Quanto à caracterização clínica da amostra estudada, demonstrada na **Tabela 3**, 41,9% apresentam queixa de amenorreia, 29,5% de dor, 23,3% de odor, 22,7% de leucorreia, 20,5% de dispareunia e 18,6% de prurido. De acordo com os testes clínicos, 11,4% apresentaram ectopia, 1,3% delas apresentaram Wiff test positivo, 15,9% Teste de Schiller positivo e 2,3% lesão intraepitelial de baixo grau.

Tabela 3 - Caracterização clínica de uma amostra de mulheres com diagnóstico positivo para HPV atendidas em Ambulatório de Especialidades. Novembro de 2020 a maio de 2022. (n=44).

Variáveis	n	%
Amenorreia (n=43)	18	41,9
Dor	13	29,5
Odor (n=43)	10	23,3
Leucorreia	10	22,7
Dispareunia	9	20,5
Prurido (n=43)	8	18,6
Ectopia	5	11,4
Wiff test		
Positivo	1	2,3
Negativo	10	22,7
Não realizado	33	75,0
Teste de Schiller		
Positivo	7	15,9
Negativo	30	68,2
Não realizado	7	15,9
Resultado do Papanicolau		
Ausência de neoplasia	38	86,4
Lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL)	1	2,3
Não pode afastar lesão de alto grau (ASC-H)	2	4,6
Lesão possivelmente não neoplásica (ASC-US)	3	6,8

Fonte: Bozza, G, et al., 2024.

Do total da amostra, 68,2% (IC95 54-83) foram classificadas como portadoras de HPV de alto risco para os genótipos virais 16, 18, 31, 45 ou 51. A **Tabela 4** apresenta o resultado da genotipagem de HPV a partir da técnica de PCR, enquanto a **Figura 1** ilustra um dos resultados em gel de agarose para a tipagem de um dos genótipos mais prevalentes (HPV 45).

Verificou-se a prevalência de 27,3% para HPV 45, 9,1% para HPV 51, 4,5% para HPV 16 e 2,3% para HPV 18 e HPV 31. Uma sugestão de infecção mista, com a detecção molecular concomitante de mais de um genótipo viral foi observada em 10 pacientes (22,7%), sendo 6,8% com infecção dupla para HPV 18+45, 4,5% para HPV16+45 e HPV31+45, seguida de 2,3% para HPV 18+31 e HPV45+51 e 2,3% infecção tripla para HPV18+31+45.

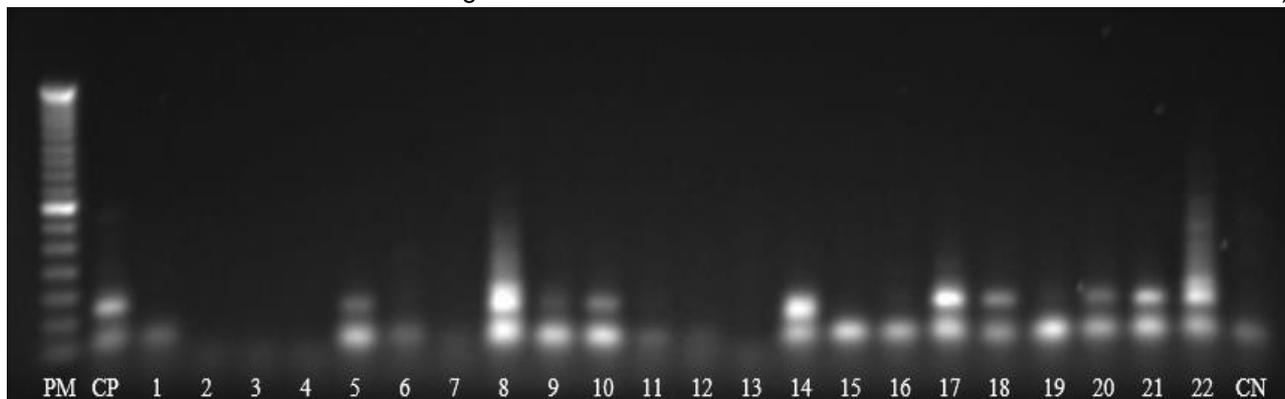
Tabela 4. Genotipagem de Papilomavirus Humano (HPV) detectado a partir da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). (n=44).

