

# Prevalência dos tipos de Papilomavírus Humano em mulheres atendidas em um Hospital Universitário no Sul do Brasil

*Prevalence of Human Papillomavirus types in women attending at University hospital in southern Brazil*

Lisiane O Teixeira<sup>1</sup>, Valdimara C Vieira<sup>2</sup>, Fabiana N Germano<sup>3</sup>, Carla V Gonçalves<sup>4</sup>, Marcelo A Soares<sup>5</sup>, Ana MB Martinez<sup>6</sup>

## RESUMO

**Modelo do estudo:** Transversal. **Objetivo do estudo:** Determinar a prevalência e os genótipos do HPV em mulheres atendidas em um Hospital Universitário no Sul do Brasil. **Metodologia:** Foram coletadas amostras de secreções cérvico-vaginal de 200 mulheres. O HPV foi detectado pela Reação em Cadeia da Polimerase aninhada e os genótipos por sequenciamento. As variáveis foram analisadas pelo Teste Exato de Fisher e pelo Chi-quadrado de Pearson com o nível de significância  $< 5\%$ . A força de associação foi calculada pela razão de prevalência e os seus intervalos de confiança a 95%. A análise Multivariada foi calculada pela Regressão Logística Binária para as variáveis com  $P < 0,20$ . **Resultados:** O DNA do HPV foi detectado em 55 mulheres (27,5%). A prevalência do HPV foi associada a baixa renda ( $P = 0,01$ ), o início sexual precoce ( $P < 0,001$ ), a gestação ( $P = 0,002$ ), a infecção pelo HIV-1 ( $P = 0,001$ ) e a coilocitose no exame citopatológico ( $P = 0,006$ ). Houve associação entre o status sorológico para o HIV-1 e os genótipos HPV-33 ( $P = 0,001$ ) e HPV-68 ( $P < 0,001$ ). Na análise multivariada, a prevalência do HPV foi associada ao início sexual precoce ( $P = 0,001$ ), a infecção pelo HIV-1 ( $P = 0,01$ ), a gestação ( $P = 0,02$ ) e a coilocitose no citopatológico ( $P = 0,01$ ). Sobre os genótipos, 90,4% eram de alto risco oncogênico (18 HPV-18, 14 HPV-16, quatro HPV-53, três HPV-31, dois HPV-58, dois HPV-59, dois HPV-68, um HPV-33 e um HPV-52) e 9,6% de baixo risco (dois HPV-11, dois HPV-16 e um HPV-70). **Conclusões:** Esse estudo teve a prevalência do HPV semelhante à prevalência descrita para esta região. Os genótipos do HPV de alto risco foram os mais prevalentes, sendo o HPV-18 o principal tipo viral encontrado.

**Palavras-Chave:** Biologia Molecular. Técnicas de Genotipagem / HPV. Infecções por Papillomavirus. Reação em Cadeia da Polimerase. Saúde da Mulher.

1. Discente do Doutorado em Ciências da Saúde, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande (FURG) Rio Grande / RS, Brasil.
2. Pós-Doutoranda, Programa de Oncovirologia, Instituto Nacional de Câncer - INCA - Rio de Janeiro / RJ, Brasil.
3. Professora Adjunta de Hematologia Clínica e Virologia Universidade Federal Fluminense, Polo Universitário Nova Friburgo, Nova Friburgo / RJ, Brasil.
4. Médica e Professora Adjunta da Disciplina de Ginecologia e Obstetrícia Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Universitário Dr. Miguel Riêt Corrêa Júnior, FURG.
5. Pesquisador Titular do Programa de Oncovirologia, Instituto Nacional de Câncer - INCA. Professor Associado IV do Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ - Rio de Janeiro (RJ), Brasil.
6. Professora Associada da Disciplina de Microbiologia da Faculdade de Medicina e do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, FURG.

