



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E SAÚDE HUMANA

**DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM
MULHERES DO ESTADO DA BAHIA, BRASIL.**

Dissertação de Mestrado

Adriana Bruno

**Salvador-Ba
2014**



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM
MULHERES DO ESTADO DA BAHIA, BRASIL.**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Medicina e Saúde Humana da
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
para obtenção do título de Mestre em Medicina
e Saúde Humana**

**Autor:
Adriana Bruno**

**Orientador:
Prof. Dr. Bruno Gil de Carvalho Lima**

**Salvador-Ba
2014**

Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca Central da EBMSP

B898 Bruno, Adriana

Distribuição dos Genótipos do Papilomavírus Humano em Mulheres do Estado da Bahia-Brasil./ Adriana Bruno. – Salvador. 2014.
74f. il.

Dissertação (Mestrado) apresentada à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Programa de Pós-Graduação em Medicina e Saúde Humana.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gil de Carvalho Lima

Inclui bibliografia

1. Papilomavírus humano. 2. HPV. 3. Mulheres. 4. Genotipagem. 5. Infecção múltipla. I. Título.

CDU: 616.98

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: BRUNO, Adriana

Título: Distribuição dos genótipos do papilomavírus humano em mulheres do estado da Bahia, Brasil.

Dissertação apresentada à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública para obtenção do título de Mestre em Medicina e Saúde Humana.

Aprovado em: 28/03/2014

Banca Examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Karina Serravalle Ramos
Doutora em Ciências - FMUSP
Clínica Idem e Laboratório Studart & Studart

Prof. Dr. Luis Cláudio Lemos Correia
Livre-Docente de Cardiologia - UFBA
Professor Adjunto da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Prof^ª. Dr^ª. Márcia Sacramento Cunha Machado
Doutora em Medicina e Saúde Humana - EBMSP
Professora Adjunta da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

*"Tudo posso naquele que me fortalece"
(Apóstolo Paulo 7p 4:13)*

A Deus pai, todo poderoso.

Ao meu pai, Dr. Olívio Bruno, exemplo de dignidade e respeito ao paciente, fonte de orgulho.

À minha mãe, Lea Lúcia Bruno, mulher à frente do seu tempo, incentivadora da autonomia e da
minha vida profissional.

Ao meu amado João, incentivador e forte alicerce em minha vida.

À minha linda e doce Carol, parceira constante e amante da ciência.

À minha inteligente e amada Gabí, torcedora do meu êxito e inspiração para novos desafios.

À minha afilhada Larissa, minha médica nata.

Aos meus queridos irmãos Rosana e Roberto, meus melhores amigos.

A toda a família Bruno & Andrade, que tanto amo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Bruno Gil de Carvalho Lima, professor da pós-graduação da EBMSP, meu orientador nesta dissertação, por seus ensinamentos da epidemiologia e bioestatística, tornando tudo mais claro e fácil.

À Dr^a. Karina Serravalle Ramos, bióloga que iniciou os primeiros exames de captura híbrida em Salvador, profunda conhecedora do tema HPV, pelas considerações fundamentais para este trabalho.

Ao Prof. Dr. Luis Claudio Correia, professor da pós-graduação da EBMSP, por ter sido a pessoa essencial nos primeiros passos para minha entrada no mestrado e pelos ensinamentos em métodos quantitativos, o que permitiu que eu mesma realizasse os cálculos estatísticos deste banco de dados, sob a supervisão do meu orientador.

À Prof^a. Dr^a. Márcia Cunha, pelo afincamento para a qualificação desta dissertação e sugestões valiosas.

À Dr^a. Vera Lucia Nossa, minha eterna chefe, colega e amiga, pelos conselhos serenos e orações poderosas.

À Dr^a. Márcia Silveira, amiga e companheira desta jornada, pelo incentivo e por tornar tudo mais alegre.

À Dr^a. Rosana Almeida, minha médica, sócia e amiga, por ter me levado para a patologia cervical e sempre estar ao meu lado.

À Dr^a. Vera Harfush (*In memoriam*), pioneira no uso da captura híbrida HPV no Brasil, sócia e amiga, por ter me deixado de herança o amor a este tema.

À Prof. Dr^a. Conceição Maria de Queiroz, pelo incentivo e disponibilidade no início desta caminhada.

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Menezes, meu professor e coordenador na Maternidade Climério de Oliveira, pelo apoio e ajuda na reta final.

À Dr^a. Janine Magalhães, pela ajuda e amizade, nos momentos em que mais precisei.

À Prof. Dr^a. Ana Gabriela Travassos, pelas sugestões pertinentes e carinhosa disponibilidade em ajudar.

Às minhas queridas amigas Mônica Andrade, Lucia Rusmando, Norma Andrade Sampaio e Sonia Mioni, pelo carinho e compreensão pela minha ausência.

Às minhas pacientes, que souberam entender a minha ausência e perceber a importância deste trabalho.

À Sr^a. Isabel Lauria, pela ajuda em não deixar se perder nenhuma paciente para a minha coleta de dados.

À Dr^a. Janaína Harfush, pelo apoio e confiança em realizar esta pesquisa.

Ao amigo Sergio Harfush e todos os funcionários da Clínica IDEM/Vera Harfush, pelo apoio e disponibilidade.

Aos prezados João, Paulo e Eduardo Studart, do Laboratório Studart & Studart, pela colaboração em disponibilizar os resultados dos exames.

Aos colegas que se tornaram amigos, tornando o mestrado ainda mais prazeroso: Maria Cecília Gnoatto, Mariana Robatto, Maria das Neves Dantas, Lenises de Paula, Jorge Pigeard, Mario Tenório, Janine Magalhães, Marília Fonseca, Amanda Mathias, Marcia Tironi, Norma Fachinetti, Luiza Nauane, Antônio Marconi, Amanda Araújo, Cristiano Sena, Márcia Noya e todos que fizeram parte desta turma especial.

À pós-graduação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, por contribuir para uma melhor qualidade dos profissionais da área de saúde do nosso estado e do Brasil.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

EBMSP-Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Clínica IDEM/Vera Harfush

EQUIPE

Adriana Bruno, mestranda.

Bruno Gil de Carvalho Lima, orientador.

RESUMO

Distribuição dos genótipos de Papilomavírus humano em mulheres do estado da Bahia, Brasil

Objetivo: O objetivo primário deste trabalho foi descrever a distribuição dos genótipos do papilomavírus humano (HPV) em mulheres procedentes do estado da Bahia, Brasil. Secundariamente, testar a associação entre genótipos de HPV e resultados cito-histopatológicos, associação entre genótipos de HPV e faixa etária, descrever as frequências das infecções por múltiplos genótipos de HPV e dos tipos contidos nas vacinas contra HPV. **Métodos:** Entre 2010-2013, foram revisados 351 prontuários de mulheres submetidas ao teste de genotipagem PapilloCheck[®], usado para detectar 24 tipos de HPV. Os achados cito-histopatológicos foram classificados em grupos de: achados negativos para neoplasia (exames citopatológico e histopatológico negativos), lesão de baixo grau (achado citopatológico LIE-BG ou achado histopatológico NIC1, NIVA1 ou condiloma) e lesão de alto grau (achado citopatológico LIE-AG ou histopatologia com laudo maior ou igual NIC2 ou NIVA2). **Resultados:** O genótipo de alto risco mais detectado foi o HPV 16 (18,5%; IC 95%, 14,6% a 23%), seguido pelo HPV 56 (14%; IC 95%, 10,5% a 18%) e HPV 39 (13,4%; IC 95%, 9,5% a 16,8%). O HPV 18 (5,4%; IC 95%, 3,3% a 8,3%) figurou entre os menos comuns. Dentre os tipos de baixo grau, o HPV 42 (15,7%; IC 95%, 12% a 20%), HPV 6 (11,4%; IC 95%, 8,3% a 15,2%) e HPV 44/55 (11,1%; IC 95%, 8% a 14,9%) foram os mais encontrados, enquanto que o HPV 11 (2,8%; IC 95%, 1,4% a 5,2%) foi o menos frequente. A proporção do HPV 16 aumentou com a severidade das anormalidades cito-histopatológicas: 13,8% (12/87) nas lesões de baixo grau e 42,8% (14/33) nas lesões de alto grau. Houve maior associação entre a presença de lesão cito-histopatológica e os genótipos de alto risco, HPV 16, HPV 52, HPV 73 e HPV 82 e o de baixo risco, HPV 43. Mulheres na faixa etária menor de 30 anos apresentaram frequência significativamente maior do HPV 16 (22,2% vs 12,9%, $p = 0,018$), HPV 42 (19,7% vs 10,9%, $p = 0,018$) e HPV 45 (6,6% vs 1,4%, $p = 0,015$). A infecção múltipla foi observada em 53,8% (189/351) das mulheres e foi significativamente mais frequente na faixa etária menor de 30 anos (58,1% vs 47,4%, $p = 0,046$). O HPV 16 ou 18 foi encontrado em 22,8% dos exames, enquanto a presença dos dois tipos juntos foi detectada em apenas 0,6% dos casos. Pelo menos um dos genótipos contemplados pelas vacinas quadrivalente e nonavalente foi detectado em 31,3% e 41,9% dos exames, respectivamente. **Conclusões:** O presente estudo demonstrou que entre os tipos oncogênicos, o HPV 16 foi o mais frequente nesta amostra, seguido pelo HPV 56 e 39. O HPV 18 figurou entre os menos comuns. Entre os HPV não oncogênicos, os HPV 42, 6 e 44/55 foram os mais frequentes, entretanto o HPV 11 foi o menos frequente.

Palavras-Chaves: Papilomavírus humano. HPV. Mulheres. Genotipagem. Infecção múltipla. PapilloCheck. Bahia. Brasil.

ABSTRACT

Human Papillomavirus genotypes distribution in women from state of Bahia, Brazil

Objective: The aim of this study was to evaluate the frequency of human papillomavirus (HPV) genotypes in women from Bahia, Brazil and assess the association between HPV genotype and cyto-histopathological abnormalities; association between HPV genotype and age range, multiple HPV infections and vaccine-covered HPV genotypes frequencies. **Methods:** Through the years 2010-2013, 351 women had genotyping performed using PapilloCheck[®] test, designed to detect 24 HPV types. The cyto-histopathological abnormalities were classified as negative (cytology and histopathology negative), low-grade lesions (cytologic LSIL diagnosis or histopathologic CIN1 or VAIN1 diagnosis) and high-grade lesions (cytologic HSIL diagnosis or histopathologic CIN2+ or VAIN2+ diagnosis). **Results:** The most frequently detected high-risk human papillomavirus genotype was HPV 16 (18,5%; CI 95%, 14,6% to 23%), followed by HPV 56 (14%; CI 95%, 10,5% to 18%), and HPV 39 (13,4%; CI 95%, 9,5% to 16,8%). HPV 18 (5,4%; CI 95%, 3,3% to 8,3%) was among the least frequent types. Among the low-risk types, HPV42 (15,7%; CI 95%, 12% to 20%), HPV 6 (11,4%; CI95%, 8,3% to 15,2%) and HPV 44/55 (11,1%; CI 95%, 8% to 14,9%) were the most frequent, while HPV 11 (2,8%; CI 95%, 1,4% to 5,2%) was the least common. The proportion of HPV 16-positive women increased with severity of cyto-histopathological abnormalities: 13,8% (12/87) in low-grade lesion and 42,4% (14/33) in high-grade lesion, thus there was association with lesion and the high-risk genotypes, HPV 16, HPV 52, HPV 73 and HPV 82 and the low-risk type, HPV 43. Women under 30 years, showed significantly highest frequency of HPV 16 (22,2% vs 12,9%, p =0,018), HPV 42 (19,7% vs 10,9%, p=0,018) and HPV 45 (6,6% vs 1,4%, p=0,015). Multiple HPV infections was observed in 53,8% (189/351) of women and was significantly higher in age range under 30 years (58,1% vs 47,4%, p=0,046). HPV 16 or 18 was detected in 22,8% of cases, meanwhile both together, in only 0,6%. At least one of the genotypes targeted by quadrivalent or nine-valent vaccine was detected in 31,3% and 41,9% of cases, respectively. **Conclusions:** This study demonstrates that HPV 16 was the most frequent detected high-risk HPV in women from Bahia, Brazil, followed by HPV56 e 39. HPV18 was among the least frequent types. HPV 42, 6 and 44/55 were the most frequent detected low-risk HPV and HPV 11, the least common.

Keywords: Human papilomavírus. HPV. Women. Genotyping. Multiple infections. PapilloCheck. Bahia. Brazil.

LISTA DE FIGURAS

Figura I	– Figura ilustrativa da partícula viral do HPV.....	22
Figura II	– Representação do genoma do HPV.....	23
Figura III	– Árvore filogenética contendo a sequência de 118 tipos de papilomavírus.....	25
Figura IV	– Árvore filogenética inferida a partir das sequências de nucleotídeos L1 de 189 papilomavírus.....	26
Figura V	– Árvore filogenética de 100 tipos de HPV com ênfase nos de alto-risco da espécie alpha.....	27
Figura VI	– Principais passos na carcinogênese cervical.....	30
Figura VII	– Prevalência da infecção pelo HPV por grupo etário e continente, entre mulheres com citologia normal.....	31
Figura VIII	– Prevalência tipo-específico do HPV por região geográfica em metanálise entre mulheres apresentando citologia normal.....	33
Figura IX	– Diagnóstico histopatológico associado ao uso de imuno-histoquímica com p16 e as opções de conduta para as biópsias cervicais.....	38

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADROS

Quadro I	– Tipos de HPV avaliados pela IARC <i>Monograph Working Group</i>	28
----------	---	----

TABELAS

Tabela 1	– Caracterização da amostra.....	48
Tabela 2	– Razão de prevalência entre ter ou não lesão cito-histopatológica e infecção por genótipo de HPV em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.....	53

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Locais de procedência das mulheres com genotipagem HPV-positiva, em amostra do estado da Bahia, 2010-2013.....	49
Gráfico 2 – Achados cito-histopatológicos agrupados em achados normais, LIE-BG e LIE-AG da amostra de 351 mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.....	50
Gráfico 3 – Distribuição dos genótipos de HPV em amostra de 351 mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.....	51
Gráfico 4 – Distribuição dos genótipos de HPV dentre os achados cito-histopatológicos em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.....	52
Gráfico 5 – Distribuição dos genótipos de HPV conforme faixa etária, em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.....	52
Gráfico 6 – Frequências dos números de genótipos de HPV detectados nas infecções únicas e múltiplas em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013	54
Gráfico 7 – Genótipos de HPV contemplados pelas vacinas, detectados em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.....	55

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADAT1	Adenosina Desaminase tRNA específica 1
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>)
AIS	Adenocarcinoma <i>in situ</i>
AGC	Atipias de Células Glandulares (<i>Atypical Glandular Cells</i>)
ASC	Atipias de Células Escamosas (<i>Atypical Squamous Cells</i>)
ASC-H	Atipias de Células Escamosas de Significado Indeterminado não podendo afastar Lesão de Alto Grau (<i>Atypical Squamous Cells cannot exclude High-grade squamous lesion</i>)
ASC-US	Atipias de Células Escamosas de Significado Indeterminado (<i>Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance</i>)
BPV	Papilomavírus Bovino (<i>Bovine Papillomavirus</i>)
CCI	Carcinoma Cervical Invasor
CH2	Captura Híbrida 2
DNA	Ácido Desoxirribonucléico (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
DST	Doença Sexualmente Transmissível
EBMSP	Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
GAVI	Aliança Global para Vacinas e Imunização (<i>Global Alliance for Vaccines and Immunization</i>)
HAART	Terapia Antiretroviral Fortemente Ativa (<i>High Active Antiretroviral Therapy</i>)
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (<i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
HPV	Papilomavírus Humano (<i>Human Papillomavirus</i>)
HPV-AR	HPV de Alto Risco
HPV-BR	HPV de Baixo Risco
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (<i>International Agency for Research on Cancer</i>)
IC	Intervalo de confiança
ICTV	Comitê Internacional de Taxonomia Viral (<i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>)
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva

LAST	Terminologia Anogenital Inferior (<i>Lower Anogenital Squamous Terminology</i>)
LCR	Região Longa de Controle (<i>Long Control Region</i>)
LIE-AG	Lesão Intra-Epitelial de Alto Grau
LIE-BG	Lesão Intra-Epitelial de Baixo Grau
NIC	Neoplasia Intra-Epitelial Cervical
NIC1	Neoplasia Intra-Epitelial Cervical grau 1
NIC2	Neoplasia Intra-Epitelial Cervical grau 2
NIC2+	Neoplasia Intra-Epitelial Cervical \geq grau 2
NIC3	Neoplasia Intra-Epitelial Cervical grau 3
NIVA	Neoplasia Intra-Epithelial Vaginal
NIVA2+	Neoplasia Intra-Epithelial Vaginal \geq grau 2
NIV	Neoplasia Intra-Epitelial Vulvar
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORF	Região Aberta de Leitura (<i>Open Reading Frame</i>)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PV	Papilomavírus
pRb	Proteína do Retinoblastoma
RNA	Ácido Ribonucléico (<i>Ribonucleic Acid</i>)
SPF	Pequeno fragmento da PCR (<i>Short PCR fragment</i>)
SPSS	Pacote Estatístico para Ciências Sociais (<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>)
VLP	Partículas Vírus-Símile (<i>Virus-like Particle</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1	Papilomavírus	21
2.1.1	Vírus e Câncer	21
2.1.2	Caracterização do genoma e estrutura do HPV	22
2.1.3	Taxonomia e nomenclatura	23
2.1.3.1	<i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>	23
2.1.3.2	Classificação dos papilomavírus	24
2.1.4	O Papilomavírus Humano	27
2.1.5	Ciclo do HPV	29
2.1.6	História natural da infecção pelo HPV na cervix	30
2.2	Prevalência e distribuição geográfica	31
2.3	Infecção por múltiplos tipos de HPV	35
2.4	HPV e HIV	36
2.5	Exames diagnósticos	37
2.5.1	Exame Citopatológico	37
2.5.2	Histopatologia	38
2.5.3	Testes moleculares	39
2.6	Rastreo do câncer e lesões pré-neoplásicas cervicais	40
2.7	Vacinas contra o HPV	41
3	OBJETIVOS	44
3.1	Objetivo primário	44
3.2	Objetivos secundários	44
4	METODOLOGIA, MATERIAL E MÉTODO	45
4.1	Desenho do estudo	45
4.2	População de estudo e metodologia	45
4.3	Crítérios de inclusão e exclusão	45
4.4	Tamanho amostral	45
4.5	Análise e tratamento dos dados	46
4.6	Aspectos éticos	47

5	RESULTADOS	48
5.1	Características da população de estudo	48
5.2	Achados cito-histopatológicos	49
5.3	Distribuição dos genótipos de HPV	50
6	DISCUSSÃO	56
7	LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS	60
8	CONCLUSÕES	62
	REFERÊNCIAS	63
	ANEXOS	72

INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é um dos agentes mais frequentes a causar doença sexualmente transmissível (DST) no mundo. Estima-se que 80% das mulheres sexualmente ativas entrem em contato com o vírus em algum momento da vida¹. Existem mais de 180 tipos de HPV, dos quais 40 podem infectar o trato genital e são classificados de acordo com o risco oncogênico em HPV de alto (HPV-AR) e baixo risco (HPV-BR)^{2,3}. A persistência da infecção pelo HPV-AR é associada ao carcinoma cervical⁴⁻⁵. Anualmente, 270 mil mulheres morrem no mundo devido ao câncer do colo do útero e são previstos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) 316.850 mortes em 2015 e um milhão de novos casos por ano em 2050⁶. Para 2014, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima 15.590 novos casos de câncer cervical no Brasil⁷.