Variáveis	n	%
HPV de alto risco	30	68,2
45	12	27,3
51	4	9,1
18+45	3	6,8
16	2	4,5
16+45	2	4,5
31+45	2	4,5
18	1	2,3
31	1	2,3
18+31	1	2,3
45+51	1	2,3
18+31+45	1	2,3
Outro	14	31,8

Fonte: Bozza, G, et al., 2024.

Figura 1. Gel de agarose (1,5%) corado com brometo de etídeo (5µL), após eletroforese para separação e visualização das bandas representativas do gene HPV 45 de 22 amostras. (PM: marcador de peso molecular – *Invitrogen 50pb DNA Ladder*; tamanho esperado do produto amplificado de 97pb; CP: controle positivo –

DNA de HPV extraído de células HeLa; linhas 5, 8, 9, 10, 14,17, 18, 20, 21 e 22: amostras positivas; CN: controle negativo da PCR).



Fonte: Bozza, G, et al., 2024.

DISCUSSÃO

Além de identificar a prevalência de genótipos de alto risco em mulheres com diagnóstico positivo para HPV, este estudo visa descrever o perfil epidemiológico dessas pacientes. A amostra é caracterizada pela predominância de mulheres com idade entre 31 e 59 anos, em atividade remunerada, de cor branca e com vida sexual ativa. Diferente do estudo de Fernandes J, et al., (2013), que apresentou prevalência de sexarca entre 14 e 17 anos de idade, no presente estudo 72,7% das mulheres relataram sexarca acima dos 16 anos de idade. Destaca-se que, apesar de 81,8% das mulheres da amostra possuírem relação conjugal estável, assim como no estudo de Schuster AD, et al., (2020), a maioria não faz uso de preservativo, fator relacionado a uma maior suscetibilidade ao HPV e outras Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs), uma vez que a infecção decorre principalmente do contato sexual sem proteção (ABREU MN, et al., 2018). Além disso, quase que a totalidade amostral (97,7%) realiza exame citopatológico periodicamente; entretanto, não foi imunizada contra o HPV em razão de a vacina não estar disponível na rede pública de saúde no momento, a qual contempla apenas o público de 9 a 14 anos de idade.

Embora 86,4% das pacientes tenham apresentado ausência de neoplasia como resultado do Papanicolau, não significa que estejam isentas de desenvolver lesão de colo de útero, tendo em vista que 68,2% da amostra apresentou positividade para HPV de alto risco oncogênico. Além disso, 2,3%, 4,6% e 6,8% das pacientes apresentaram amostras classificadas como lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL) e células atípicas de significado indeterminado (ASC-H) e (ASC-US), respectivamente. O primeiro resultado é passível de evolução para lesão intra-epitelial de alto grau; os demais, não afastam a possibilidade de uma evolução para malignidade (OLIVEIRA AKSG, et al., 2021). Tais compreensões reforçam a importância do Papanicolau como método de rastreio de lesões precursoras de câncer cervical para que a doença possa ser diagnosticada em fase inicial e tratada posteriormente conforme necessário (MIYASAKI MT e JUNIOR LC, 2021).

No presente estudo, a prevalência de HPV de alto risco oncongênico (16, 18, 31, 45 e 51) dentre as amostras cérvico-vaginais HPV positivas de mulheres que realizaram o exame de Papanicolau foi de 68,2%, sobressaindo-se o genótipo 45, correspondendo a 47,7% dos casos. Em comparação, em um trabalho realizado com usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS) de Alagoas, encontrou-se uma prevalência de 80% de HPV de alto risco (16, 18, 31, 33, 45, 53, 56, 58, 59, 66, 69, 70 e 82), com predominância do subtipo 16 em 23,3% dos casos (de FARIAS KF, et al., 2020). Outro estudo, realizado em uma unidade básica de saúde da cidade de Cruz Alta, no Rio Grande do Sul, foi detectada uma prevalência de 72,8% de HPV de alto risco, sendo os subtipos 16 e 33 os mais identificados (8,8% cada) (COSER J, et al., 2013). Em contrapartida, no estudo de Rodrigues DA, et al. (2014), com mulheres indígenas do Paraná, houve uma prevalência mais baixa (28,6%) de infecção pelo HPV de alto risco, mas com predomínio de outros genótipos que não os 16, 18 ou 45.