Correspondencia  
Lisiane Ortiz Teixeira  
Universidade Federal do Rio Grande  
Faculdade de Medicina.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
Rua General Osório, s/n - 4º andar - Centro.  
CEP: 96200-400 - Rio Grande (RS), Brasil.  
lisiane.teixeira@furg.br

Recebido em 23/10/2014  
Aprovado em 28/08/2015

Conflito de Interesse:  
Os autores declaram que não há conflitos de interesse nesse estudo.

## ABSTRACT

**Study design:** cross-sectional. **Objective:** To determine the HPV prevalence and genotypes in women treated at University Hospital in southern Brazil. **Methodology:** Cervical cells samples from 200 women were collected. HPV was detected by nested polymerase chain reaction and genotypes were determined by sequencing. Variables were analyzed by the Fisher Exact Test and Chi-squared test of Pearson ( $X^2$ ) with a significance level of  $\leq 5\%$ . The strength of association was calculated by the prevalence ratio, with their confidence intervals at 95%. Multivariate analysis was calculated by Binary Logistic Regression for variables with  $P < 0.20$ . **Results:** HPV DNA was detected in 55 women (27.5%). HPV prevalence was associated with income ( $P = 0.01$ ), early initiation of sexual life ( $P < 0.001$ ), pregnant ( $P = 0.002$ ), HIV-1 infection ( $P = 0.001$ ) and koilocytosis presence in cytological test ( $P = 0.006$ ). Were found an association between serological status for HIV-1 and the genotypes HPV-33 ( $P = 0.001$ ) and HPV-68 ( $P < 0.001$ ). Multivariate analysis showed that HPV prevalence was associated with patients who had early initiation of sexual life ( $P = 0.001$ ), was infected by HIV-1 ( $P = 0.01$ ), was pregnant ( $P = 0.02$ ), and women with koilocytosis in cytological test ( $P = 0.01$ ). Genotypes were 90.4% higher-risk oncogenic (18 HPV-18, 14 HPV-16, four HPV-53, three HPV-31, two HPV-58, two HPV-59, two HPV-68, one HPV-33 and one HPV-52) and 9.6% low-risk (two HPV-11, two HPV-16 and one HPV-70). **Conclusions:** This study had the HPV prevalence similar to prevalence described in this region. The high-risk HPV genotypes were the most prevalent, being HPV-18 the main viral type found.

**Keywords:** Molecular Biology. Genotyping Techniques / HPV. Papillomavirus Infections. Polymerase Chain Reaction. Women's Health.

## Introdução

A infecção pelo *Papilomavírus Humano* (HPV) é uma das Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) mais frequentes no mundo.<sup>1</sup> Os HPV são classificados em genótipos de baixo risco (HPV-6, HPV-11, HPV-70), que estão relacionados com as verrugas genitais<sup>2</sup> e os genótipos de alto risco oncogênico (HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33 HPV-52, HPV-53), associados com lesões intraepiteliais e câncer.<sup>2,3</sup>

Os fatores de risco associados com a infecção pelo HPV descritos na literatura são o início precoce das relações sexuais, o número de parceiros sexuais, uso de contraceptivos orais, a infecção pelo HIV-1, a gestação, o tabagismo, a baixa renda, a baixa escolaridade e a idade.<sup>1,3,4</sup>

Os testes de detecção do DNA do HPV associados à citologia são úteis na identificação de mulheres que estão em risco de desenvolver lesões cervicais.<sup>3,5</sup> Além disso, a identificação dos tipos de HPV auxilia a conduzir um acompanhamento mais apropriado para pacientes acometidas por essa infecção viral.<sup>2</sup> Assim, esse estudo teve como objetivo detectar a prevalência do *Papilomavírus Humano* (HPV) e seus diferentes genótipos em mulheres atendidas em um Hospital Universitário no Sul do Brasil.