A distribuição dos tipos de HPV varia de acordo com o grau da lesão, assim como a localização geográfica⁸. É consenso que o HPV 16 é o tipo mais frequente globalmente e a contribuição relativa aumenta à medida que piora o grau da lesão⁹. O HPV 16 está presente em 20,4% das mulheres com citologias normais, 25,1% das lesões intra-epiteliais de baixo grau (LIE-BG) e em 47,5% das lesões intra-epiteliais de alto grau (LIE-AG)⁹. Essas frequências são compatíveis com o potencial carcinogênico deste genótipo. A importância relativa dos demais tipos varia entre as diferentes regiões do mundo¹⁰.

Entre mulheres com citologia normal, após o HPV 16, o segundo tipo mais frequente na estimativa global é o HPV 18, contudo o HPV 31 é especialmente mais frequente na Europa e o HPV 52, na América, África e Ásia¹¹. O HPV 58 figura entre os tipos mais comuns na América Latina¹². Nas LIE-BG, a proporção atribuída ao HPV 16 varia amplamente. Apesar de possuírem prevalência da infecção pelo HPV muito maior que as europeias, as africanas possuem menor probabilidade de se infectar pelo HPV 16. As mulheres da América do Sul apresentam padrão de distribuição intermediário entre a África e a Europa¹³. Esta mesma tendência é observada nas análises que avaliam a distribuição dos genótipos de HPV nas LIE-AG e Carcinoma Cervical Invasor (CCI)^{13,14}, demonstrando que a prevalência do HPV 16 varia por região geográfica, sendo maior na Europa e mais baixa na África. Em relação ao HPV 18, é observado que mulheres da América do Norte e Ásia têm maior probabilidade de infecção por este genótipo do que as europeias e as da América do Sul/Central. A maior prevalência do HPV 31 na Europa e HPV 51

na Ásia, é consistente com os achados encontrados nas mulheres com LIE-AG e CCI^{13,14}. Os genótipos HPV 16 e/ou 18 são responsáveis por 70% dos casos de câncer cervical^{14,15}, entretanto, esta fração é maior em regiões mais desenvolvidas. Na América do Sul, essa proporção é de 65%⁸.

Apesar dos dados do Brasil serem plenamente concordantes em relação à maior frequência do HPV 16, observa-se uma variação na distribuição dos demais genótipos entre diferentes regiões do país¹⁶⁻¹⁷, contudo existe concentração dos estudos nos estados da Região Sudeste¹⁸. Em busca nos portais MEDLINE e LILACS, em julho/2013, utilizando-se os termos “*genotype*”, “HPV”, “*prevalence*” e “*Brazil*” foi encontrada apenas uma publicação de estudo piloto sobre a distribuição dos genótipos de HPV na Bahia, com 43 pacientes¹⁹. Destas, 20 eram HIV-positivas, e os tipos mais encontrados foram HPV 16, HPV 52 e HPV 56, enquanto no grupo controle com 35 mulheres, os mais frequentes foram HPV 16, HPV 58 e HPV 52, o que corrobora a existência de uma variação desta distribuição na Bahia, talvez devido à predominante afrodescendência da população¹⁹.

A vacina profilática tem sido considerada a intervenção mais efetiva para prevenção primária do câncer cervical e lesões HPV-induzidas, conferindo proteção contra os genótipos específicos: a bivalente imuniza contra os tipos 16 e 18²⁰, a quadrivalente para os genótipos 6, 11, 16 e 18²¹, e a nonavalente irá ampliar a cobertura para mais 5 tipos oncogênicos: 31, 33, 45, 52 e 58²².

É indubitável o benefício potencial da vacina na redução da morbi-mortalidade pelo câncer do colo do útero, principalmente em países em desenvolvimento, onde 86% de todos os casos ocorrem²³. Entretanto, o impacto da vacinação estará relacionado não só com uma boa cobertura vacinal no início da vida sexual, mas também à dependência da proporção de casos atribuíveis aos tipos oncogênicos contemplados pelas vacinas^{24,25}.

Diante da escassez de estudos na Região Nordeste do Brasil e da diversidade na distribuição dos diferentes genótipos de HPV em várias regiões do mundo, o presente trabalho tem como objetivos: descrever a distribuição dos genótipos de papilomavírus humano em uma amostra de mulheres procedentes do estado da Bahia, atendidas em clínica de referência para

patologia do trato genital inferior, testar associação entre genótipos de HPV e resultados citohistopatológicos, associação entre genótipos de HPV e faixa etária, descrever a frequência de infecções por múltiplos genótipos e dos tipos contemplados pelas vacinas contra HPV.

A análise da distribuição geográfica dos diferentes genótipos é relevante, uma vez que as proporções dos diferentes genótipos podem interferir, em certo grau, na resposta às vacinas profiláticas existentes e a serem desenvolvidas. Estudos regionais como este, mostram-se ainda mais importantes com o advento da vacina, e podem ser úteis para o monitoramento epidemiológico pós-vacinal e para orientação do planejamento das políticas públicas de saúde em ações para prevenção, seja secundária, com exames de rastreamento para lesões pré-neoplásicas, seja primária, com a vacina.

REVISÃO DA LITERATURA

Ao longo das últimas décadas, o avanço da ciência permitiu grandes mudanças na prevenção, diagnóstico e tratamento das lesões HPV-induzidas e a comprovação do HPV como agente carcinogênico. A redução da taxa de incidência de câncer cervical do segundo para o terceiro mais prevalente no mundo é fruto do esforço de tantos pesquisadores, porém muito ainda há de ser feito, principalmente nos países em desenvolvimento, que detêm 88% das mortes por câncer cervical²³.

2.1. Papilomavírus

Os papilomavírus são vírus pequenos com diâmetro uniforme de aproximadamente 52-55nm²⁶. Eles são vírus ubiquitários, altamente espécie-específicos, já isolados e caracterizados em répteis, aves e mamíferos^{27,28}, sugerindo uma evolução de mais de 300 milhões de anos²⁹.

2.1.1. Vírus e Câncer

Peyton Rous ganhou o prêmio Nobel em 1966 por isolar, em galinhas, o primeiro vírus associado ao câncer, o retrovírus do sarcoma de Rous. Este mesmo pesquisador foi o pioneiro em estudar o potencial carcinogênico dos papilomavírus em coelhos. Em 1964, o ácido desoxirribonucléico (DNA) do vírus Epstein-Barr foi isolado do linfoma de Burkitt, e em 1968 foi provado que os vírus tinham a capacidade de persistir na célula tumoral por integração ao genoma, modificando-o e levando ao crescimento tumoral³⁰. Em 1972, Harald Zur Hausen e sua equipe conseguiram extrair o DNA do HPV de uma verruga plantar, porém este não era igual ao vírus encontrado nas verrugas genitais. O mesmo se repetiu com outras lesões verrucosas, demonstrando que o papilomavírus não era um vírus único³¹. Em 1977, o HPV 6 foi extraído de uma verruga genital e logo em seguida o HPV 11, porém eram diferentes dos encontrados no câncer cervical. O HPV 16 foi identificado em 1983, presente em metade dos casos de câncer cervical. No ano seguinte, foi clonado e caracterizado o HPV 18, encontrado em 17 a 20% dos cânceres cervicais³². Zur Hausen foi laureado com o Prêmio Nobel em 2008 por ter demonstrado o papel do HPV no desenvolvimento do câncer do colo do útero³³.

2.1.2. Caracterização do genoma e estrutura do HPV

O genoma do HPV consiste em uma única molécula de DNA circular de dupla hélice com aproximadamente 8.000 pares de bases associadas às histonas, envolvida por um capsídeo formado por 72 capsômeros organizados em forma icosaédrica, composto por duas proteínas estruturais denominadas L1 e L2³⁴. Essas proteínas são responsáveis pela imunogenicidade dos vírus e *in vitro* formam as partículas vírus-símile (VLP – *Virus-like Particle*), que são a base para a fabricação das vacinas profiláticas contra o HPV, pela indução de anticorpos neutralizantes. O HPV se assemelha a uma “bola de golfe” ao microscópio eletrônico³⁵ (Figura I).

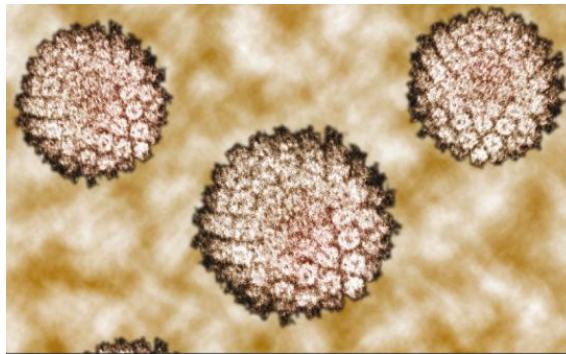


Figura I. Figura ilustrativa da partícula viral do HPV. Fonte: Wheeler (2010)²⁴.

O DNA dos papilomavírus contém aproximadamente 8 fases abertas de leitura (ORF - *open reading frame*) que estão restritas a apenas uma fita. O genoma é dividido funcionalmente em três partes (i) a região não codificante, denominada LCR (*long control region*), que regula a expressão gênica e replicação viral, (ii) a região precoce (E de *early*) que codifica as proteínas regulatórias E1, E2, E4, E5, E6 e E7, responsáveis pela replicação viral e oncogênese, e (iii) a região tardia (L de *late*), responsável pela codificação das proteínas estruturais do capsídeo, L1 e L2, que são expressas apenas na fase produtiva da infecção. Os termos *precoce* e *tardio* referem-se à expressão destas proteínas na fase do ciclo viral (Figura II)^{3,35-37}.

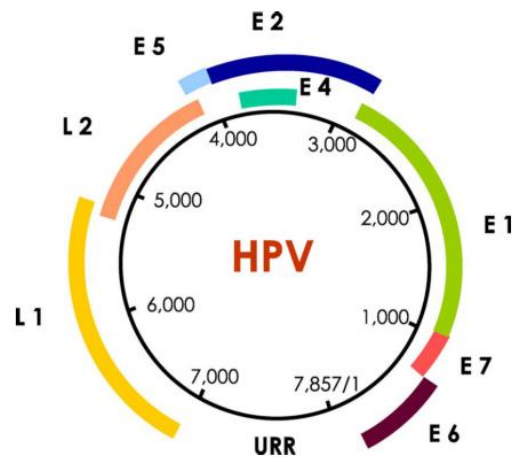


Figura II. Representação do genoma do HPV. Fonte: Muñoz *et al.* (2006)³⁶.

2.1.3. Taxonomia e nomenclatura

Os papilomavírus são identificados pela sigla PV e pelas iniciais da espécie animal que infectam, como por exemplo, bovinos (*Bovine papillomavirus* – BPV) e humanos (*Human papillomavirus* - HPV). Tradicionalmente um papilomavírus isolado é descrito como “tipo” e identificado por um número de acordo com a ordem cronológica do seu sequenciamento^{27,38}.

2.1.3.1. *International Committee on Taxonomy of Viruses*

O *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) foi criado para estabelecer uma taxonomia internacional para os vírus, e teve seu primeiro relatório publicado em 1971². Com o avanço das técnicas laboratoriais de biologia molecular e o isolamento do HPV nos anos 1970³⁹, associados à falta de cultura de tecido adequada para propagá-los e à produção inadequada de anticorpos, que pudessem classificá-los como sorotipos⁴⁰, os papilomavírus foram classificados pela sequência de nucleotídeos que codificam a proteína do capsídeo L1, denominados assim genótipos, e não sorotipos^{27,28}. A continuidade do desenvolvimento das técnicas de detecção do vírus facilitou a descoberta de vários novos tipos de papilomavírus por diversos centros, levando à necessidade de unificar a nomenclatura e estabelecer um centro onde os numerosos tipos de HPV fossem depositados e comparados com os já existentes. A partir de 1985, o *International HPV Reference Center* passou a confirmar a sequência DNA de um novo

tipo de HPV, após o genoma ser totalmente clonado, atribuir um número sequencial, manter a referência e distribuir amostras do material para pesquisas². Em 2004, foi publicada uma classificação oficial para os papilomavírus²⁷ e, em 2010, proposta uma atualização dessa classificação²⁸. A introdução de nova geração de técnicas de sequenciamento ampliará o número de novos tipos e possivelmente novas discussões desta nomenclatura^{41,42}.

2.1.3.2. Classificação dos papilomavírus

Os papilomavírus eram classificados junto aos poliomavírus na família *Papovaviridae*, baseados na similaridade de serem vírus nus e terem genoma com DNA de dupla fita, porém novos estudos permitiram concluir que pertenciam a duas famílias distintas. Os papilomavírus pertencem à família *Papillomaviridae*^{27,38}.

A proteína L1 do capsídeo viral é a região mais conservada do genoma, e por isto as versões das classificações em 2004²⁷ e em 2010²⁸ são baseadas na sequência dos nucleotídeos do gene codificador desta proteína e em características filogenéticas⁴⁰. Um novo tipo de HPV é identificado quando tem todo o genoma codificado e a sequência dos nucleotídeos de L1 difere mais de 10% em relação a qualquer outro tipo. A ICTV utiliza a nomenclatura gênero e espécie. Gêneros diferentes compartilham menos de 60% da sequência de nucleotídeos, e as espécies têm similaridade entre 60% a 70%. O termo “tipo” é utilizado para identificar os vírus inclusos nas espécies e com similaridade entre 71% a 89%. Diferenças entre 2 a 10% definem um subtipo, e diferenças menores que 2%, uma variante²⁷⁻²⁹.

As propriedades biológicas e patológicas dos vírus frequentemente coincidem com a classificação filogenética. Por exemplo, os tipos que formam a espécie com HPV 16 são de alto risco e encontrados nas lesões cervicais. O tipo para representar cada espécie foi escolhido ou por ser o mais estudado ou por melhor representar a espécie ou por ser o único. Os gêneros são identificados por uma letra grega. Em 2010, com a identificação de 13 novos gêneros, foi proposto o uso do prefixo “*dyo*” (do grego: “segunda vez”) para acomodar o grande número de novos tipos sequenciados, que excedeu o alfabeto grego. As designações *Dyoalpha*, *Dyobeta* e *Dyogamma* não foram incluídas, por serem os gêneros clinicamente mais importantes e numerosos²⁸. Na classificação de 2004, havia 118 tipos de HPV reunidos em 16 gêneros²⁷ (Figura

III), e com a expansão da classificação, atualmente existem 29 gêneros, formados por 189 tipos de HPV e 69 papilomavírus isolados de outras espécies²⁸ (Figura IV).

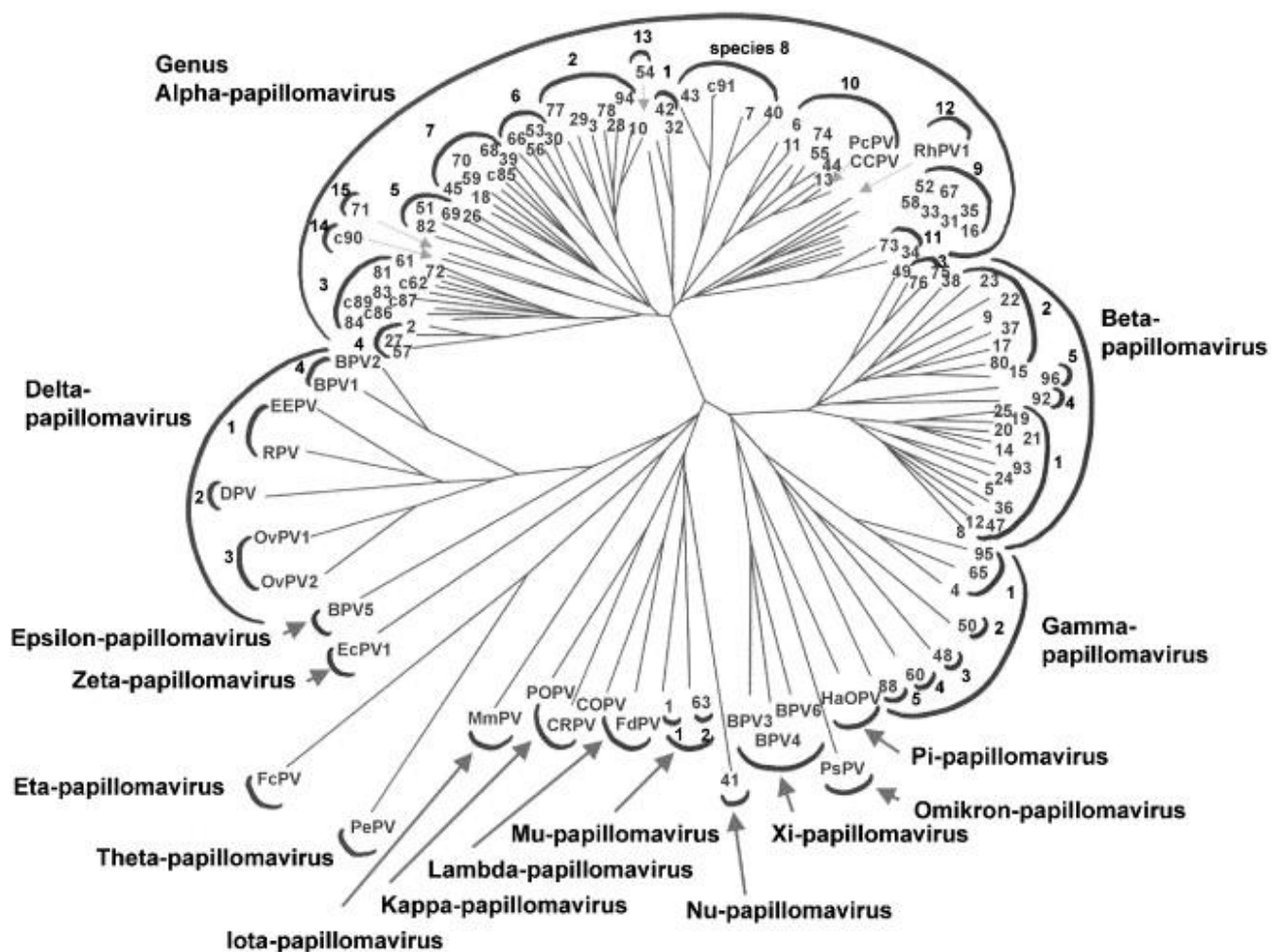


Figura III. Árvore filogenética contendo a sequência de 118 tipos de papilomavírus. Os números ao final de cada braço identificam os tipos de HPV, c-número representa os candidatos a novos tipos de HPV. Todas as outras abreviações são referentes aos animais que os papilomavírus infectam. Os semicírculos externos identificam os gêneros e os semicírculos internos referem-se às espécies de papilomavírus. Fonte: Adaptado de Villiers *et al.* (2004)²⁷.