Ainda, observou-se que 45,9% das amostras analisadas apresentaram infecção por um genótipo único, enquanto 22,7% foram infecções de genótipo misto, resultado semelhante ao apresentado em estudos

anteriores (COSER J, et al., 2013; FERNANDES J, et al., 2013; PEREZ, NP, et al., 2020). A infecção simultânea por dois tipos diferentes de HPV foi encontrada em 20,4% dos casos, com associação mais prevalente entre HPV 18 e HPV 45 (6,8%). Ademais, ocorreu infecção tripla em um dos casos (2,3%), com a associação entre os genótipos 18, 31 e 45. Nota-se que o HPV 45 é um subtipo comum na população estudada e que, assim como os genótipos 16, 18, 31 e 51, está intimamente associados com o desenvolvimento de neoplasia do colo do útero.

Ressalta-se que, das mulheres com positividade para HPV, a maioria (68,2%) possui infecção pelos tipos virais de alto risco oncogênico testados neste estudo – 16, 18, 31, 45 e 51 – e ressalta-se que os 31,8% restantes podem contemplar outros tipos virais de alto risco, como também de baixo risco, tendo em vista a ampla diversidade genotípica do HPV.

A investigação da diversidade genotípica do HPV dentro de uma população é importante para o estabelecimento de estratégias preventivas eficazes contra o câncer do colo do útero, em termos de procedimentos diagnósticos e ações profiláticas. O impacto da imunização contra o HPV na saúde é determinante para combater a infecção pelo vírus e suas complicações. Existe robusta evidência do benefício individual e populacional da vacinação, com demonstração de redução da ocorrência de lesões tanto benignas como malignas do colo de útero³ (BRASILa, 2022). Até pouco tempo, o Brasil contava apenas com as vacinas bi (subtipos 16 e 18) e quadrivalentes (subtipos 6, 11, 16 e 18,) contra o HPV. Em março de 2023, tornou-se disponível no mercado brasileiro a nonavalente, a qual protege contra os genótipos já contidos nas vacinas supracitadas e contra cinco genótipos adicionais de alto risco (31, 33, 45, 52 e 58). Esses cinco novos subtipos são responsáveis por um acréscimo de 20% dos casos de câncer de colo de útero (além dos 70% causados pelos 4 subtipos contidos na vacina quadrivalente), sendo os 9 subtipos da vacina responsáveis por 85% dos casos de câncer de colo de útero (INCA, 2023; de MELO AC, et al., 2023).

O fato de as vacinas anteriormente disponíveis serem específicas para determinados tipos virais, pode ter propiciado a emergência de novos genótipos a partir de uma pressão seletiva, como pode ser percebido no presente estudo, uma vez que a prevalência dos subtipos vacinais 16 e 18 foi mais baixa em relação aos não acobertados pela vacina bi e tetravalente, como o 45, por exemplo (RAMOS RF, et al., 2021; ZARDO GP, et al., 2014). Mesmo com baixa adesão vacinal na amostra, tal fato sugere a alteração no padrão de incidência dos subtipos nas populações, causada pela vacina disponível, como anteriormente evidenciado (GUPTA I, et al., 2020). Assim, destaca-se a importância de uma vacina com maior cobertura para os subtipos de alto risco no combate à infecção pelo HPV e ao câncer de colo de útero, embora a vacina nonavalente ainda não esteja disponível na rede pública de saúde brasileira.

Esse estudo traz importantes resultados para a literatura e oportuniza o acesso ao método diagnóstico molecular do HPV na rede pública de saúde, teste incorporado ao SUS apenas em março de 2024, representando um desafio de implementação (BRASIL, 2024). Apesar disso, tem como principal limitação o pequeno tamanho amostral, o qual implica na restrição de outras possíveis análises. Ademais, existem os vieses de informação e de memória relacionados à aplicação de questionário.

CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo avança a compreensão da epidemiologia da infecção pelo HPV. Foi estabelecido o perfil da amostra estudada e determinada uma alta prevalência de HPV de alto risco em mulheres HPV positivas atendidas em ambulatório do SUS no norte gaúcho, com predomínio do genótipo 45. Tais achados poderão auxiliar na criação de estratégias preventivas eficazes contra o câncer do colo do útero, em termos de procedimentos diagnósticos e ações profiláticas (vacinação), possibilitando maior controle contra o HPV de alto risco.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Trabalho financiado pela Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, através da concessão de fomento via EDITAL 459/GR/UFFS/2019 – Fomento à pesquisa com ênfase no fortalecimento dos programas de pós-graduação stricto sensu da UFFS. Registro do fomento: PES-2019-0594 e projeto guarda-chuva PES-2022-0078.