## Material e Métodos

### População do estudo

O local do estudo foi a cidade do Rio Grande que está localizada a 32.03°S 52.09°O e faz parte do estado do Rio Grande do Sul. Possui características epidemiológicas diferenciadas por ser uma cidade portuária, universitária, balneária, com uma população flutuante e frequentes situações de prostituição e drogadição.<sup>6</sup>

Este estudo transversal foi realizado entre setembro de 2008 e novembro de 2009. Para que a análise sobre a prevalência tivesse poder estatístico, o número de mulheres necessárias para o estudo foi calculado utilizando o programa Epi-info 6.04<sup>7</sup>. Com base nas referências encontradas na literatura que variam de 18%<sup>8</sup> a 34,2%<sup>9</sup> para encontrar uma prevalência de 25%, com um erro de, +"- 6% e um nível de confiança de 95%, seriam necessárias 200 mulheres.

### Coleta das amostras

A amostragem foi de conveniência, sendo selecionada de forma sequencial conforme as visitas nos ambulatórios de Ginecologia e Obstetria do Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Corrêa Jr. - HU/

FURG. Foram excluídas as mulheres histerectomizadas. Todas as participantes responderam a um questionário autoaplicável padronizado a fim de conseguir informações sociodemográficas e antecedentes ginecológicos. Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos mediante análise do prontuário médico. As amostras de secreção cérvico-vaginal foram coletadas pela ginecologista durante a consulta ginecológica, com o auxílio de uma escova VAGISPEC®. Em seguida, a escova foi acondicionada em tubo criogênico contendo 1 mL de solução tampão T.E. (Tris-HCl 10 mM pH 8,0; EDTA 1 mM).<sup>10</sup>

### Análise das Amostras

A extração do DNA foi feita a partir do Kit comercial GFX (GE Healthcare®, São Paulo, Brasil) Genomic Blood DNA Purification Kit segundo o protocolo de extração de células sanguíneas. Para avaliar a viabilidade do DNA após a extração, foi realizada para todas as amostras a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o receptor de quimiocina humano CCR2 conforme metodologia descrita previamente.<sup>11</sup>

Para detecção do Papilomavírus, foi realizada uma PCR *Nested*. O primeiro "round", o qual amplificou um fragmento de 450pb da região L1 do capsídeo viral, foi realizado com *primers* externos: MY09/MY11.<sup>2,10</sup> O segundo "round" amplificou um fragmento de 150pb também da região L1 e utilizou os *primers* internos: GP5/GP6.<sup>2,12</sup> As PCR foram realizadas conforme metodologia descrita previamente<sup>13</sup>. Como controle positivo da reação, foi usado um fragmento de 450pb correspondente às células SiHa e um controle negativo com omissão de qualquer DNA.<sup>13</sup>

Para a visualização da extração de DNA e do resultado das PCR, foram realizadas eletroforese em gel de agarose 0,8% para a extração do DNA, 1,5% para a PCR CCR2, 1,0% para PCR MY09/11 e de 2% para PCR GP5/6. Os fragmentos foram visualizados por fluorescência UV por um sistema de fotodocumentação EDAS Kodak após ter sido banhado em brometo de etídio (10mg/mL) e o tamanho foi comparado com o marcador de peso molecular Leidwing Biotc® Ladder 50pb Puls.

Os produtos de PCR positivos para o HPV foram purificados com o kit PureLink™ (Invitrogen,

Carlsbad, Califórnia) segundo o protocolo do fabricante e reservado a -20 °C até a genotipagem.<sup>2</sup> A genotipagem do HPV foi realizada por sequenciamento automático do produto de PCR com o kit ET Dye Terminator Cycle Sequencing kit (GE Healthcare, UK), de acordo com o protocolo do fabricante e previamente descrito na literatura.<sup>2</sup> As seqüências de nucleotídeos obtidas da mesma amostra foram editadas e montadas em dois programas: SeqMan (DNASar, Madison, Wisconsin, EUA) e CLUSTAL W – BioEdit (BioEdit Sequence Alignment Editor Software, Department of Microbiology, North California State University). Para a confirmação e identificação do tipo do HPV, foi realizada a comparação de todas as seqüências nucleotídicas das amostras sequenciadas, submetendo-as ao Banco de Dados Mundial de Nucleotídeos – *Gene Bank*, utilizando o programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>).