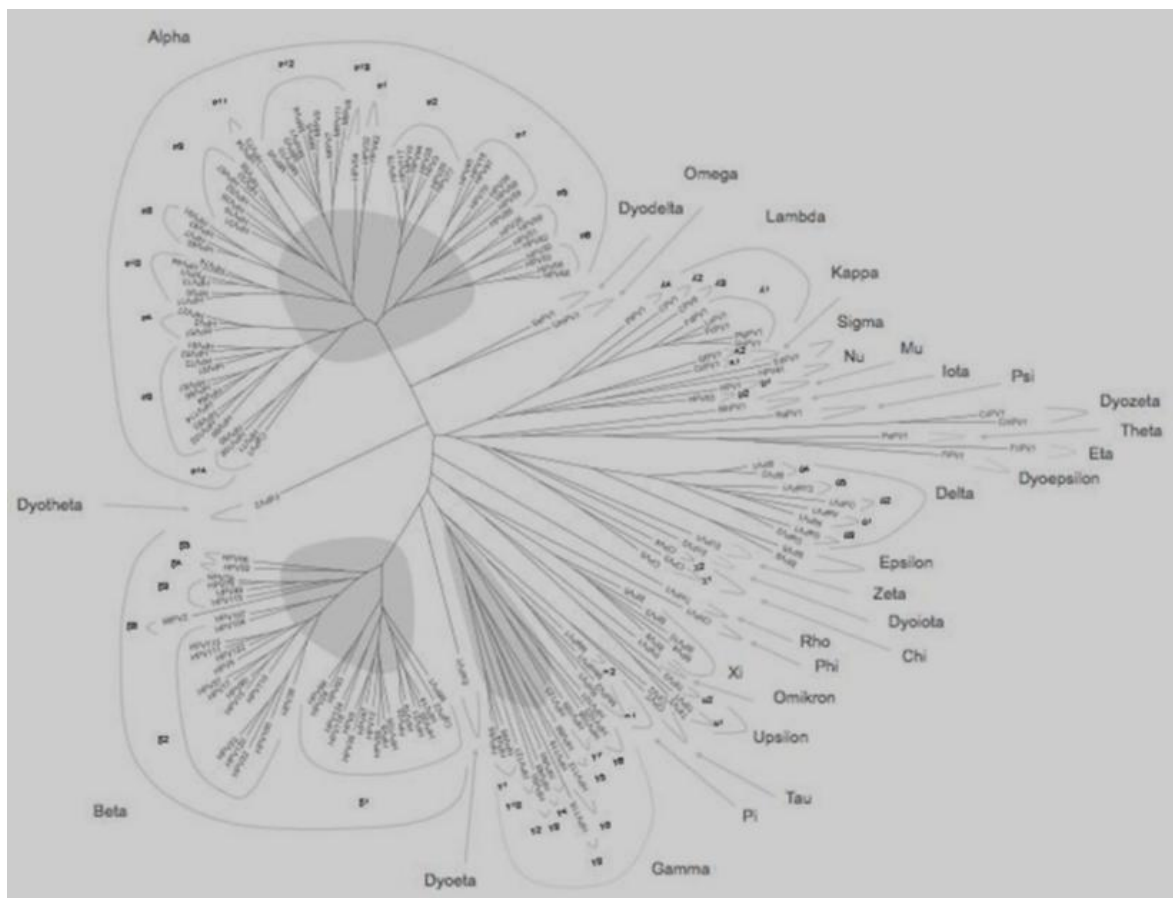


Figura IV. Árvore filogenética inferida a partir das seqüências de nucleotídeos L1 de 189 papilomavírus. Fonte: Bernard *et al.* (2010)²⁸.

Um suposto novo tipo de HPV, sequenciado parcialmente, é identificado pela abreviatura do pesquisador ou laboratório de origem (por exemplo, LVX160 para Luisa Villa X160)^{27,43}. A designação “HPV-número” só é dada após a caracterização completa do genoma, a ser verificado pelo *Reference Center for Papillomaviruses*²⁷. Na classificação anterior de Villiers *et al.*, novos tipos de HPV identificados por PCR eram rotulados com a abreviação “*cand*” (de candidato)²⁷, porém na atualização da nomenclatura, este termo foi abandonado²⁸.

As novas técnicas de biologia molecular permitiram atualizar a classificação equivocada de alguns tipos de HPV, a exemplo do HPV 55, que apresenta 95% de similaridade com o genoma do HPV 44. O mesmo se aplica aos HPV 64 e 34, HPV 46 e 20⁴⁴.

2.1.4. O Papimomavírus Humano

Existem mais 180 tipos de papilomavírus humanos caracterizados e seqüenciados e aproximadamente 40 infectam o trato genital². A infecção HPV pode ficar na forma latente ou causar uma variedade de lesões, desde condilomas até o câncer cervical^{5,45}.

Os papilomavírus humano pertencem a cinco gêneros: *Alpha-papillomavirus*, *Beta-papillomavirus*, *Gamma-papillomavirus*, *Mu-papillomavirus* e *Nu-papillomavirus*²⁸. Dos tipos descritos, 90% pertencem aos gêneros alpha e beta, sendo portanto considerados os gêneros mais importantes e mais estudados. Os tipos de HPV que infectam o trato genital pertencem ao gênero alpha, enquanto os dos gêneros Beta, Gamma, Mu e Nu são associados às infecções cutâneas^{9,46}.

Tradicionalmente, os genótipos são classificados como de baixo ou alto risco em função do seu potencial oncogênico. Entretanto, apesar de ser considerado um agente biológico carcinogênico para seres humanos³, apenas uma pequena fração tem um potencial carcinogênico comprovado, e este comportamento está correlacionado à classificação filogenética^{47,48}. O câncer cervical é causado pelos tipos de HPV que pertencem ao gênero alpha (alpha-5, 6, 7, 9 e 11)^{36,46,49} (FiguraV).

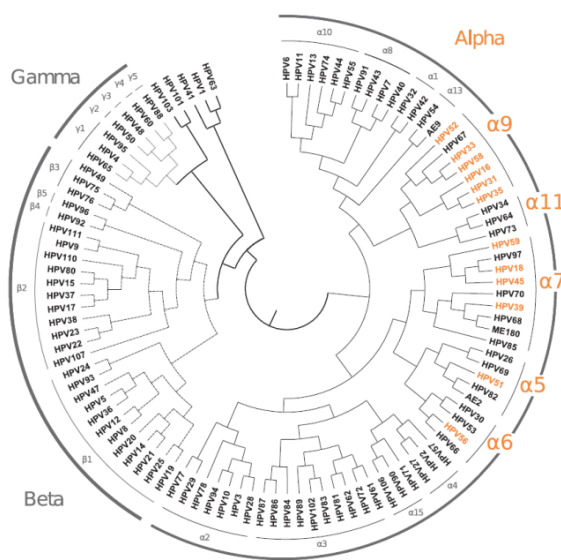


Figura V. Árvore filogenética de 100 tipos de HPV com ênfase nos de alto-risco da espécie alpha. Fonte: IARC Monographs 100B (2012)⁴⁶.

As espécies alpha-9 (relacionada ao HPV 16) e alpha-7 (relacionada ao HPV 18), são consideradas as mais importantes, devido aos tipos oncogênicos 16 e 18 estarem presentes em 70% dos cânceres cervicais no mundo^{14,36}.

A IARC (*International Agency for Research on Cancer*) classifica estes vírus como: carcinogênico (grupo 1), provavelmente carcinogênico (grupo 2A), possivelmente carcinogênico (grupo 2B), não classificado (grupo 3) e provavelmente não carcinogênico (grupo 4). A revisão publicada em 2009 conclui que há evidência suficiente para classificar doze genótipos como oncogênicos e outros treze, com evidência limitada de risco oncogênico (Quadro I)⁴⁹.

Grupo	Tipos de HPV	Comentários
Tipos de HPV Alpha		
1	16	Tipo mais potente de HPV, conhecido por causar câncer em diversos locais
1	18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	Evidência suficiente para câncer cervical
2A	68	Evidência limitada em humanos e forte evidência mecanicista para câncer cervical
2B	26, 53, 66, 67, 70, 73, 82	Evidência limitada para câncer cervical em humanos
2B	30, 34, 69, 85, 97	Classificados por analogia filogenética para tipos de HPV com evidências suficientes ou limitadas em humanos
3	6, 11	...
Tipos de HPV Beta		
2B	5 e 8	Evidência limitada de câncer de pele em pacientes com epidermodisplasia verruciforme
3	Outros tipos Beta e Gamma	...

Quadro I. Tipos de HPV avaliados pela IARC *Monograph Working Group*. Fonte: Tabela adaptada de Bouvard *et al.* (2009)⁴⁹.

O HPV 16 é significativamente mais comum no carcinoma cervical invasivo do que na LIE-AG ou LIE-BG, enquanto outros genótipos são mais frequentes nas lesões pré-neoplásicas do que no CCI⁸. Esses dados sugerem que o HPV 16 tem uma maior vantagem biológica para transmissão, persistência e transformação, por isto é considerado o genótipo com maior potencial oncogênico^{14,50}, seguido pelos HPV 18 e 45^{9,51,52}.

Ademais, os tipos oncogênicos, predominantemente o HPV 16, também são associados a outros cânceres anogenitais, como em vulva, vagina, ânus e pênis⁵³.

2.1.5. Ciclo do HPV

A infecção pelo HPV ocorre inicialmente através de microlesões no epitélio, que permitem ao vírus alcançar as células da camada basal. A partícula viral é internalizada, ocorre o desnudamento e o genoma é transferido para o núcleo celular, onde fica na forma episomal⁵⁴. O HPV necessita das células basais, que ainda têm a capacidade de se proliferar. Os genes precoces E1 e E2 são expressos e limitam a multiplicação do genoma viral para um pequeno número de cópias, independente e simultaneamente à célula hospedeira. Esta é a chamada fase não produtiva, que acontece durante a fase S do ciclo celular. À medida que as células da camada basal começam a passar para as camadas mais superficiais, perdem a capacidade de se dividir e começam a se diferenciar. O vírus continua a se multiplicar, amplificando o genoma viral em milhares de cópias por célula⁵⁵. Os produtos dos genes são expressos em diferentes fases da diferenciação celular. Nas camadas superiores, os genes L1 e L2 são transcritos para formar o capsídeo, empacotar o genoma e formar os virions, que serão transmitidos pela descamação das células infectadas, iniciando novo ciclo⁵⁴. Esta é a fase produtiva do ciclo viral, quando o risco de transmissão é muito grande. A persistência da infecção pelo vírus oncogênico está associada com a progressão para câncer. A expressão das proteínas E6 e E7 leva à imortalização e transformação celular. A proteína E6 interage com a proteína supressora do crescimento tumoral p53, interferindo nos mecanismos de apoptose e reparo do DNA, e a proteína E7 à proteína supressora do retinoblastoma (pRb), resultando em distúrbios do ciclo celular³⁴. A integração do HPV oncogênico ao genoma celular é o evento final do ciclo celular, já que uma vez integrado ao genoma celular, a multiplicação não mais ocorre⁵⁵.

2.1.6. História natural da infecção pelo HPV na cervix

Estima-se que 80% das mulheres sexualmente ativas entrem em contato com o vírus HPV em algum momento da vida¹. Após a exposição, na grande maioria ocorre o *clearance* do vírus pelo sistema imune^{45,56}. A remissão espontânea da infecção ocorre em mais de 90% dos casos, dentro de dois anos^{57,58}. Uma pequena parte das mulheres não elimina o vírus e desenvolve alterações citológicas, frequentemente transitórias. O vírus pode ficar na forma latente, contudo existem muitas controvérsias se a infecção latente pode reativar com a queda da imunidade. Alguns autores acreditam que um novo teste HPV-positivo está relacionado com uma reinfecção e não uma reativação^{57,59}. A persistência da infecção pelo HPV oncogênico está associada à transformação maligna (Figura VI). Atualizações sobre a história natural consideram que a neoplasia intra-epitelial cervical grau 1 (NIC1) e a neoplasia intra-epitelial cervical grau 3 (NIC3) são duas manifestações distintas do vírus. NIC1 representa alterações transitórias do ciclo produtivo do vírus e a NIC3, uma lesão potencialmente pré-maligna. O risco de progressão de NIC1 para lesão mais grave é de 1% ao ano. Atualmente, acredita-se que a NIC1 pode progredir diretamente para NIC3, sem passar por neoplasia intra-epitelial cervical grau 2 (NIC2)⁴⁵. A reprodutibilidade de NIC2 à histopatologia é baixa. Estudos mostram uma discrepância nas taxas de regressão de NIC2 entre jovens (70%) e mulheres mais velhas (30-50%). Estes dados indicam que a NIC2 pode ser realmente uma lesão intermediária com potenciais próprios de regressão/progressão, ou são taxas decorrentes dos equívocos diagnósticos⁵⁹. Estas novas concepções orientam o manejo das lesões HPV-induzidas, permitindo condutas mais conservadoras, principalmente nas jovens.

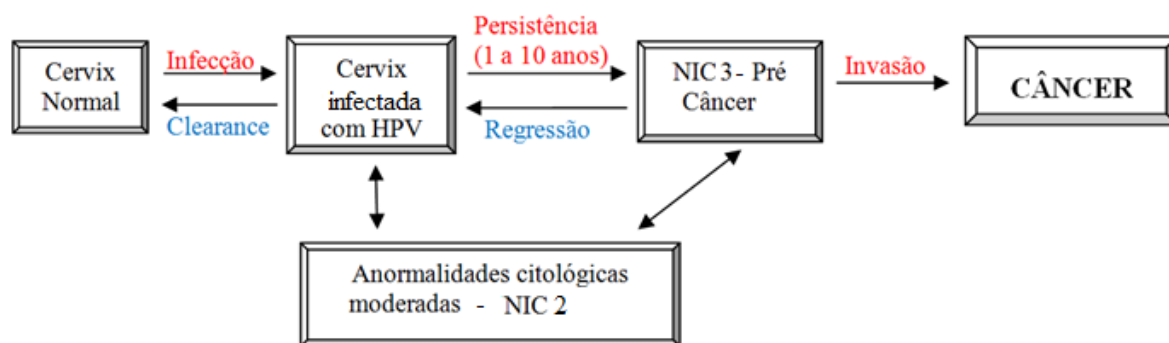


Figura VI. Principais passos na carcinogênese cervical. Fonte: Figura adaptada de Bosch *et al.*(2006)⁴⁵

2.2. Prevalência e distribuição geográfica

As estimativas da prevalência da infecção pelo HPV variam com a idade, presença de lesão e entre diferentes regiões do globo^{11,60}.

Tipicamente, a prevalência da infecção pelo HPV desenha uma curva bimodal em “U”, com o primeiro pico em mulheres jovens, logo após o início da vida sexual. A seguir, é observado um declínio e a prevalência permanece baixa após os 30 anos até ocorrer um segundo pico, mais tênue, em mulheres mais velhas. Na América do Sul, este pico é identificado acima dos 45 anos (Figura VII)^{11,60}. A elevação da frequência em mulheres mais velhas não está bem elucidada. Pode ser decorrente de uma nova contaminação ou por reativação do vírus após período de latência⁵⁷.

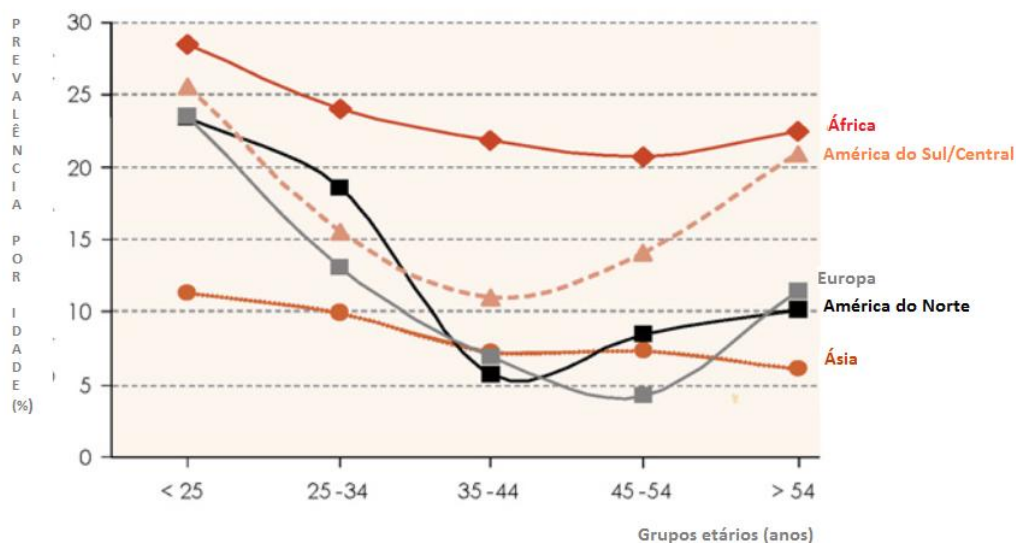


Figura VII. Prevalência da infecção pelo HPV por grupo etário e continente, entre mulheres com citologia normal. Fonte: Figura adaptada de Bosch *et al.* (2008)⁶⁰.

A prevalência mundial da infecção pelo HPV é estimada em torno de 10% entre mulheres com citologia normal^{11,61}, porém apresentam grande variação entre as distintas regiões geográficas. As taxas são mais elevadas no continente africano (24%), leste europeu (21%) e

América Latina (16%)¹¹. Em revisão sistemática, a prevalência no Brasil variou de 10,4% a 24,5% entre as mulheres com citologia normal¹⁸.

A prevalência aumenta na presença de patologia cervical, proporcionalmente à severidade da lesão, alcançando cifras acima de 90%, no CCI¹⁵.

A distribuição dos tipos de HPV é expressa, frequentemente, como uma proporção de um dado genótipo entre os testes positivos⁸. Assim como nas estimativas da prevalência geral, ocorrem diferenças na distribuição geográfica mundial. Esta heterogeneidade pode estar relacionada às flutuações do vírus, ao acaso, ou à lacuna na representatividade de populações de algumas regiões, como a América Latina⁶².

É consenso que o HPV 16 é o tipo mais frequente globalmente, contudo a contribuição relativa aumenta à medida que piora o grau da lesão. Em citologias normais, o HPV 16 está presente em 20,4%, nas LIE-BG em 25,1%, e nas LIE-AG, em 47,5%. A positividade do HPV 16 chega a alcançar 62,6% dos espécimes de CCI. Essas frequências são compatíveis com o potencial carcinogênico deste genótipo⁹.

Entre as citologias normais, os tipos mais comumente encontrados são semelhantes aos descritos nas lesões pré-neoplásicas, porém a frequência dos tipos 16 e 18 é menor³. Em metanálise com 215.568 mulheres com citologia normal, os tipos oncogênicos mais encontrados foram 16, 18, 52, 31, 58, 39, 51 e 56. O HPV 16 foi detectado em 22,5% das mulheres HPV-positivas. O segundo genótipo mais comum na prevalência mundial, foi o HPV 18, porém com algumas variações geográficas. O HPV 31 foi mais comum na Europa, enquanto o HPV 52 foi especialmente mais frequente na América do Norte, África e Ásia (Fig. VIII)¹¹. Em metanálise da IARC, o HPV 58 esteve entre os tipos mais comuns na América Latina¹².