REFERÊNCIAS

1. ABREU MN, et al. Conhecimento e percepção sobre o HPV na população com mais de 18 anos da cidade de Ipatinga, MG, Brasil, *Ciência & Saúde Coletiva*, 2018;23(3):849-60.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico, v.52, n.18, p. 11-6, Mai. 2021. Brasília, DF. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2021/boletim_epidemiologico_svs_18.pdf.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST). Brasília, DF. 2022a. Disponível em: https://www.gov.br/aids/pt-br/centrais-de-conteudo/pcdts/2022/ist/pcdt-ist-2022_isbn-1.pdf/view.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Relatório de Recomendação Nº 878: Testagem Molecular para Detecção de HPV e rastreamento do câncer do colo do útero. Brasília, DF. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2024/testagem-molecular-para-deteccao-de-hpv-e-rastreamento-do-cancer-do-colo-do-utero>.
5. CARVALHO NS, et al. Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: infecção pelo papilomavírus humano (HPV), *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 2021; 30(esp1): e2020790.
6. CIRINO ES, BARBOSA MC. Incidência do Papiloma Vírus Humano – HPV em gestantes: uma revisão integrativa, *Brazilian Journal of Health Review*, 2020; 3(3): 6727-36.
7. COSER J, et al. Prevalence and genotypic diversity of cervical human papillomavirus infection among women from an urban center in Brazil, *Genetics and Molecular Research*, 2013; 12(4): 4276-85.
8. De FARIAS KF, et al. Prevalência de genótipos do Papilomavírus Humano (HPV) e fatores de risco para o câncer cervical, *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, 2020; 24(2): 295-304.
9. de MELO AC, et al. Population-Based Trends in Cervical Cancer Incidence and Mortality in Brazil: Focusing on Black and Indigenous Population Disparities. *Journal of Racial and Ethnic Health Disparities*, 2023, 11:255-263.
10. FEDRIZZI EN. Epidemiologia da infecção genital pelo HPV, *Revista Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia*, 2011; 1(1): 3-8.
11. FERNANDES J, et al. Prevalence of human papillomavirus type 58 in women with or without cervical lesions in Northeast Brazil. *Annals of Medical Health Science Research*, 2013; 3(4):504.
12. GUPTA I, et al. Co-prevalence of human Papillomaviruses (HPV) and Epstein–Barr virus (EBV) in healthy blood donors from diverse nationalities in Qatar, *Cancer Cell International*, 2020; 20(1): 107.
13. INCA - Instituto Nacional do Câncer. Controle do Câncer do Colo do Útero. Controle do câncer de colo de útero. 2023. Disponível em <https://antigo.inca.gov.br/publicacoes/relatorios/dados-e-numeros-sobre-cancer-do-colo-do-utero-relatorio-anual-2023> - Acessado em 27/03/2024.
14. MIYAJI KT, et al. Human Papillomavirus (HPV) seroprevalence, cervical HPV prevalence, genotype distribution and cytological lesions in solid organ transplant recipients and immunocompetent women in Sao Paulo, Brazil, *PLOS ONE*, 2022; 17(1):e0262724.
15. MIYASAKI MT, JUNIOR LC. A importância do diagnóstico primário de lesões sugestivas de efeito citopático compatível com HPV em colo uterino – Uma breve revisão, *Brazilian Journal of Development*, 2021; 7(7): 70922-33.
16. OLIVEIRA AKSG, et al. Infecção pelo HPV: rastreamento, diagnóstico e conduta nas lesões HPV-induzidas. *Femina*, 2021; p. 166-172.
17. PÉREZ NP, et al. Prevalencia de los genotipos de HPV en lesiones pre invasoras de alto grado de malignidad y cáncer de cuello uterino en la población del Hospital de Clínicas. Montevideo-Uruguay. *Anales de la Facultad de Medicina*, 2020; 7(2): e202.
18. RAMOS RF, et al. The value of life's diversity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2021; 93:e20201879.
19. RODRIGUES DA, et al. Prevalência de atipias citológicas e infecção pelo papilomavírus humano de alto risco em mulheres indígenas Panará, povo indígena do Brasil Central, *Cadernos de Saúde Pública*, 2014; 30(12): 2587-2593.
20. SCHUSTER AD, et al. Avaliação do perfil de mulheres atendidas em centros de referência em saúde de Porto Alegre/RS e relação de alterações citológicas detectadas no exame citopatológico e a presença do HPV, *Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção*, 2020; 10(1): 72-78.
21. ZARDO GP, et al. Vacina como agente de imunização contra o HPV, *Ciência e Saúde Coletiva*, 2014; 19 (9): 3799-3808.