### Análise Estatística

Todos os dados foram revisados, codificados e duplamente digitados no *software* EpiData®.<sup>14</sup> Para a análise dos dados foi utilizado o programa STATA versão 8.0ª (StataCorp 2004)<sup>15</sup> e Epi-info 6.04ª.<sup>7</sup> Foi calculado pelo Chi-quadrado de Pearson e Teste Exato de Fisher o p-valor, que foi considerado significativo quando menor que 0,05. Foram calculadas as razões de prevalência (RP) brutas e seus IC95%. A análise multivariada foi realizada no programa do *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS)<sup>16</sup> por meio da regressão de Poisson, seguido um modelo hierarquizado de análise, no qual foram integradas as variáveis com  $p \leq 0,20$  na análise bruta. No primeiro nível ingressaram as variáveis sócio-demográficas e no segundo, ginecológicas e laboratoriais.

### Ética

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa na Área da Saúde (CEPAS) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG sob processo nº 2533/7-74 e está cadastrado na PROESP sob o número: 993206/2007. Participaram do estudo as mulheres que concordaram em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. A pesquisa foi conduzida de acordo com a Declaração de Helsinque revisada em 2008.

## Resultados

O DNA do HPV foi detectado em amostras de 55 de 200 mulheres (27,5%).

A média de idade das mulheres deste estudo foi de 33 anos (DP  $\pm$ 18); 62,6% se autodenominaram brancas; 59,7% eram casadas ou moravam com companheiro; 73,8% tinham oito anos ou mais de escolaridade e 57,1% tinham renda de dois salários mínimo ou menos. Do total, 74,5% tinham idades iguais ou superior a 17 anos na primeira relação sexual (Média = 16,7 anos); 20,4% eram gestantes; 74,1% já haviam realizado o exame citopatológico anteriormente em outras consultas; 98,4% apresentavam células normais (ausência de coilocitose) no exame citopatológico no momento do estudo; 9,1% eram pacientes HIV-1 positivas.

Entre as variáveis sociodemográficas associadas à presença do HPV (Tabela 1), a única que mostrou significância estatística foi a renda. Pacientes com renda menor do que dois salários mínimos apresentaram maior prevalência da infecção quando comparadas àquelas que tinham renda familiar

maior ou igual a dois salários mínimos ( $P=0,01$ ). Com relação às características ginecológicas das pacientes, observou-se associação significativa o início precoce da vida sexual (idade  $\leq$  17 anos, com  $P < 0,001$ ); as mulheres com coilocitose no exame citopatológico ( $P = 0,006$ ); as infectadas pelo HIV-1 ( $P = 0,001$ ) e as gestantes ( $P = 0,002$ ), como observado na Tabela 2.

No modelo final, realizado com uso da análise multivariada, demonstrou-se que o maior risco de infecção pelo HPV está associado às pacientes que tiveram a primeira relação sexual antes dos 17 anos de idade ( $P = 0,001$ ), as infectadas pelo HIV-1 ( $P = 0,01$ ), as gestantes ( $P = 0,02$ ) e as mulheres com o resultado do citopatológico alterado com coilocitose ( $P = 0,01$ ), como observado na Tabela 3.