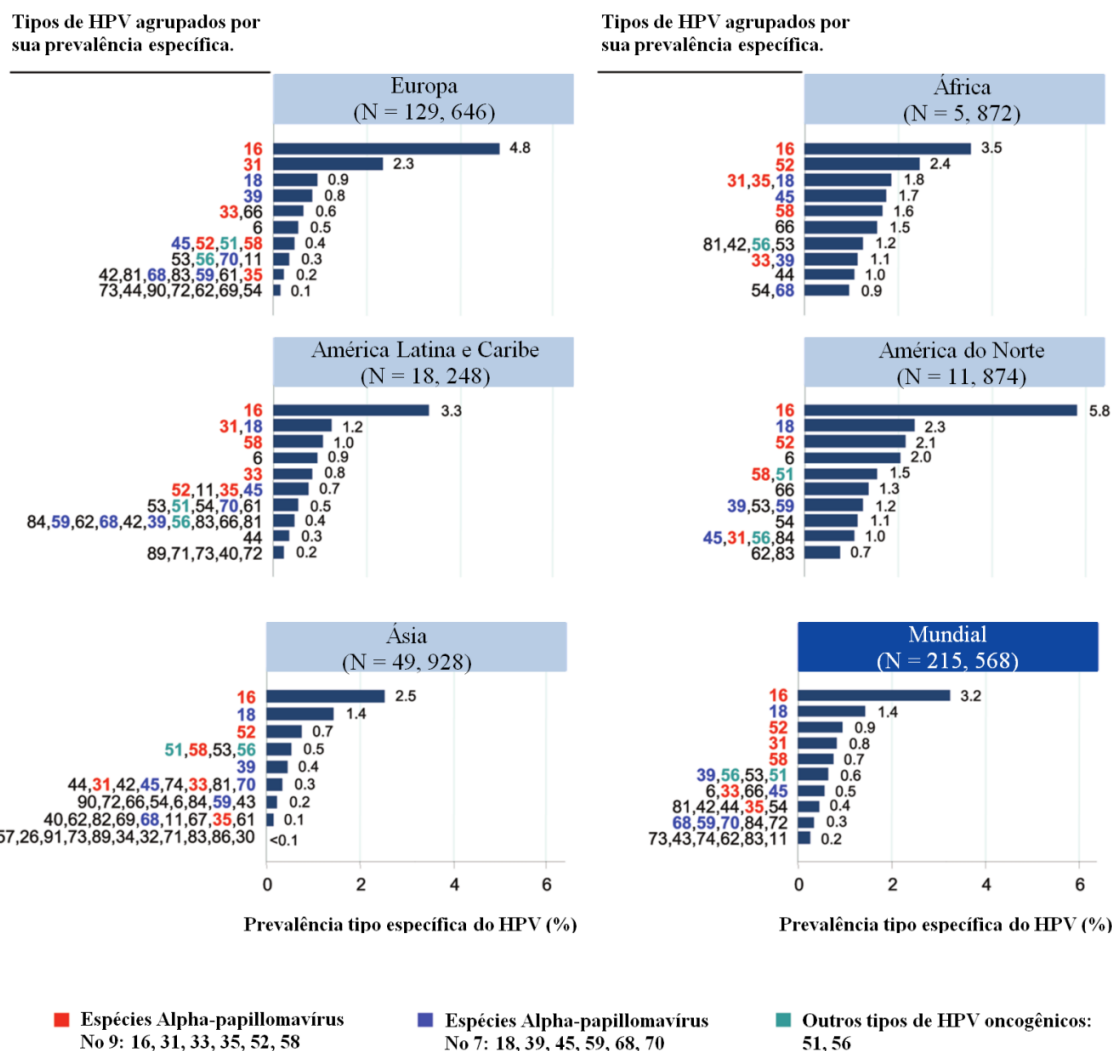


Figura VIII. Prevalência tipo-específico do HPV por região geográfica em metanálise entre mulheres apresentando citologia normal. Fonte: Figura adaptada de Bruni *et al.* (2010)¹¹.

Em relação aos HPV-BR, o genótipo 42 é descrito como o mais prevalente entre as mulheres com citologia normal¹². O tipos 6 e 11 são responsáveis por 90% das verrugas genitais⁶³.

Globalmente, o HPV 16 também se apresenta como o mais frequente (26,3%) nas LIE-BG, seguido pelos genótipos 31 (11,5%), 51 (10,6%) e 53 (10,2%)¹³. Entretanto, a proporção atribuída ao HPV 16 varia amplamente. A África subsaariana apresenta uma correlação inversa entre altas taxas de prevalência e a baixa contribuição do tipo 16. Apesar de possuírem prevalência da infecção pelo HPV muito maior que as europeias, as africanas possuem duas vezes menos

probabilidade de se infectar pelo HPV 16. As mulheres da América do Sul apresentam padrão de distribuição entre a África e a Europa¹³. Esta mesma tendência é observada nas metanálises que avaliam a distribuição dos genótipos nas LIE-AG e CCI¹⁴, demonstrando que a prevalência do HPV 16 varia por região geográfica, sendo maior na Europa e mais baixa na África. Em relação ao HPV 18, é observado que mulheres provenientes da América do Norte e Ásia têm maior probabilidade de infecção por este genótipo do que as europeias e as da América do Sul/Central. A maior prevalência do HPV 31 na Europa e HPV 58 na Ásia, é consistente com os achados encontrados nas LIE-AG e CCI¹³.

Estas diferenças geográficas nas proporções dos diferentes genótipos podem interferir, em certo grau, na resposta às vacinas profiláticas contra os HPV 16 e 18, apesar das diferenças tornarem-se menos pronunciadas com a severidade das lesões, onde o HPV 16 predomina^{9,11}.

Os dois estudos brasileiros incluídos na metanálise que avalia a prevalência tipo-específico nas LIE-BG mostraram HPV 31 (22,6%), 16 (19,4%), 33 (11,3%) e 58 (6,5%) entre os mais encontrados em um estudo, e HPV 16 (26%), 51 e 53 (14,8%, cada) e 31, 52 e 58 (11,3%, cada) no segundo^{13,64}. Já os estudos brasileiros incluídos na metanálise que pesquisa a distribuição dos genótipos de HPV nas LIE-AG e CCI apresentaram a seguinte distribuição: no primeiro, HPV 16 (56,7%), HPV 33 (8,3%) e HPV 58 (10%) e no outro estudo, HPV 16 (30,5%), HPV 31 (8,4%) e HPV 58 (7,4%)^{14,64}.

Os genótipos HPV 16 e/ou 18 são responsáveis por 70% dos casos de câncer cervical^{14,15}, porém esta fração é maior em regiões mais desenvolvidas. Na América do Sul, essa proporção é de 65%⁸. Em estudo na América Latina, 53,2% dos casos de CCI foram atribuídos ao HPV 16 e 13,2%, ao HPV 18⁶². Em ordem decrescente, os outros tipos mais encontrados mundialmente no CCI foram: HPV 45, 31, 33, 52, 58 e 35, exceto na Ásia, onde os HPV 52 e 58 predominaram, e na Europa, onde o HPV 56 foi mais frequente do que o HPV 52¹⁴. O HPV 45 parece também ter um potencial oncogênico importante. Apesar de raro entre mulheres com citologia normal (0,4%), ele é o terceiro HPV mais comumente encontrado no CCI⁶⁵.

Em relação ao adenocarcinoma, o HPV 16 e/ou 18 são os mais frequentemente detectados (85,6%), sem grandes diferenças entre as regiões do globo (86,4% na África, 83,7% na América

do Sul e 86,5% no Sudeste Asiático)²⁵. Além disto, com o HPV 45, são responsáveis por 94% destes cânceres⁶⁵.

Os dados sobre a distribuição dos genótipos de HPV no Brasil são mais modestos, e os estudos são concentrados nos estados da Região Sudeste¹⁸. Em concordância com as observações mundiais, o HPV 16 foi o tipo mais encontrado em pesquisas realizadas no extremo sul do Rio Grande do Sul⁶⁶, Natal^{67,68}, Rio de Janeiro^{69,70}, Distrito Federal⁷¹, Caxias do Sul⁷² e Ouro Preto⁷³. Entretanto, a heterogeneidade na distribuição é encontrada principalmente em relação aos demais tipos. O HPV 58 foi o segundo mais frequente em Natal⁶⁸ e Caxias do Sul⁷², enquanto no Rio de Janeiro, o segundo mais observado foi o HPV 31⁷⁰ e, em Ouro Preto, o HPV 61⁷³.

No Hospital do Câncer, em Barretos, São Paulo, observou-se nas amostras de CCI que os tipos mais frequentes foram HPV 16 (77,6%), 18 (12,3%), 31 (8,8%), 33 (7,1%) e 35 (5,9%)⁷⁴. Em Natal, os mais prevalentes para NIC3 e CCI foram o HPV 16 (60,5%), 18 (10,5%) e 58 (7,4%)⁷⁵.

Em estudo piloto na Bahia com mulheres portadoras do HIV e grupo controle, o HPV 16 também foi o mais prevalente em toda a amostra, seguido dos tipos 52, 58, 53, 54, 33 e 51, apontando para uma possível diferença geográfica da frequência do segundo tipo mais comum¹⁹.

2.3. Infecção por múltiplos tipos de HPV

A infecção por múltiplos tipos de HPV é definida como a infecção por dois ou mais tipos virais e ocorre predominantemente entre mulheres jovens⁷⁶. Estudos mostram frequência de 16,8% na LIE-AG e 12,6% no CCI na América Latina⁶². Mundialmente, a prevalência da infecção múltipla é em torno de 12% no CCI¹⁵. Em mulheres com citologia normal, aproximadamente 3,2% apresentam infecção múltipla, correspondendo a 20% dos testes positivos¹¹. No Brasil, pesquisa em Brasília encontrou frequência de 27%⁷³. Em estudo de coorte com 2.462 mulheres brasileiras que apresentavam citologia normal, as frequências cumulativas estimadas ao final de 1 e 4 anos foram 12,3% e 22,3%, respectivamente⁷⁷.

A interferência da infecção múltipla na história natural da infecção HPV é controversa, contudo tem importante implicação para a vacina contra o HPV e o rastreamento das lesões pré-neoplásicas com teste-HPV^{78,79}. Há evidências de que a infecção por múltiplos tipos virais poderia estar associada ao aumento do tempo de persistência da infecção e, teoricamente, com o risco de câncer⁷⁹. Outros estudos questionam se a combinação específica de alguns tipos virais poderia biologicamente implicar em um risco diferente⁷⁸. Observa-se que, com o surgimento das novas técnicas de biologia molecular, houve um aumento do número de publicações com descrição de infecção múltipla no CCI, o que dificulta a avaliação da fração de CCI atribuível a cada tipo individualmente^{15,50}.

2.4. HPV e HIV

Estudos têm demonstrado consistentemente a maior prevalência da infecção pelo HPV em mulheres infectadas pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)⁸⁰. No Brasil, os estudos observam prevalência variando de 61,6% a 98%, o que pode estar relacionado ao uso de diferentes testes com sensibilidades distintas^{81,82}.

O HPV 16 é descrito como o mais prevalente, no mundo e no Brasil⁸¹⁻⁸³. Apesar da variação descrita, quanto ao segundo genótipo mais frequente, o HPV 18 é o mais detectado⁸¹⁻⁸³. Em estudo piloto na Bahia, o HPV 16 foi o mais prevalente, seguido dos tipos 52, 58, 53, 54, 33 e 51, apontando uma possível diferença geográfica da frequência do segundo tipo mais comum¹⁹. Ademais, é relacionada à coinfeção HPV-HIV, uma maior ocorrência de infecção por múltiplos tipos de HPV^{81,84}.

A infecção pelo HIV afeta as células CD4⁺, levando à redução da resposta imune aos outros agentes infecciosos⁸⁵. Em comparação às soronegativas, o câncer cervical é mais frequente entre as soropositivas⁸⁶, e desde 1993 é enquadrado na lista de doenças definidoras da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)⁸⁷. É questionado se o maior risco está associado ao comprometimento do sistema imune, à interação direta dos dois vírus ou à associação de fatores de risco em comum pelo mesmo modo de transmissão⁸⁵. Os estudos a respeito da influência da Terapia Antiretroviral Fortemente Ativa (HAART) sobre a história natural das neoplasias intra-epiteliais cervicais são contraditórios. Entretanto, não há evidência da redução da incidência do

CCI desde a introdução da HAART, como ocorreu com o Sarcoma de Kaposi e linfomas não-Hodgkin⁸⁰.

2.5. Exames diagnósticos

Classicamente, a infecção pelo HPV era diagnosticada pela presença das alterações HPV-induzidas vistas à citologia, colposcopia ou histologia. Atualmente, a presença do vírus pode ser detectada por métodos de biologia molecular.

2.5.1. Exame citopatológico

A citologia oncótica cervicovaginal tem como objetivo detectar as atipias celulares através da avaliação microscópica de uma amostra celular. Atualmente, há dois métodos para preparo do esfregaço. O primeiro é a citologia convencional, onde o material colhido por espátula de Ayre e/ou escova endocervical é disperso diretamente em lâmina de vidro. O outro é a citologia em meio líquido, que dispersa o material em solução para posterior preparo da lâmina em monocamada. A terminologia utilizada, internacionalmente, é o Sistema de Bethesda 2001⁸⁸.

As lesões pré-neoplásicas são graduadas de acordo com as alterações celulares em lesão intra-epitelial de baixo ou alto grau. A categoria “células escamosas atípicas” (ASC do inglês *atypical squamous cells*) apresenta células anormais, porém sem preencher os critérios para lesão intra-epitelial. ASC é categorizada em células atípicas de significado indeterminado (ASC-US do inglês *atypical squamous cells of undetermined significance*) ou células atípicas de significado indeterminado sem poder excluir lesão de alto grau (ASC-H do inglês *atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous lesion*). As alterações de células glandulares (AGC do inglês *atypical glandular cells*) são classificadas como atipias endocervicais, endometriais ou glandulares, quando não é possível especificar a origem, Adenocarcinoma *in situ* (AIS) e Adenocarcinoma⁸⁸.

A Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais e Condutas Padronizadas é a adaptação da nomenclatura internacional⁸⁹, onde o acrônimo ASC-US é excluído, sendo aconselhado o diagnóstico por extenso.

2.5.2. Histopatologia

A histopatologia avalia microscopicamente o tecido obtido por biópsia. Os achados histopatológicos são classificados em neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) em três graus: NIC1, NIC2 e NIC3. A NIC1 apresenta atipias celulares no terço basal do epitélio; a NIC2, atipias celulares comprometem os dois terços basais, e na NIC3 encontra-se as atipias celulares em toda espessura do epitélio. Similar graduação existe para as lesões vaginal (NIVA1-3) e vulvar (VIN1-3). Contudo, diante dos novos conhecimentos da biologia do HPV e da baixa reprodutibilidade, principalmente de NIC2, surge a proposta de uma nova terminologia: “LAST” de *Lower Anogenital Squamous Terminology*, categorizando as lesões em LIE-BG e LIE-AG, semelhante ao Sistema de Bethesda⁹⁰.

A NIC1 passa a ser referida como LIE-BG, e a NIC3, como LIE-AG. A NIC2, por sua vez, será classificada de acordo com a imuno-histoquímica p16 para identificar o risco de progressão para câncer. NIC2 com p16 negativo é interpretada como LIE-BG e NIC2 com p16 positivo, como LIE-AG (Figura IX)⁹⁰.

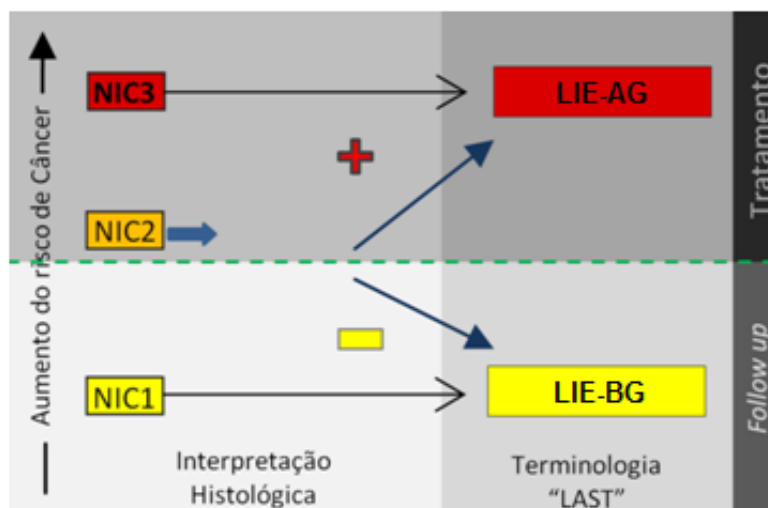


Figura IX. Diagnóstico histopatológico associado ao uso de imuno-histoquímica com p16 e as opções de conduta para as biópsias cervicais. Uso do p16 para avaliar a morfologia de NIC2. A escolha da conduta depende da idade, achados colposcópicos e diagnóstico histopatológico. Fonte: Figura adaptada de Darragh *et al.* (2013)⁹⁰.

2.5.3. Testes moleculares

Os avanços das técnicas de biologia molecular facilitaram a detecção do HPV. Existem os testes de DNA-HPV, que identificam o vírus e os testes de RNA (Ácido Ribonucléico), que avaliam a expressão das proteínas E6 e E7⁹¹.

Nos últimos anos, os testes DNA-HPV têm sido amplamente utilizados na prática clínica. Eles são utilizados para guiar as condutas diante das lesões intra-epiteliais cervicais, por exemplo ASC-US, e no seguimento pós-tratamento de LIE-AG, devido maior sensibilidade do que a citologia oncótica⁹². Atualmente, vários estudos estão em andamento em torno do seu uso para o rastreio do câncer do colo do útero em mulheres acima de 30 anos⁹³.

As principais metodologias empregadas para a detecção da infecção pelo HPV no trato genital, são a captura híbrida II (CH2) (Qiagen, Gaithersburg, MD) e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)⁹⁴.

Desde a introdução dos testes de DNA-HPV na prática médica, em 1999, a tecnologia de hibridização predominou, especialmente a CH2, que identifica dezoito tipos de HPV, porém sem especificar o genótipo. Os resultados são divididos em dois grupos: o “grupo A”, de baixo risco (6, 11, 42, 43 e 44) e o “grupo B”, de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, e 68). A CH2 continua a ser o ensaio mais utilizado mundialmente e serve como padrão-ouro, ao qual os novos testes DNA-HPV são comparados⁹⁵.

A utilização da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) como método diagnóstico do HPV tem se mostrado a mais sensível na detecção do DNA viral. A PCR “tipo-específico” utiliza *primers* específicos, que amplifica apenas um tipo de HPV. É necessário realizar múltiplas reações separadamente, e por isto é considerada uma técnica laboriosa. A PCR do “tipo consenso” utiliza *primers* genéricos, que detectam vários tipos virais. Os *primers* mais utilizados são o GP5+/GP6+, MY09/11, PGMY09/11, e os *SPF* (*Short PCR fragment*). Mais recentemente, foi desenvolvida a PCR “em tempo real”, que apresenta maior sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade, porém é mais custosa e requer maior habilidade técnica, o que limita seu uso na prática clínica⁹¹.

O PapilloCheck[®] é um método novo de genotipagem baseado na amplificação por PCR. É utilizada a tecnologia DNA *arrays* para a identificação de 24 genótipos simultaneamente (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44/55, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 e 82). Estudos de avaliação analítica entre esse ensaio e outros métodos de biologia molecular, indicam boa concordância entre o PapilloCheck[®] e a CH2^{96,97}, *Linear Array* (PGMY09/11)^{96,98}, e a PCR GP5+/6+⁹⁹. Contudo, a capacidade de detectar um genótipo específico pode variar. O HPV 56 foi significativamente mais detectado no PapilloCheck[®] em comparação ao uso do *Linear Array*, ocorrendo o inverso com o HPV 53⁹⁶. Em comparação a PCR GP5+/6+, o PapilloCheck[®] detecta significativamente mais os genótipos 31, 51, 52 e 59, principalmente nos casos de infecções por múltiplos tipos de HPV⁹⁹.

Uma das dificuldades encontradas para comparar os resultados de diversos trabalhos é o emprego de diferentes técnicas de detecção do HPV. As discordâncias são encontradas nas amostras com pequena quantidade do vírus e nas infecções múltiplas⁹⁶. A especificidade e a sensibilidade dos métodos de biologia molecular variam bastante. A hibridização apresenta a menor sensibilidade, PCR com *primers* GP5+/6+ ou PGMY09/11, sensibilidade intermediária, e PCR com SPF10, alta sensibilidade¹⁰⁰.

2.6. Rastreio do câncer e lesões pré-neoplásicas cervicais

A introdução da citologia oncótica cervicovaginal por Papanicolaou em 1941¹⁰¹ permitiu uma redução do câncer cervical mundialmente, principalmente nos países desenvolvidos²³. Entretanto, o rastreio oportunístico não permitiu que países em desenvolvimento obtivessem os mesmos índices de redução da mortalidade por câncer cervical¹⁰². Para alcançar significativa redução nas taxas de incidência e mortalidade por CCI, é necessário que a citologia atinja uma alta cobertura da população-alvo, o que tem se revelado difícil nos países em desenvolvimento e regiões de difícil acesso. A citologia é conhecida pela sua excelente especificidade, porém é trabalhosa, apresenta baixa reprodutibilidade e grande taxa de resultados falso-negativos, devido à falha na coleta e/ou na avaliação microscópica¹⁰³.

Nos últimos anos, a introdução dos testes de DNA-HPV vem sendo proposta no rastreio do câncer cervical. A pesquisa do HPV apresenta maior sensibilidade em detectar LIE-AG do que

a citologia, sendo assim considerada mais efetiva no rastreamento primário do câncer cervical^{104,105}. Isto é demonstrado em estudos utilizando predominantemente a CH2 e a PCR com *primers* GP5+/6+. O rastreio com testes de DNA-HPV apresenta também como vantagens: ser automatizado, ter maior reprodutibilidade e controle de qualidade, e permitir maior intervalo entre os exames¹⁰³.

A maioria das infecções pelo HPV é transitória e apenas uma pequena parcela das mulheres evolui com LIE-AG ou câncer. O uso dos testes de DNA-HPV no rastreio primário deve evitar a detecção das infecções transitórias, e uma maneira encontrada é restringir o rastreio para mulheres com idade superior aos 30 anos¹⁰⁵. Os novos estudos avaliam qual a melhor faixa etária para iniciar o rastreamento, o manejo diante do segundo pico de prevalência da infecção pelo HPV, a periodicidade entre os testes, a realização conjunta ou não com a citologia oncótica, e qual algoritmo das condutas a ser seguido nos casos HPV-positivos¹⁰⁴. Vários estudos sobre o custo-efetividade também têm sido desenvolvidos para avaliar a nova proposta de rastreio com teste molecular associado à vacinação contra o HPV⁹³.

Atualmente, o Ministério da Saúde recomenda que o exame citopatológico cervical seja realizado em mulheres de 25 a 60 anos de idade, ou que já tiveram atividade sexual anteriormente a esta faixa etária, uma vez por ano e, após dois exames anuais consecutivos negativos, a cada três anos⁸⁹.

2.7. Vacinas contra o HPV

A vacina profilática tem sido considerada a intervenção mais efetiva para prevenção primária do câncer cervical e lesões HPV-induzidas, conferindo proteção contra genótipos específicos. Atualmente, duas vacinas são disponíveis comercialmente: a bivalente (Cervarix[®], GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Bélgica) e a quadrivalente (Gardasil[®], Merck & Co., Whitehouse Station, NJ EUA)¹⁰⁶.

A Cervarix[®] foi planejada para prevenir infecção pelos genótipos 16 e 18, responsáveis por 70% dos casos de câncer cervical. A Gardasil[®] previne para os mesmos tipos oncogênicos, e imuniza para os tipos 6 e 11, associados a 90% das verrugas genitais. Ambas são administradas

via intramuscular, em três doses, dentro de 6 meses¹⁰⁶. A vacina nonavalente, em fase avançada de estudo, irá ampliar a cobertura para mais cinco tipos oncogênicos: 31, 33, 45, 52 e 58²².

As vacinas são preparadas de partículas vírus-símile, as chamadas VLPs da proteína L1, por tecnologia recombinante e associadas a um adjuvante, sem nenhum produto biológico vivo ou DNA, por isto não são infectantes¹⁰⁶.

Nos ensaios clínicos, as duas vacinas apresentaram proteção cruzada contra genótipos filogeneticamente relacionados aos HPV 16 e 18, porém o nível de proteção obtido é muito menor aos alcançados para os tipos-alvo da vacina^{20,21}. A vacina bivalente apresentou proteção cruzada para os tipos 31, 33, 45 e 51, utilizando desfecho histológico e virológico²⁰. A vacina quadrivalente apresentou também proteção cruzada para o HPV 31, mas não para os demais tipos. O possível efeito terapêutico das vacinas também foi investigado. Entretanto, não foi encontrada diferença significativa na taxa de *clearance* ou progressão da infecção pelo HPV entre o grupo vacinado *versus* o grupo placebo, demonstrando que a vacina não tem eficácia terapêutica¹⁰⁸.

A infecção pelo HPV ocorre logo após o início da vida sexual, por isto a vacinação é mais eficaz quando realizada em mulheres jovens ou adolescentes, antes da coitarca. Ademais, os títulos de anticorpos neutralizantes alcançados após a imunização são maiores nas idades mais precoces¹⁰⁶.

O impacto da imunização na incidência do câncer cervical ainda é incerto, especialmente devido à possibilidade da mudança na prevalência dos genótipos contemplados ou não pelas vacinas¹⁰⁷. A alta cobertura vacinal é de fundamental importância para a redução desejada do câncer cervical. A Aliança Global para Vacinas e Imunização (GAVI) conseguiu alcançar altas taxas de vacinação em países subdesenvolvidos, utilizando diversas estratégias, dentre as quais, programas baseados na imunização em escolas. Esta estratégia é recomendada aos governos com o objetivo de atingir as jovens adolescentes⁵³.

A partir de março de 2014, a vacina quadrivalente contra o HPV foi incluída no calendário brasileiro de imunização para meninas de 11 a 13 anos. O Ministério da Saúde adotou o esquema

estendido, no qual a segunda dose é usada seis meses após a primeira, e a terceira dose será administrada após cinco anos¹⁰⁸.

A vacinação não protege para todos os tipos de HPV. Portanto, os programas de rastreio continuam sendo importante estratégia para prevenção do câncer cervical.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

Descrever a distribuição dos genótipos de HPV em mulheres atendidas em clínica de referência do estado da Bahia, Brasil.

3.2 Objetivos secundários

- a) Testar a associação entre genótipos de HPV e resultados de citologia oncótica cervicovaginal e histopatologia;
- b) Testar a associação entre genótipos de HPV e faixa etária;
- c) Descrever a frequência de infecções por múltiplos genótipos de HPV;
- d) Descrever a frequência dos genótipos que são contemplados pelas vacinas contra HPV.

4. METODOLOGIA, MATERIAL E MÉTODO

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo descritivo de morbidade (prevalência).

4.2 População de estudo e metodologia

A população do estudo correspondeu às mulheres atendidas na clínica privada IDEM/Vera Harfush, referência para patologia do trato genital inferior na cidade de Salvador-Bahia, durante o período de junho/2010 a outubro/2013. Foram revisados retrospectivamente os prontuários das mulheres com genotipagem positiva para HPV, que tinham sido submetidas ao exame por apresentar suspeita ou histórico de infecção por este vírus.

4.3 Critérios de inclusão e exclusão

- a) Critérios de inclusão: Mulheres que realizaram a genotipagem para HPV por PCR (PapilloCheck[®]).
- b) Critérios de exclusão: Exames negativos ou inconclusivos e pacientes procedentes de outros estados.

4.4 Tamanho amostral

Considerando o HPV 16 o mais prevalente (21,4%)¹² entre as mulheres com citologia normal na América do Sul, aceitando-se variação de até cinco pontos percentuais para mais ou para menos e nível de significância de 5%, foi calculado tamanho amostral de 259 casos por intermédio do *software* WinPEPI. Entretanto, a população a ser estudada também compreende, possivelmente, mulheres com diversos achados citológicos. Tendo em vista a proporção de 16,7% de HPV 16 entre mulheres com LIE-BG¹³ e de 36,9% para LIE-AG⁵², o n seria, respectivamente, 214 ou 358. Optou-se por estudar 350 casos, prevendo maior número de casos de citologia normal e de LIE-BG.

4.5 Análise e tratamento dos dados

Após a coleta dos dados, estes foram inseridos numa planilha Excel e posteriormente transferidos para planilha do pacote estatístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 17.0, mediante o qual foram feitas as análises. O nível de significância utilizado nos testes foi de 5%. Foram calculadas a frequência individual dos tipos de HPV e a frequência da infecção por múltiplos genótipos, definida como a presença de dois ou mais tipos virais. Os intervalos de confiança (IC) de 95% foram calculados para as proporções de infecção por tipo viral e conforme achados cito-histopatológicos. A frequência foi expressa como a proporção do genótipo HPV apenas entre os testes HPV-positivos.

Os resultados foram estratificados e correlacionados com os resultados da histopatologia, pela classificação da OMS¹⁰⁹ e da citologia oncótica cervicovaginal convencional pela terminologia de Bethesda (2001)⁸⁸, adotada para facilitar a comparação dos resultados encontrados com outras publicações. Os resultados cito-histopatológicos foram classificados em grupos de: achados negativos para neoplasia (exame citopatológico e histopatológico negativos), lesão de baixo grau (achado citopatológico LIE-BG e, achados histopatológicos de Neoplasia Intra-epitelial Cervical grau 1 (NIC1), Neoplasia Intra-epitelial Vaginal grau 1 (NIVA1) ou condiloma) e lesão de alto grau (englobando achados citopatológicos LIE-AG ou histopatologia com laudo maior igual a NIC2 ou NIVA2). Considerou-se ter lesão o encontro de alteração no exame citopatológico e/ou histopatológico. Foi calculada a razão de prevalência entre ter lesão e genótipo de HPV. A faixa etária foi categorizada em menor ou maior/igual a 30 anos, devido ao declínio da prevalência do vírus a partir de 30-35 anos⁵⁹ e às novas propostas de rastreio com teste de biologia molecular a partir de 30 anos¹¹⁰. Foram calculadas média de idade, proporções segundo estado vacinal para HPV e presença de infecção por HIV. Foram realizados testes do qui-quadrado e exato de Fisher.

Pelo seu caráter exploratório, não era objetivo testar associações, o que foi feito para variáveis específicas unicamente como sondagem para relações promissoras a serem abordadas com desenho confirmatório em iniciativas futuras.

4.6 Aspectos éticos

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Médico-Legal Nina Rodrigues (CAAE 19819913.4.0000.5557). Por se tratar de coleta de dados em fichas clínicas e laudos de exames complementares, o risco é mínimo, referente à divulgação de informações privativas das participantes. Toda a apresentação de resultados, entretanto, será feita de forma consolidada e sem referência a detalhes que possam identificar as mulheres. Há benefício potencial pelo conhecimento sobre os tipos virais que circulam na região geográfica, o que poderá instruir decisões sobre procedimentos de rastreamento e indicação vacinal. Não foi possível obter o consentimento de cada paciente da clínica, por se tratar de unidade de referência à qual acorrem pacientes de diversos serviços apenas para coleta, sem que estabeleçam relação de acompanhamento contínuo, mas a Direção Técnica da Clínica IDEM/Vera Harfush anuiu com o protocolo de pesquisa e assumiu co-responsabilidade pela salvaguarda das informações pessoais. Foram respeitadas a Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial e a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde brasileiro.

5. RESULTADOS

5.1. Características da população de estudo

A população inicial de estudo foi constituída por 483 mulheres, das quais 351 tiveram genotipagem positiva para um ou mais tipos de HPV e eram provenientes do estado da Bahia. A amostra foi composta quase que exclusivamente por mulheres HIV-negativas (n=318, 99,4%) e não vacinadas (n=275, 93,2%). A média etária das pacientes foi de 30 anos (DP=8), sendo a maioria, 198 (57,4%), com idade menor que 30 anos (Tabela 1).

Tabela 1- Caracterização da amostra.

Característica	N (%)
Não Vacinadas (n=296)	275 (93%)
HIV-negativas (n= 320)	318 (99,4)
Média de Idade (n=345)	30 anos (DP 8)
Faixa Etária	
<30 anos	198 (57,4%)

Obs:DP=Desvio Padrão. As diferenças de n referem-se às proporções desiguais de participantes com informação disponível. Os dados disponíveis sobre vacina contra HPV, sorologia para HIV e idade foram respectivamente 296, 320 e 345.

A análise do local de procedência das 351 mulheres incluídas neste estudo mostrou que a maior parte (81,3%) foi procedente da capital, 11,7% de cidades da região metropolitana e 6,9% de cidades do interior do estado (Gráfico 1).

Dentre os bairros representados estão: Alto das Pombas, Alto de Coutos, Amaralina, Armação, Barra, Barris, Boa Viagem, Boca do Rio, Bonfim, Brotas, Cabula, Caixa d'Água, Cajazeiras, Caminho das Árvores, Campo Grande, Candeal, Canela, Centenário, Centro, Cidade Jardim, Costa Azul, Fazenda Grande, Federação, Garcia, Graça, Horto Florestal, IAPI, Imbuí, Itagara, Itapuã, Jardim de Alá, Largo Dois de Julho, Lobato, Luís Anselmo, Mata Escura, Matatu, Nazaré, Ondina, Paralela, Paripe, Parque Bela Vista, Patamares, Pau Miúdo, Periperi,

Pernambuéis, Piatã, Pituba, Praia do Flamengo, Rio Vermelho, Saboeiro, Santa Cruz, Santa Mônica, São Rafael, Stella Maris, Stiep, Tancredo Neves, Vale das Pedrinhas, Vasco da Gama, Vila Laura e Vitória. As cidades de Alagoinhas, Camaçari, Catu, Conceição do Almeida, Dias d'Ávila, Feira de Santana, Gandu, Itabuna, Jacobina, Jaguariri, Lauro de Freitas, Macaúbas, Muritiba, Ribeira do Pombal, Santo Antônio de Jesus, São Félix, São Francisco do Conde, São Sebastião do Passé, Seabra, Senhor do Bonfim, Serrinha e Simões Filho também compuseram a amostra.

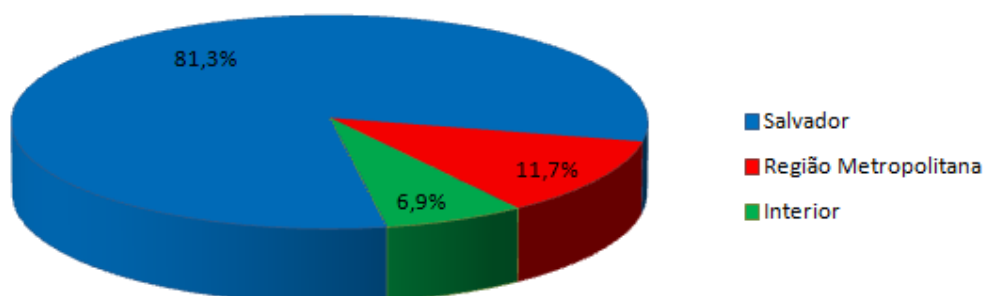


Gráfico 1- Locais de procedência das mulheres com genotipagem HPV-positiva em amostra do estado da Bahia, 2010-2013.

5.2. Achados cito-histopatológicos

Dos 319 dados obtidos sobre a citologia oncótica, as mulheres com exames negativos para neoplasia contribuíram com pouco mais da metade dos resultados citológicos, 172 casos (53,9%). As citologias alteradas apresentaram os seguintes resultados: 70 (21,9%) casos de lesão intra-epitelial de baixo grau, 54 (16,9%) casos de atipias de células escamosas de significado indeterminado, 12 (3,8%) casos de lesão intra-epitelial de alto grau, 6 (1,9%) casos de atipias de células escamosas de significado indeterminado, não se podendo afastar lesão de alto grau, e 4 (1,3%) casos de atipias de células glandulares. Apenas uma citologia apresentou resultado insatisfatório (0,3%).

Dentre os 307 dados válidos sobre a realização de biópsia, 156 (50,8%) mulheres apresentavam genitoscopia normal, e por isto não tiveram indicação de submeter-se a este procedimento. Das 151 mulheres submetidas à biópsia, a histopatologia mostrou que: 46 (30,5%) apresentavam NIC1; 25 (16,6%) NIC2+; 8 (5,3%) NIVA1, e; 5 (3,4%) NIVA2+. Houve apenas um caso de carcinoma cervical invasivo (0,5%). Apesar do achado colposcópico anormal, 55 pacientes (36,4%) tiveram resultados negativos para neoplasia pelo exame histopatológico, enquanto 11 (7,3%) confirmaram condiloma vulvar, com coleta de genotipagem cervicovaginal positiva e colposcopia normal.

Na avaliação dos resultados cito-histopatológicos, observou-se que 166 (58,1%) mulheres apresentavam achados negativos, 87 (30,4%) tinham LIE-BG e 33 (11,5%) apresentavam LIE-AG (Gráfico 2).

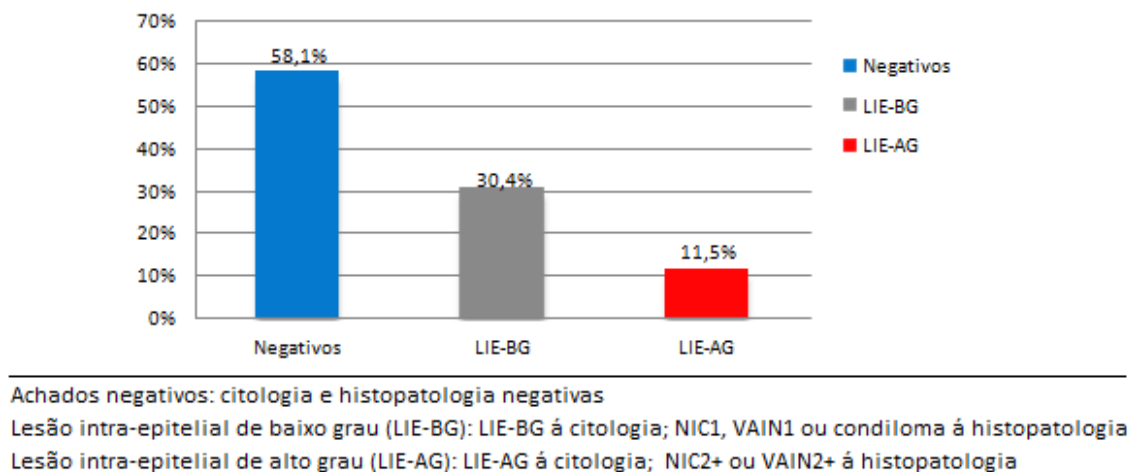


Gráfico 2 – Achados cito-histopatológicos agrupados em achados normais, LIE-BG e LIE-AG em amostra de 351 mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.

5.3. Distribuição dos genótipos de HPV

Das 351 genotipagens positivas para o HPV, o tipo oncogênico mais frequente foi o HPV 16, presente em 18,5% (IC 95%, 14,6-23%) das amostras, seguido pelo HPV 56, em 14% (IC

95%, 10,5%-18%) e o HPV 39, em 13,4% (IC 95%, 9,5%-16,8%). O HPV 18 figurou entre os menos comuns, em 5,4% (IC 95%, 3,3%-8,3%) das mulheres. Dentre os tipos não oncogênicos, o HPV 42 (15,7%; IC 95%, 12%-20%), HPV 6 (11,4%; IC 95%, 8,3%-15,2%) e o HPV 44/55 (11,1%; IC 95%, 8%-14,9%) foram os mais encontrados, enquanto que o HPV 11 (2,8%; IC 95%, 1,4%-5,2%) foi o menos frequente (Gráfico 3).

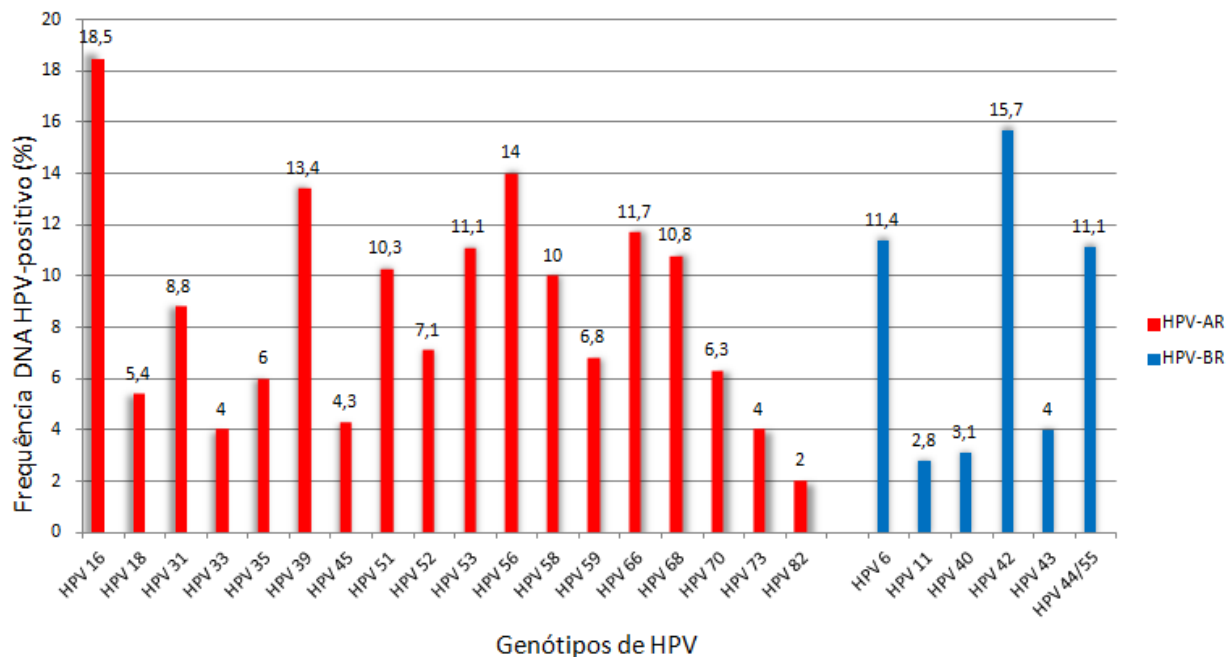


Gráfico 3 – Distribuição dos genótipos de HPV em amostra de 351 mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.

A proporção do HPV 16 aumentou com a severidade das anormalidades citohistopatológicas: de 13,8% (12/87) nas lesões intra-epiteliais de baixo grau para 42,4% (14/33) nas lesões intra-epiteliais de alto grau. Entre as mulheres com LIE-AG citohistopatológica, o HPV 16 foi o mais frequente, 42,4% (IC 95%, 25,5%-60,8%), seguido do HPV 56, em 18,2% (IC 95%, 6,9%-35,5%). O inverso foi encontrado naquelas com LIE-BG, entre as quais o HPV 56 estava presente em 18,4% (IC 95%, 10,9%-28,1%) seguido pelo HPV 16 em 13,8% (IC 95%, 7,3%-22,8%) (Gráfico 4).

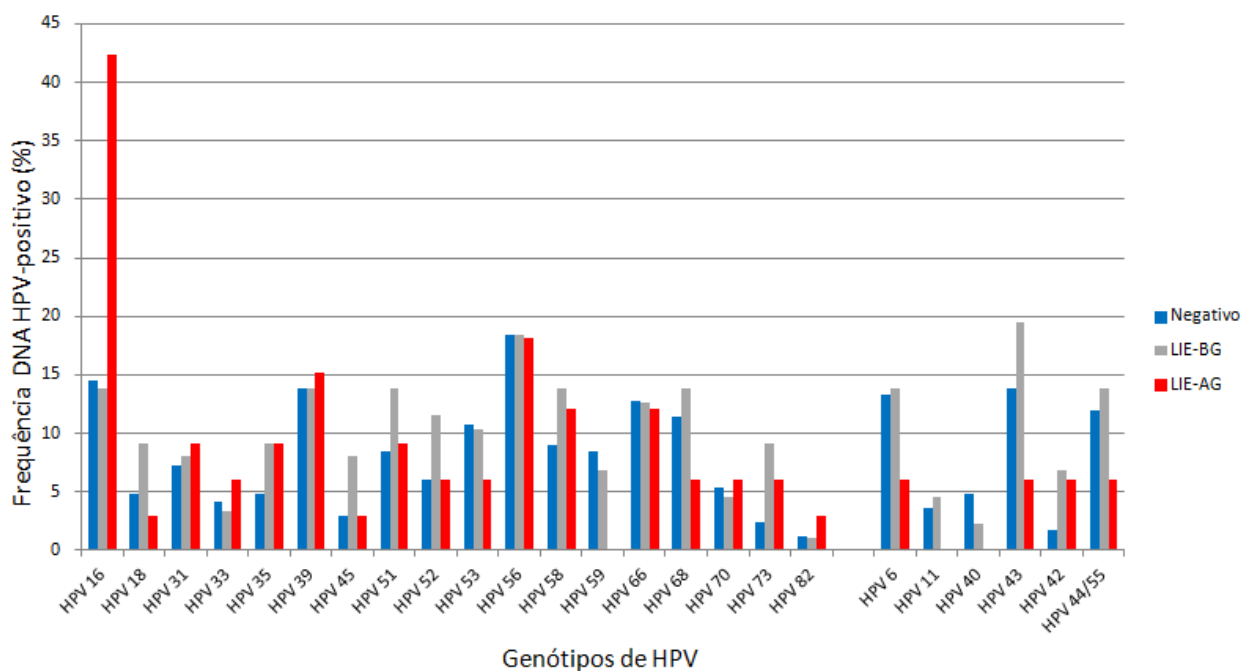


Gráfico 4 – Distribuição dos genótipos de HPV dentre os achados cito-histopatológicos em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.

Mulheres na faixa etária menor que 30 anos apresentaram frequência significativamente maior do HPV 16 (22,2% vs 12,9%; $p=0,018$), HPV 42 (19,7% vs 10,9%; $p=0,018$) e HPV 45 (6,6% vs 1,4%; $p=0,015$) (Gráfico 5).

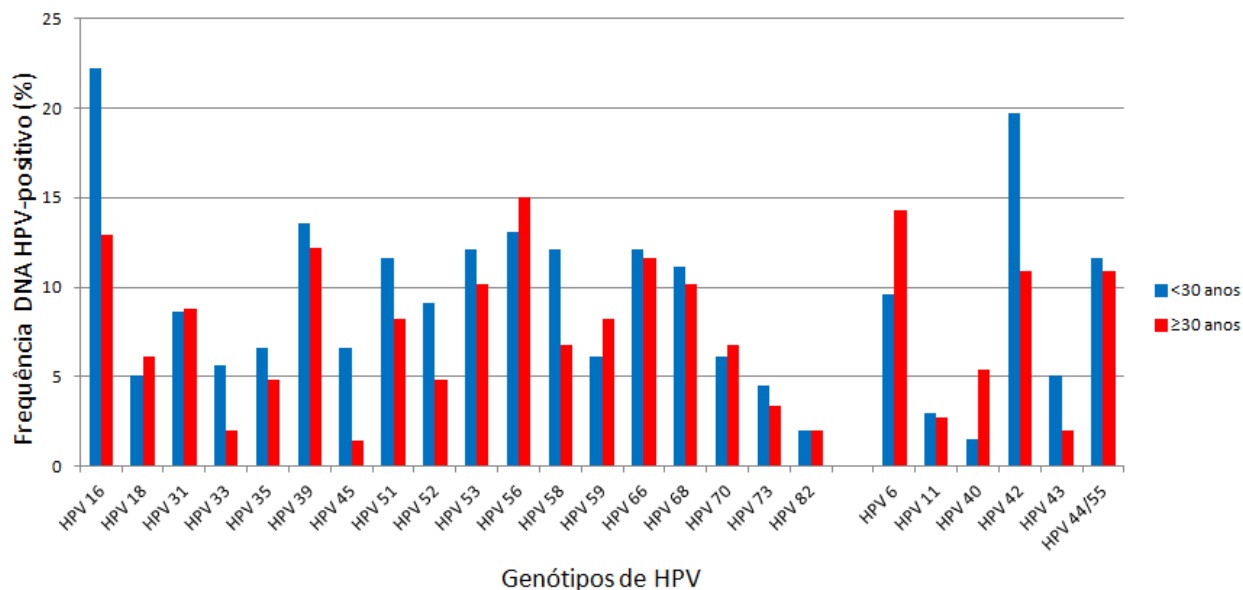


Gráfico 5- Distribuição dos genótipos de HPV conforme faixa etária, em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.

Os genótipos de alto risco, HPV 16, 52, 73 e 82 apresentaram maior associação com a presença de lesão, assim como o genótipo de baixo risco, HPV 43 (Tabela 2).

Tabela 2 – Razão de prevalência entre ter ou não lesão cito-histopatológica e infecção por genótipo de HPV em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.

Genótipo	RP	IC 95%
HPV 16	1,26	1,01 a 1,57
HPV 18	1,09	0,75 a 1,60
HPV 31	1,1	0,80 a 1,52
HPV 33	0,88	0,50 a 1,57
HPV 35	1,07	0,74 a 1,55
HPV 39	1	0,75 a 1,35
HPV 45	1,2	0,82 a 1,74
HPV 51	1,21	0,92 a 1,59
HPV 52	1,36	1,04 a 1,8
HPV 53	1,04	0,77 a 1,40
HPV 56	1,14	0,90 a 1,47
HPV 58	1,14	0,82 a 1,53
HPV 59	0,84	0,53 a 1,33
HPV 66	0,85	0,61 a 1,19
HPV 68	0,94	0,67 a 1,32
HPV 70	1,17	0,83 a 1,64
HPV 73	1,39	1,01 a 1,90
HPV 82	1,5	1,03 a 2,17
HPV 6	0,91	0,64 a 1,28
HPV 11	0,93	0,67 a 1,29
HPV 40	0,44	0,13 a 1,46
HPV 42	1,12	0,87 a 1,43
HPV 43	1,51	1,15 a 1,99
HPV 44	0,93	0,67 a 1,29

RP = razão de prevalência

A infecção por múltiplos genótipos de HPV de baixo e/ou alto risco foi detectada em 189 exames (53,8%), variando de 2 (n=100, 28,5%) a 10 tipos virais (n=1, 0,3%). A média de idade deste grupo foi de 29 anos (DP=8). A infecção múltipla apenas por tipos de alto risco foi encontrada em 83 mulheres (41,9%) e apenas por HPV de baixo risco, em 12 mulheres (6,1%) (Gráfico 6).

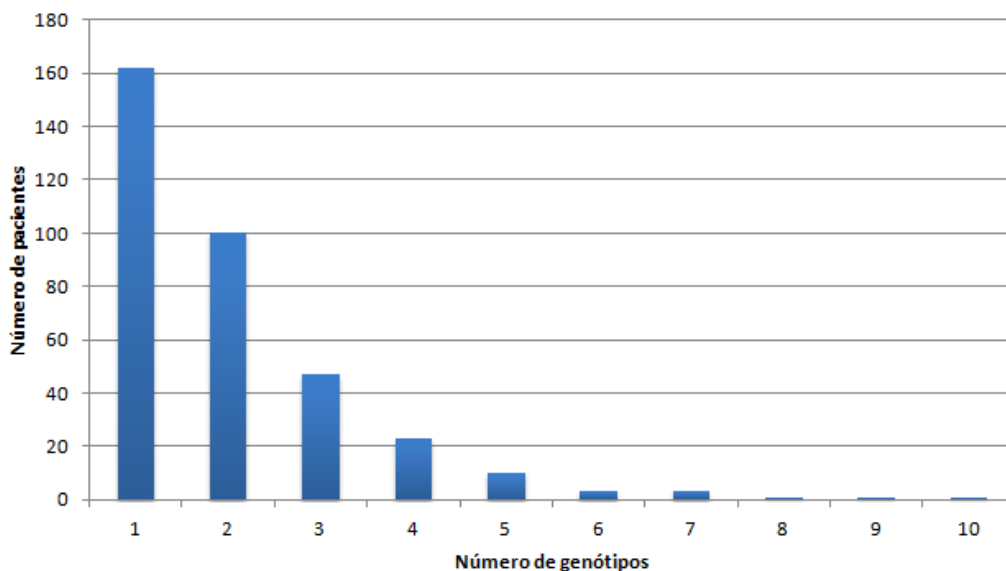


Gráfico 6 - Frequências dos números de genótipos de HPV detectados nas infecções únicas e múltiplas em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.

A infecção por múltiplos genótipos de HPV foi significativamente maior na faixa etária menor que 30 anos (58,1% vs 47,4%, $p=0,046$).

Avaliando a presença dos tipos de HPV contidos nas vacinas bivalente (HPV 16 e 18), quadrivalente (HPV 6, 11, 16 e 18) e nonavalente (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58), observou-se que em 22,8% dos exames foi encontrado o HPV 16 ou 18, enquanto a presença dos dois tipos juntos foi detectada em apenas 0,6% dos casos. A presença de pelo menos um tipo viral contemplado pela vacina quadrivalente e nonavalente foi detectado em 31,3% e 41,9% dos exames, respectivamente (Gráfico 7).

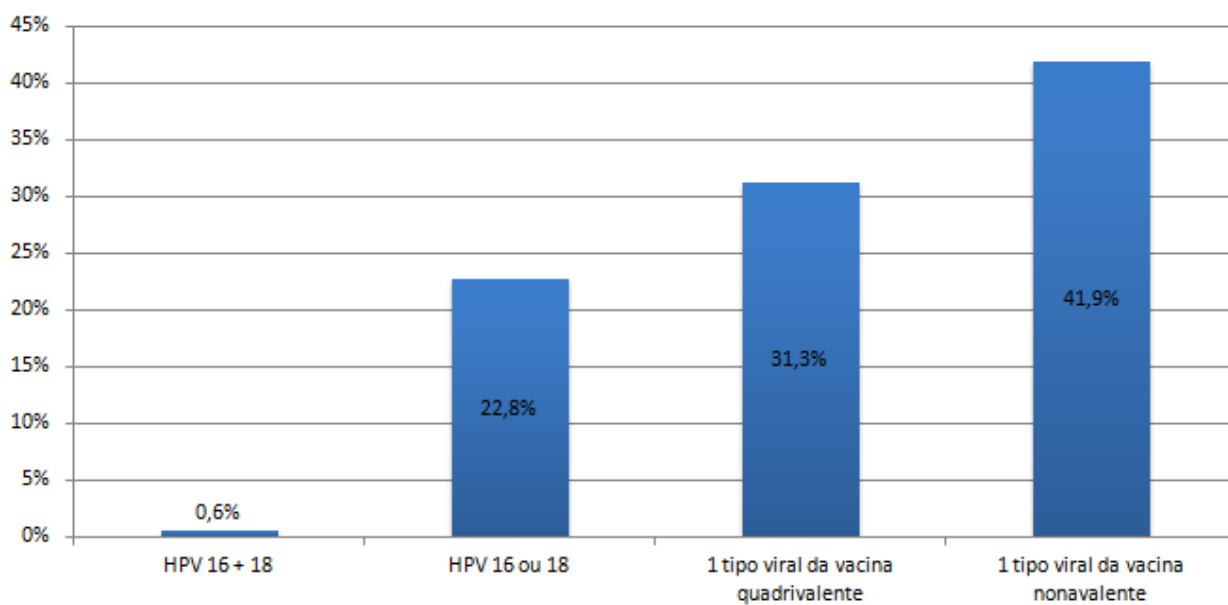


Gráfico 7- Frequências dos números de genótipos de HPV detectados nas infecções únicas e múltiplas em amostra de mulheres do estado da Bahia, 2010-2013.

6. DISCUSSÃO

A associação da persistência da infecção pelo HPV como fator causal central do carcinoma cervical está bem estabelecida⁴⁻⁵. Existem mais de 180 tipos de papilomavírus humanos², dos quais 40 podem infectar o trato genital. Entretanto, apenas doze estão classificados como oncogênicos e outros treze apresentam evidências limitadas a este respeito⁴⁹. A discussão sobre a distribuição específica dos tipos de HPV tornou-se relevante diante da importância em priorizar quais genótipos devam ser incluídos nas futuras vacinas e nos testes moleculares^{24,25,79}. Neste estudo, foi analisada a frequência dos genótipos de HPV nas infecções únicas e múltiplas em mulheres do estado da Bahia. Nenhum outro estudo semelhante na região foi encontrado, sendo este o primeiro a descrever esta distribuição em mulheres baianas, predominantemente HIV-negativas (99,4%) e não-vacinadas (93%).

Nesta análise, chama a atenção o fato de que, em geral, onze dos 24 genótipos testados alcançaram proporção entre 10 e 18%, sendo oito de alto risco e três de baixo risco, ou seja, nenhum tipo viral se distribuiu pela amostra estudada de forma muito mais intensa que os demais, percebendo-se as diferenças apenas quando a distribuição foi descrita conforme a faixa etária ou a positividade para lesão intraepitelial. O genótipo mais frequentemente detectado foi o HPV 16, em 18,5% dos testes positivos, semelhante às taxas encontradas no Rio Grande do Sul (18,6%)¹⁶ e em Santa Catarina (17,2%)¹¹¹. Esta predominância foi observada entre os diferentes resultados cito-histopatológicos, dados plenamente concordantes com a literatura mundial e nacional^{11,64-74,112}. O HPV 16 é o tipo mais comum nos estudos realizados no Rio Grande do Sul⁶⁶, Natal^{67,68}, Rio de Janeiro^{69,70}, Caxias do Sul⁷², Distrito Federal⁷¹ e Ouro Preto⁷³. No entanto, apesar de unânimes em relação à maior prevalência do HPV 16, os estudos demonstram heterogeneidade entre os demais tipos estudados, nas distintas regiões do globo^{11,12}.

Em metanálise com amostras de mulheres apresentando citologias normais, provenientes de cinco continentes, o HPV 16 foi detectado em 22,5% das mulheres HPV-positiva. O segundo genótipo mais comum na prevalência mundial foi o HPV 18, porém com algumas variações geográficas. O HPV 31 foi mais comum na Europa, enquanto o HPV 52 foi especialmente mais frequente na América do Norte, África e Ásia, e o HPV 58 figurou entre os mais encontrados na América Latina¹¹. Distribuição semelhante é descrita em metanálises sobre LIE-BG, LIE-AG ou

CCI^{13,14}. Em âmbito nacional, estudos descrevem o HPV 58 como o segundo mais frequente em Natal⁶⁸ e em Caxias do Sul⁷², enquanto no Rio de Janeiro, o segundo mais observado foi o HPV 31⁷⁰ e, em Ouro Preto, o HPV 61⁷³.

Neste estudo, o HPV 18 aparece entre os menos freqüentes, discordando com a literatura, que o descreve como o segundo genótipo mais encontrado^{11,14}. Por outro lado, respaldados pela metanálise da IARC, que o descreve como o quinto mais frequente¹², este resultado pode estar relacionado à amostra predominantemente composta por exames citopatológicos negativos (53,9%). Ademais, em comparação com carcinoma escamocelular, o HPV 18 é significativamente mais representado nas lesões glandulares e adenocarcinoma cervical^{25,113}. Contudo, nos quatro únicos casos de atipias de células glandulares diagnosticados entre pacientes desta amostra, este genótipo não foi detectado, o que pode ser devido ao pequeno número de casos de AGC e à baixa reprodutibilidade do diagnóstico citopatológico das alterações glandulares^{25,113}. Importante observar também, que mesmo nos casos de LIE-AG ou NIC2+, o HPV 18 não esteve entre os dez mais detectados, conforme é descrito na literatura. Estes dados fazem questionar se existe uma real tendência à menor freqüência deste genótipo no estado da Bahia e no Brasil.

O HPV 56 foi o segundo mais detectado em toda a amostra. Este resultado não era esperado, porque apesar das análises demonstrarem uma variabilidade mundial do segundo genótipo mais frequente, os estudos no Brasil apontam para a maior prevalência do HPV 58^{17,72}, principalmente na Região Nordeste do país^{64,68}. Porém, no presente estudo, o HPV 58 foi o oitavo genótipo mais comum. O HPV 56 é classificado pela IARC como carcinogênico, mas está entre os quatro menos freqüentes tipos encontrados no câncer cervical⁴⁹. Guan *et al* (2012) encontraram determinados genótipos de alto risco (HPV 35, 39, 51, 56, 59 e 68) em uma importante proporção entre LIE-BG e LIE-AG, porém em menos de 2% dos CCI, sugerindo que tais genótipos apresentam um potencial carcinogênico menor. O HPV 56 não será contemplado pela vacina nonavalente²².

Nesta amostra, foi observado que a freqüência do HPV 16 mostrou-se maior à medida que o grau de severidade da lesão aumentou, resultados concordantes com o seu maior potencial oncogênico⁹. O número de casos de CCI atribuíveis a um determinado HPV depende não só da sua prevalência específica naquela população, como também do seu potencial carcinogênico, que

ocorre devido à capacidade inerente de cada vírus de desencadear a transformação neoplásica. Destarte, um genótipo altamente oncogênico, porém de ocorrência populacional rara, terá baixa capacidade de provocar casos de lesão cervical. Portanto, ranquear o potencial oncogênico de cada genótipo, independentemente da sua frequência, é fundamental para guiar o desenvolvimento de futuras vacinas, assim como os testes para rastreamento do câncer HPV-induzido⁵⁰. Por esta razão, foi avaliada a associação entre genótipo específico e ter ou não lesão cito-histopatológica. O HPV 16 apresentou maior associação com a presença de lesão, o que reforça a importância da vacinação contra este tipo, não só por sua maior prevalência, mas também pela maior chance de causar lesão. O mesmo raciocínio pode ser feito entre a maior associação dos genótipos 52, 73 e 82 e presença de lesão. O HPV 52 encontra-se entre os mais frequentemente relacionados ao câncer cervical⁴⁹ e será incluído na vacina nonavalente²². Os tipos 73 e 82 são menos frequentes e não foram sistematicamente estudados nas metanálises disponíveis. Os tipos mais raros de HPV podem estar associados ao câncer cervical por apresentar variabilidade genética, principalmente alterações na sequência na região dos epítomos dos linfócitos T e B da proteína L1, que permitem o vírus escapar de ser reconhecido pelo sistema imune. Gurgel *et al* (2013) investigaram a prevalência de tipos raros encontrados em lesões cervicais de mulheres provenientes do Nordeste do Brasil e observaram que, a despeito da baixa frequência, eles foram o segundo grupo mais encontrado¹¹⁴. Novos estudos poderão esclarecer a influência da infecção única por tipos raros de HPV e o câncer cervical.

Assim como observado na literatura⁶¹, entre os genótipos não oncogênicos, o HPV 42 foi o mais frequente em toda a amostra. Interessante notar que, em comparação com o HPV 42, o HPV6 apresentou frequência menor entre as diversas lesões. Porém, nas coletas cervicovaginais de mulheres portadoras de condilomas vulvar à histopatologia, o HPV 6 foi observado em taxas superiores (45,5%) ao HPV 42 (18,2%). Este dado está em concordância com a observação da importante contribuição do HPV 6, que associado ao HPV 11, é responsável por 90% das verrugas genitais. Apesar disto, o HPV 11 foi um dos menos frequentes em toda amostra.

Diante de todos os dados apresentados, é preciso ter cautela quando se interpretar os resultados obtidos por diferentes testes moleculares. Eles apresentam sensibilidades analíticas diferentes, particularmente em amostras com baixa carga viral, comuns em achados citológicos negativos⁹⁶. Isto ocorre principalmente com genótipos menos comuns. Apesar das metanálises

calcularem a prevalência específica somente dos tipos detectados em cada estudo, alguns genótipos podem ter sua estimativa comprometida a depender do teste de genotipagem utilizado em determinada região¹¹.

A população estudada apresentou média etária de 30 anos (DP=8), sendo a maioria (57,4%), com idade menor que 30 anos. Esta observação é respaldada pelos estudos da história natural da infecção pelo HPV. A aquisição do vírus ocorre após o início da vida sexual e decai com a idade, principalmente após 30-35 anos, seja pelo *clearance* do vírus, mudança nos hábitos sexuais ou imunidade adquirida naturalmente pelas infecções prévias^{45,57}. Foi também observado, que as mulheres mais jovens apresentavam significativamente maior frequência da infecção por múltiplos genótipos do que as na faixa etária acima dos 30 anos, similar a outros estudos^{73,115}.

A infecção por múltiplos genótipos ganhou importância com o advento da vacina contra infecção pelo HPV. É aventado que a introdução dessa imunização talvez possa modificar o equilíbrio já estabelecido da distribuição dos genótipos¹⁰⁷. Nesta amostra, a taxa de infecção por múltiplos genótipos (53,8%), foi semelhante à relatada por Adler *et al* (2013), de 68%¹¹⁶, porém muito superior ao encontrado em Ouro Preto (27%)⁷³ e Rio Grande do Sul (16,7%)⁶⁶. A prevalência da infecção pelo HPV e das infecções múltiplas descritas nos estudos entre 1990 e 2010 aumentaram significativamente¹⁵. O aumento da sensibilidade dos métodos moleculares permite a amplificação de um maior número de genótipos e portanto, interfere na frequência encontrada da infecção pelo HPV, seja única ou por múltiplos genótipos.

Entre os genótipos oncogênicos contemplados pela vacinas atualmente disponíveis, encontramos o HPV 16 ou o 18 em 22,8% dos exames. Se se considerar a vacina como estratégia de prevenção que já poderia ter sido oferecida à população, será constatado que, apesar de não vacinadas, 77,2% das mulheres persistem negativas para HPV 16 e 18, ou seja, a meta de vacinar a maioria da população traria custos apenas para proteger cerca de um quarto delas. Por outro lado, não contabilizando as mulheres que evoluíram com o *clearance* da infecção e assumindo que a vacina será eficaz quando ofertada às mulheres que ainda não foram expostas a determinado genótipo viral, poderíamos supor que ainda valeria a pena vacinar mais de 75% da população.

7. LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

Dentre as limitações deste estudo, o caráter retrospectivo da coleta de dados em prontuários não permitiu que os exames cito-histopatológicos e o teste de DNA/HPV fossem realizados em um mesmo momento. Além disto, alguns dados não puderam ser coletados por não estarem disponíveis. Não é possível pretender que a amostra, por sua natureza de conveniência, seja representativa da população feminina do município ou do estado, pois a participação relativa dos bairros com habitantes de maior poder aquisitivo, acesso a planos de saúde e utilização frequente de serviços de saúde foi bastante superior à proporção que tais áreas representam na população geral. Houve predomínio intenso do Distrito Sanitário Barra-Rio Vermelho. Caso a mesma coleta tivesse sido realizada em unidades próprias do Sistema Único de Saúde, uma proporção muito maior de pacientes moradoras de bairros periféricos seria contemplada, o que poderia conduzir a achados diversos.

É interessante também observar, que a população do estudo representa as mulheres de serviço de referência para patologia cervical, onde é esperada maior prevalência da infecção pelo HPV. Entretanto, na prática médica atual são estas mulheres que possuem indicação para submeter-se aos exames de biologia molecular diante da suspeita de lesão HPV-induzida ou no controle pós-tratamento de lesões intra-epiteliais. Portanto, apesar da presente amostra não poder ser diretamente comparada aos estudos que avaliam a prevalência dos genótipos em mulheres sem histórico de infecção, possuem validade externa para mulheres com este perfil.

A proposta do estudo de avaliar a distribuição dos genótipos de HPV com o uso do teste PapilloCheck[®], disponível comercialmente na prática clínica, foi alcançada. Entretanto, devemos ponderar as comparações com os estudos descritos na literatura utilizando testes moleculares de detecção de HPV com sensibilidade e especificidade diferentes. Estudos de avaliação analítica entre este ensaio e outros métodos de biologia molecular, indicam boa concordância entre o PapilloCheck[®] e a CH2^{96,97}, *Linear Array* (PGMY09/11)^{96,98}, e o PCR GP5+/6+⁹⁹. Contudo, a capacidade de detectar um genótipo específico pode variar. O HPV 56 foi significativamente mais detectado com o PapilloCheck[®] em comparação com o uso do *Linear Array*, ocorrendo o inverso com o HPV 53⁹⁶. Em comparação com o PCR GP5+/6+, o PapilloCheck[®] detecta

significativamente mais os genótipos 31, 51, 52 e 59, principalmente nos casos de infecções por múltiplos tipos de HPV⁹⁹.

Uma das dificuldades encontradas para comparar os resultados entre as pesquisas é o emprego de diferentes técnicas de detecção do HPV. As discordâncias são encontradas nas amostras com pequena quantidade do vírus e nas infecções múltiplas⁹⁶. A especificidade e a sensibilidade dos métodos de biologia molecular variam bastante. A hibridização apresenta a menor sensibilidade, PCR com *primers* GP5+/6+ ou PGMY09/11, sensibilidade intermediária, e PCR com SPF10, alta sensibilidade¹⁰⁰.

Por sua vez, estes resultados corroboram outros estudos no Brasil que observaram variabilidade da distribuição dos diversos genótipos de HPV em mulheres com lesões pré-neoplásicas ou câncer, e preenche uma lacuna do conhecimento no estado da Bahia.

A razão de positividade entre mulheres HPV-positivas com CCI e citologia normal é uma ferramenta útil para estratificar o potencial oncogênico dos diversos genótipos. Todavia, é observado que para alguns tipos, a contribuição relativa eleva-se entre NIC3 e CCI, em comparação a outros, sugerindo que estudos que utilizem o desfecho NIC3, possam minimizar o potencial oncogênico de certos tipos de HPV⁹. Em futuros trabalhos, a inclusão do amplo espectro de lesões HPV-induzidas, até o desfecho câncer cervical, deve ser levada em consideração. Esta informação é de utilidade prática para definir os protocolos de rastreio e imunização, assim como guiar o manejo das patologias causadas por estes vírus.

Como perspectiva futura, enfatizamos a importância de novas pesquisas para avaliar mulheres com câncer cervical e as lesões pré-neoplásicas, utilizando técnica padronizada de genotipagem e abrangendo diferentes regiões do estado. Estudos que monitorem a infecção pelo HPV em diferentes regiões do país será uma importante estratégia para avaliar o impacto das vacinas vigentes e futuras e poderão ser de utilidade para guiar políticas públicas de saúde.

8. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados desta amostra, concluímos que :

- a) Entre os tipos oncogênicos, os HPV 16, 56 e 39 foram os mais frequentes. O HPV 18 figurou entre os menos comuns;
- b) Entre os HPV não oncogênicos, os HPV 42, 6 e 44/55 foram os mais frequentes. O HPV 11 foi o menos frequente;
- c) Os HPV-AR 16, 52, 73 e 82 apresentaram maior associação com a presença de lesão, assim como o HPV-BR 42. O HPV 16 foi mais frequente à medida que o grau de severidade da lesão aumentou;
- d) A associação entre genótipos de HPV e faixa etária demonstrou que as mulheres na faixa etária menor que 30 anos apresentaram frequência significativamente maior do HPV 16, 42 e 45;
- e) Houve alta taxa de infecções por múltiplos genótipos de HPV e a infecção múltipla foi significativamente maior na faixa etária menor que 30 anos;
- f) O HPV 16 ou 18 foi detectado em 22,8% da amostra, enquanto os dois tipos juntos estavam presentes em apenas 0,6% dos casos. A presença de pelo menos um tipo viral contemplado pela vacina quadrivalente e nonavalente foi detectado em 31,3% e 41,9% dos exames, respectivamente.

REFERÊNCIAS

1. Steben, M. & Duarte-Franco, E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecol. Oncol.* **107**, S2–5 (2007).
2. International Human Papillomavirus Reference Center. Human papillomavirus reference clones. at <<http://www.hpvcenter.se/html/refclones.html>>
3. IARC. Human Papillomaviruses. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. risks to humans.* **90**, (2007).
4. Bosch, F., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C. J. L. M. & Shah, K. V. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J. Clin. Pathol.* **55**, 244–65 (2002).
5. Muñoz, N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J. Clin. Virol.* **19**, 1–5 (2000).
6. WHO. Projections of mortality and causes of death, 2015 and 2030. *World Heal. Organ.* (2013). at <http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/projections/en/index.html>
7. INCA. Câncer do colo do útero. *Inst. Nac. Câncer* (2013). at <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colo_uter0>
8. Bosch, F. X. *et al.* Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine* **24**, S26–S34 (2006).
9. Guan, P. *et al.* Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int. J. cancer.* **131**, 2349–59 (2012).
10. Clifford, G., Franceschi, S., Diaz, M., Muñoz, N. & Villa, L. L. Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine* **24 Suppl 3**, S3/26–34 (2006).
11. Bruni, L. *et al.* Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J. Infect. Dis.* **202**, 1789–99 (2010).
12. Clifford, G. M. *et al.* Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* **366**, 991–8 (2005).
13. Clifford, G. M. *et al.* Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **14**, 1157–64 (2005).

14. Smith, J. S. *et al.* Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int. J. cancer.* **121**, 621–32 (2007).
15. Li, N., Franceschi, S., Howell-Jones, R., Snijders, P. J. F. & Clifford, G. M. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int. J. cancer.* **128**, 927–35 (2011).
16. Rosa, M. I. *et al.* Persistence and clearance of human papillomavirus infection: a prospective cohort study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **199**, 617.e1–617.e7 (2008).
17. Oliveira-Silva, M., Lordello, C. X., Zardo, L. M. G., Bonvicino, C. R. & Moreira, M. A. M. Human Papillomavirus in Brazilian women with and without cervical lesions. *Viol. J.* **8**, 4 (2011).
18. Ayres, A. R. G. & Silva, G. A. e. Cervical HPV infection in Brazil: systematic review. *Rev. Saude Publica* **44**, 963–974 (2010).
19. Queiroz, C. *et al.* Prevalence of human Papilloma Virus in HIV-positive and HIV-negative patients in the State of Bahia: a pilot study. *Brazilian J. Infect. Dis.* **8**, 356–362 (2004).
20. Paavonen, J. *et al.* Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. *Lancet* **374**, 301–14 (2009).
21. The FUTURE II Study Group*. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N. Engl. J. Med.* **356**, 1915–1927 (2007).
22. Serrano, B. *et al.* Potential impact of a nine-valent vaccine in human papillomavirus related cervical disease. *Infect. Agent. Cancer* **7**, 38 (2012).
23. Arbyn, M. *et al.* Worldwide burden of cervical cancer in 2008. *Ann. Oncol.* **22**, 2675–86 (2011).
24. Wheeler, C. M. HPV genotypes: implications for worldwide cervical cancer screening and vaccination. *Lancet Oncol.* **11**, 1013–1014 (2010).
25. Castellsagué, X. *et al.* Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J. Natl. Cancer Inst.* **98**, 303–15 (2006).
26. Baker, T. S. *et al.* Structures of bovine and human papillomaviruses. Analysis by cryoelectron microscopy and three-dimensional image reconstruction. *Biophys. J.* **60**, 1445–56 (1991).

27. De Villiers, E.-M., Fauquet, C., Broker, T. R., Bernard, H.-U. & zur Hausen, H. Classification of papillomaviruses. *Virology* **324**, 17–27 (2004).
28. Bernard, H.-U. *et al.* Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* **401**, 70–9 (2010).
29. Lambert, P. *et al.* Human papillomavirus genome variants. *Virology* **445**, 232–243 (2013).
30. Javier, R. T. & Butel, J. S. The history of tumor virology. *Cancer Res.* **68**, 7693–706 (2008).
31. Lambert, P. F. & zur Hausen, H. Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account. *Virology* **384**, 260–265 (2009).
32. Syrjänen, S. & Syrjänen, K. The history of papillomavirus research. *Cent. Eur. J. Public Health* **16 Suppl**, S7–13 (2008).
33. Bosch, F. X., Gasparini, R., Panatto, D., Gasparini, R. & Panatto, D. Cervical cancer: From Hippocrates through Rigoni-Stern to zur Hausen. *Vaccine* **27**, A4–A5 (2009).
34. Burk, R. D., Chen, Z. & Van Doorslaer, K. Human papillomaviruses: genetic basis of carcinogenicity. *Public Health Genomics* **12**, 281–90 (2009).
35. Burd, E. M. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin. Microbiol. Rev.* **16**, 1–17 (2003).
36. Muñoz, N., Castellsagué, X., de González, A. B. & Gissmann, L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* **24 Suppl 3**, S3/1–10 (2006).
37. Fehrman, F. & Laimins, L. A. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. *Oncogene* **22**, 5201–7 (2003).
38. Bernard, H.-U. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J. Clin. Virol.* **32**, 1–6 (2005).
39. Gissmann, L. & Hausen, H. Z. Human papilloma virus DNA: physical mapping and genetic heterogeneity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **73**, 1310–1313 (1976).
40. Van Ranst, M., Kaplan, J. B. & Burk, R. D. Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *J. Gen. Virol.* **73** (Pt 10), 2653–60 (1992).
41. De Villiers, E.-M. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology* **445**, 2–10 (2013).
42. Van Doorslaer, K. *et al.* Papillomaviruses: evolution, Linnaean taxonomy and current nomenclature. *Trends Microbiol.* **19**, 49–50; author reply 50–1 (2011).

43. Ong, C. K., Bernard, H. U. & Villa, L. L. Identification of genomic sequences of three novel human papillomavirus sequences in cervical smears of Amazonian Indians. *J. Infect. Dis.* **170**, 1086–8 (1994).
44. Calleja-Macias, I. E. *et al.* Papillomavirus subtypes are natural and old taxa: phylogeny of human papillomavirus types 44 and 55 and 68a and -b. *J. Virol.* **79**, 6565–9 (2005).
45. Bosch, F. X. *et al.* Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* **24**, S42–S51 (2006).
46. IARC. Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans - Human Papillomaviruses. *IARC Monogr.* **100 B** (2012). at <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100B/mono100B-11.pdf>>
47. Muñoz, N. *et al.* Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N. Engl. J. Med.* **348**, 518–527 (2003).
48. Schiffman, M. *et al.* The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology* **337**, 76–84 (2005).
49. Bouvard, V. *et al.* A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol.* **10**, 321–322 (2009).
50. Bernard, E. *et al.* Comparing human papillomavirus prevalences in women with normal cytology or invasive cervical cancer to rank genotypes according to their oncogenic potential: a meta-analysis of observational studies. *BMC Infect. Dis.* **13**, 373 (2013).
51. Jarienė, K. *et al.* Prevalence of human papillomavirus types 16, 18, and 45 in women with cervical intraepithelial changes: associations with colposcopic and histological findings. *Medicina (Kaunas)*. **48**, 22–30 (2012).
52. Clifford, G. M., Smith, J. S., Aguado, T. & Franceschi, S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br. J. Cancer* **89**, 101–5 (2003).
53. De Sanjosé, S. *et al.* Human papillomavirus (HPV) and related cancers in the Global Alliance for Vaccines and Immunization (GAVI) countries. A WHO/ICO HPV Information Centre Report. *Vaccine* **30 Suppl 4**, D1–83, vi (2012).
54. Doorbar, J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin. Sci.* **110**, 525–541 (2006).
55. Zur Hausen, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat. Rev. Cancer* **2**, 342–50 (2002).

56. Ho, G. Y., Bierman, R., Beardsley, L., Chang, C. J. & Burk, R. D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.* **338**, 423–8 (1998).
57. Wheeler, C. M. The natural history of cervical human papillomavirus infections and cervical cancer: gaps in knowledge and future horizons. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* **40**, 165–76 (2013).
58. Plummer, M., Schiffman, M., Castle, P. E., Maucort-Boulch, D. & Wheeler, C. M. A 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J. Infect. Dis.* **195**, 1582–9 (2007).
59. Bosch, F. X. *et al.* Updating the Natural History of Human Papillomavirus and Anogenital Cancers. *Vaccine* **30**, F24–F33 (2012).
60. Bosch, F. X. *et al.* Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type-Specific Implications in Cervical Neoplasia. *Vaccine* **26**, K1–K16 (2008).
61. De Sanjosé, S. *et al.* Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* **7**, 453–9 (2007).
62. Ciapponi, A., Bardach, A., Glujovsky, D., Gibbons, L. & Picconi, M. A. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PLoS One* **6**, e25493 (2011).
63. Garland, S. M. *et al.* Natural history of genital warts: analysis of the placebo arm of 2 randomized phase III trials of a quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) vaccine. *J. Infect. Dis.* **199**, 805–14 (2009).
64. Lorenzato, F. *et al.* The use of human papillomavirus typing in detection of cervical neoplasia in Recife (Brazil). *Int. J. Gynecol. Cancer* **10**, 143–150 (2000).
65. De Sanjose, S. *et al.* Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* **11**, 1048–56 (2010).
66. Coser, J. *et al.* Prevalence and genotypic diversity of cervical human papillomavirus infection among women from an urban center in Brazil. *Genet. Mol. Res.* **12**, 4276–85 (2013).
67. Fernandes, J. V. *et al.* Human papillomavirus prevalence in women with normal cytology and with cervical cancer in Natal, Brazil. *Mol. Med. Rep.* **4**, 1321–6 (2011).
68. De Medeiros Fernandes, T. A. A., de Vasconcellos Meissner, R., Bezerra, L. F., de Azevedo, P. R. M. & Fernandes, J. V. Human papillomavirus infection in women attended

- at a cervical cancer screening service in Natal, Brazil. *Brazilian J. Microbiol.* **39**, 573–8 (2008).
69. Pereira, C. R. N. *et al.* Human papillomavirus prevalence and predictors for cervical cancer among high-risk women from Rio de Janeiro, Brazil. *Int. J. Gynecol. Cancer* **17**, 651–60 (2012).
 70. Oliveira, L. H. S. *et al.* Human papillomavirus genotypes in asymptomatic young women from public schools in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **43**, 4–8 (2010).
 71. Camara, G. N. *et al.* Prevalence of human papillomavirus types in women with pre-neoplastic and neoplastic cervical lesions in the Federal District of Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **98**, 879–883 (2003).
 72. Paesi, S., Serafini, E. P., Barea, F., Madi, S. R. C. & Echeverrigaray, S. High prevalence of human papillomavirus type 58 in patients with cervical pre-malignant lesions in southern Brazil. *J. Med. Virol.* **81**, 1270–5 (2009).
 73. Miranda, P. M. *et al.* Human papillomavirus infection in Brazilian women with normal cervical cytology. *Genet. Mol. Res.* **11**, 1752–61 (2012).
 74. De Oliveira, C. M., Fregnani, J. H. T. G., Carvalho, J. P., Longatto-Filho, A. & Levi, J. E. Human papillomavirus genotypes distribution in 175 invasive cervical cancer cases from Brazil. *BMC Cancer* **13**, 357 (2013).
 75. Fernandes, J. V *et al.* Prevalence of human papillomavirus in archival samples obtained from patients with cervical pre-malignant and malignant lesions from Northeast Brazil. *BMC Res. Notes* **3**, 96 (2010).
 76. Cuschieri, K. S. *et al.* Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J Clin Pathol* **57**, 68–72 (2004).
 77. Trottier, H. *et al.* Human papillomavirus infections with multiple types and risk of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol. biomarkers Prev.* **15**, 1274–80 (2006).
 78. Vaccarella, S. *et al.* Concurrent infection with multiple human papillomavirus types: pooled analysis of the IARC HPV Prevalence Surveys. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **19**, 503–10 (2010).
 79. Trottier, H. *et al.* Type-specific duration of human papillomavirus infection: implications for human papillomavirus screening and vaccination. *J. Infect. Dis.* **197**, 1436–47 (2008).
 80. Palefsky, J. CHAPTER 5 HPV infection and HPV-associated neoplasia in immunocompromised women. *Int. J. Gynecol. Obstet.* **94**, S56–S64 (2006).
 81. Gonçalves, M. A. G. *et al.* HPV type infection in different anogenital sites among HIV-positive Brazilian women. *Infect. Agent. Cancer* **3**, 5 (2008).

82. Entiauspe, L. G. *et al.* Human papillomavirus: prevalence and genotypes found among HIV-positive and negative women at a reference center in the far south of Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **43**, 260–3 (2010).
83. Ferenczy, A., Coutlée, F., Franco, E. & Hankins, C. Human papillomavirus and HIV coinfection and the risk of neoplasias of the lower genital tract: a review of recent developments. *CMAJ* **169**, 431–4 (2003).
84. Levi, J. E. *et al.* High Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) Infections and High Frequency of Multiple HPV Genotypes in Human Immunodeficiency Virus-Infected Women in Brazil. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 3341–3345 (2002).
85. Palefsky, J. M. & Holly, E. A. Chapter 6: Immunosuppression and co-infection with HIV. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 41–6 (2003). at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12807944>
86. Sisay, S. Effect of human papilloma virus in HIV infected person: A mini review. *Int. J. Med. Med. Sci.* **3**, 351–356 (2013).
87. CDC. 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MWR Morb Mortal Wkly Re* **41**, 1–20 (1993).
88. Solomon, D. *et al.* The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* **287**, 2114–9 (2002).
89. INCA. Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais e Condutas Preconizadas. (2006). at http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Titulos/Nomenclatura_colo_do_uterio.pdf
90. Darragh, T. M. *et al.* The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *Int. J. Gynecol. Pathol.* **32**, 76–115 (2013).
91. Chan, P. K. S., Picconi, M. A., Cheung, T. H., Giovannelli, L. & Park, J. S. Laboratory and clinical aspects of human papillomavirus testing. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **49**, 117–36 (2012).
92. Saslow, D. *et al.* American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA. Cancer J. Clin.* **62**, 147–72 (2012).
93. Bosch, F. X. *et al.* Modeling Preventative Strategies against Human Papillomavirus-Related Disease in Developed Countries. *Vaccine* **30**, F157–F167 (2012).

94. Villa, L. L. & Denny, L. Chapter 6: Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. *Int. J. Gynecol. Obstet.* **94**, S71–S80 (2006).
95. Abreu, A. L. P., Souza, R. P., Gimenes, F. & Consolaro, M. E. L. A review of methods for detect human Papillomavirus infection. *Viol. J.* **9**, 262 (2012).
96. Dalstein, V. *et al.* Analytical evaluation of the PapilloCheck test, a new commercial DNA chip for detection and genotyping of human papillomavirus. *J. Virol. Methods* **156**, 77–83 (2009).
97. Didelot, M.-N., Boulle, N., Damay, A., Costes, V. & Segondy, M. Comparison of the PapilloCheck® assay with the digene HC2 HPV DNA assay for the detection of 13 high-risk human papillomaviruses in cervical and anal scrapes. *J. Med. Virol.* **83**, 1377–82 (2011).
98. Halfon, P. *et al.* Comparison of the clinical performance of carcinogenic HPV typing of the Linear Array and Papillocheck HPV-screening assay. *J. Clin. Virol.* **47**, 38–42 (2010).
99. Hesselink, A. T. *et al.* Comparison of the clinical performance of PapilloCheck human papillomavirus detection with that of the GP5+/6+-PCR-enzyme immunoassay in population-based cervical screening. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 797–801 (2010).
100. Gravitt, P. E. *et al.* New technologies in cervical cancer screening. *Vaccine* **26 Suppl 1**, K42–52 (2008).
101. Michalas, S. P. The Pap test: George N. Papanicolaou (1883-1962). A screening test for the prevention of cancer of uterine cervix. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **90**, 135–8 (2000).
102. Latest world cancer statistics. at <http://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2013/pdfs/pr223_E.pdf>
103. Cuzick, J. *et al.* Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* **26 Suppl 1**, K29–41 (2008).
104. Bosch, F. X. *et al.* Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine* **31 Suppl 7**, H1–H31 (2013).
105. Sankaranarayanan, R. HPV screening for cervical cancer in rural India. ... *Engl. J. ...* **360**, 1385–1394 (2009).
106. Cutts, F. T. *et al.* Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. *Bull. World Health Organ.* **85**, 719–26 (2007).

107. Pons-Salort, M. *et al.* Exploring individual HPV coinfections is essential to predict HPV-vaccination impact on genotype distribution: a model-based approach. *Vaccine* **31**, 1238–45 (2013).
108. Brasil. Ministério da Saúde anuncia incorporação da vacina contra HPV no calendário nacional. *Portal da Saúde* (2013). at <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/noticias-antiores-agencia-saude/5930>>
109. Tavassoli, F. & Devilee, P. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. [*World Heal. Organ. Classif. Tumours*]. Lyon IARC Press (2003). at <<http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb4/BB4.pdf>>
110. Moscicki, A. & Cox, J. Practice improvement in cervical screening and management (PICSM): symposium on management of cervical abnormalities in adolescents and young. *J. Low. Genit. Tract Dis.* **14**, 73–80 (2010).
111. Krambeck, W. M., Cadide, R. M., Dalmarco, E. M. & De Cordova, C. M. M. HPV detection and genotyping as an earlier approach in cervical cancer screening of the female genital tract. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* **35**, 175–178 (2008).
112. Roteli-Martins, C. M. *et al.* Prevalence of human papillomavirus infection and associated risk factors in young women in Brazil, Canada, and the United States: a multicenter cross-sectional study. *Int. J. Gynecol. Pathol.* **30**, 173–84 (2011).
113. Clifford, G. & Franceschi, S. Members of the human papillomavirus type 18 family (alpha-7 species) share a common association with adenocarcinoma of the cervix. *Int. J. Cancer* **122**, 1684–5 (2008).
114. Gurgel, A. P. A. D. *et al.* Prevalence and genetic variability in capsid L1 gene of rare human papillomaviruses (HPV) found in cervical lesions of women from North-East Brazil. *Biomed Res. Int.* **2013**, 546–354 (2013).
115. Pista, A., Oliveira, A., Verdasca, N. & Ribeiro, F. Single and multiple human papillomavirus infections in cervical abnormalities in Portuguese women. *Clin. Microbiol. Infect.* **17**, 941–6 (2011).
116. Adler, D. *et al.* High Rate of Multiple Concurrent Human Papillomavirus Infections among HIV-Uninfected South African Adolescents. *J Immunol Tech Infect Dis* **2**, 2–5 (2013).

ANEXO A - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)



INSTITUTO MÉDICO LEGAL
NINA RODRIGUES



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Genótipos do HPV no trato genital inferior em mulheres de uma clínica de referência em Salvador, Bahia

Pesquisador: ADRIANA BRUNO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 19819913.4.0000.5557

Instituição Proponente: Bahia Secretaria da Segurança Pública

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 386.289

Data da Relatoria: 20/08/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo descritivo retrospectivo de natureza exploratória, que deve incluir pacientes de uma clínica privada cuja assistência é custeada com recursos próprios ou por planos de saúde e que tenham sido submetidas a exame complementar com indicação médica sob a responsabilidade dos ginecologistas assistentes, sem que a realização da investigação científica interfira com o fluxo ou as indicações dos exames.

Objetivo da Pesquisa:

Descrever os genótipos do vírus do papiloma humano que infectam as pacientes submetidas a técnica chamada Papillocheck, cuja indicação é feita após positividade em captura híbrida. Calcular a frequência de coinfeção por mais de um genótipo viral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos. O procedimento é invasivo e gera incômodo pela coleta em região íntima, mas faz parte da assistência médica, e não da pesquisa. O risco da pesquisa refere-se à salvaguarda da intimidade e privacidade das informações das mulheres submetidas, pois a pesquisadora manipulará os prontuários integralmente, a fim de deles coletar os dados desejados. Os benefícios são potenciais e coletivos, pois a paciente individual já se terá beneficiado do diagnóstico, independentemente da investigação. É possível que decisões sobre indicação de

Endereço: Av: Centenário, 990

Bairro: Vale dos Barris

CEP: 40.100-180

UF: BA **Município:** SALVADOR

Telefone: (71)3316-8634

E-mail: cep.lmlnr@gmail.com



INSTITUTO MÉDICO LEGAL
NINA RODRIGUES



Continuação do Parecer: 366.289

vacina resultem do conhecimento sobre quais tipos virais circulam em nosso meio e se eles coincidem com os incluídos nas vacinas disponíveis.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa descritiva de natureza quantitativa em que seres humanos não serão abordados, mas dados humanos identificáveis serão manipulados, e a pesquisadora solicita dispensa de TCLE. As alegações são de que a Clínica recebe clientes de outros serviços e que as pacientes não mantêm acompanhamento contínuo, dificultando o contato para consentir.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Aspectos formais cumpridos. Apenas o TCLE não foi inserido, pela solicitação de dispensa. Folha de rosto com assinaturas e carimbos.

Recomendações:

Aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:


Aprovado.

SALVADOR, 20 de Agosto de 2013

Assinador por:
Bruno Gil de Carvalho Lima
(Coordenador)

Endereço: Av: Centenário, 990
 Bairro: Vale dos Barris CEP: 40.100-180
 UF: BA Município: SALVADOR
 Telefone: (71)3316-8634 E-mail: cep.limnr@gmail.com


ANEXO B – Autorização para Coleta de Dados

**IDEM**
Clínica Vera Harfush

AUTORIZAÇÃO PARA COLETA DE DADOS

Eu, Dra Janaina Harfush Bulcão Nascimento, diretora médica da Clínica Idem / Vera Harfush, autorizo a Dr^{as}. Adriana Bruno e seu orientador Prof. Dr. Bruno Gil de Carvalho Lima a acessarem as informações contidas nas fichas clínicas das pacientes atendidas na Clínica e submetidas a captura híbrida, no âmbito do projeto de pesquisa intitulado "Prevalência dos genótipos do HPV no trato genital inferior em mulheres atendidas em clínica de referência em Salvador, Bahia". Comprometo-me com o respeito aos princípios éticos da Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial e da Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde. As informações coletadas excluirão os nomes das pacientes ou quaisquer outros dados que possibilitem a identificação, garantindo-se a intimidade e a privacidade de todas. O fato de tratar-se de mulheres em idade fértil, em sua maioria, não insere qualquer risco à fertilidade pela participação na pesquisa, pois são pacientes com indicação médica de realizar o exame diagnóstico, que seguem protocolo assistencial já definido e aplicado independentemente da iniciativa de pesquisa científica.

Salvador, 20 de julho de 2012



Janaina Harfush Bulcão Nascimento
Diretora médica da Clínica IDEM / Vera Harfush
CREMEB 14676

R. Baependi, 132 T. Ondina - CEP 40.170-070 Salvador BA Fone: 71 3339-0280
Av. Tenório Neves, 1032 Salvador Trade Center, Torre Norte s 114 CEP 41820-020 Fone: 71 3113-1570
Marcação de consultas: Tel: 71 3339-8282 idem@clinicaidem.com.br / www.clinicaidem.com.br