Cinquenta e duas amostras (94,5%) de um total de 55 amostras positivas tiveram o tipo de HPV determinado e essas amostras apresentaram a infecção por apenas um genótipo. Os resultados encontrados por sequenciamento foram: 18 HPV-18 (34,7%), 14 HPV-16 (26,9%), quatro HPV-53 (7,7%), três HPV-31 (5,7%), dois HPV-6 (3,8%),

**Tabela 1: Características sociodemográfica das mulheres e associação com o HPV**

Variáveis/ Categoria	n(%)	HPV+n (%)	Razão de prevalência	IC <sub>95%</sub>	p <sup>a</sup>
<b>Cor da pele</b>					
Branca	94 (62,6)	24 (25,5)	1,0		
Não Branca	56 (37,4)	17 (30,3)	1,23	0,73 – 2,08	p = 0, 729
<b>Estado Civil</b>					
Com companheiro	89 (59,7)	27 (30,3)	1,0		
Sem companheiro	60 (40,3)	15(25,0)	0,83	0,48 – 1,42	p = 0, 653
<b>Idade</b>					
41 a 51 anos	21 (13,8)	8 (42,1)	1,0		
31 a 40 anos	16 (10,5)	8 (50,0)	1,31	0,63 – 2,73	
21 a 30 anos	20 (13,1)	7 (35,0)	0,91	0,40 – 2,06	
15 a 20 anos	95 (47,5)	21 (22,1)	0,58	0,29 – 1,12	p = 0, 091
<b>Nível de Escolaridade</b>					
$\geq$ 9 anos	104 (73,8)	28 (26,9)	1,0		
$\leq$ 8 anos	37 (26,2)	11 (29,7)	1,09	0, 61 – 1, 97	p = 0, 780
<b>Renda <sup>b</sup></b>					
Mais de dois salários mínimos	67 (42,9)	13 (19,4)	1, 0		
Dois salários mínimos	50 (32,6)	15 (30,0)	1, 43	0, 75 – 2,72	
Até um salário mínimo	36 (24,5)	17 (47,2)	2, 25	1.24 – 4,08	p = 0, 014

<sup>a</sup> Teste Chi-quadrado de Person. <sup>b</sup> Salário Mínimo na época do estudo (ano de 2009): R\$ 465,00

**Tabela 2: Características ginecológicas das mulheres e associação com o HPV**

<b>Variáveis/ Categoria</b>	<b>n (%)</b>	<b>HPV+ n (%)</b>	<b>Razão de prevalência</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
<b>Idade da Primeira Relação Sexual</b>					
≥ 18 anos	149 ( 74,5)	29 (19,4)	1,0		
≤ 17 anos	51 (25,5)	26 (50,9)	2,6	1,71 – 3,99	p<0,001
<b>Número de parceiros sexuais na vida</b>					
1 parceiro	50 (25,5)	14 (28,0)	1,0		
2 a 3 parceiros	115 (57,5)	32 (27,8)	0,99	0,58–1,69	
≥ 5 parceiros	35 (17,5)	9 (25,7)	0,91	0,44 – 1,88	p = 0,57
<b>Nº de parceiros nos últimos seis meses</b>					
Zero	17 (11,0)	3 (17,6)	1,0		
≥ 1	137 (89,0)	42 (30,6)	1,74	0,60 – 5,00	p = 0,20
<b>Método Anticoncepcional</b>					
Camisinha e outro método	79 (54,9)	22 (27,84)	1,0		
Anticoncepcional e injeção	55 (38,2)	13 (23,63)	0,85	0,47 – 1,54	
Nenhum	10 (6,9)	4 (40,0)	1,44	0,62 – 3,32	p = 0,105
<b>Usa camisinha</b>					
Sim	74 (48,1)	22 (29,7)	1,0		
Não	78 (51,9)	22 (28,2)	0,95	0,58 – 1,56	p = 0,836
<b>Por que não usa camisinha</b>					
Parceiro fixo	27 (43,6)	8 (29,62)	1,0		
Uso irregular	5 (8,1)	2 (40,0)	1,35	0,40 – 4,58	
Não gosta	19 (30,6)	7 (36,84)	1,24	0,54 – 2,84	
Não precisa utilizar	11 (17,7)	2 (18,2)	0,61	0,15 – 2,44	p = 0,927
<b>História Prévia de Infecção por DST</b>					
Não	130 (86,7)	34 (26,2)	1,0		
Sim	20 (13,3)	8 (40,0)	1,53	0,83 – 2,81	p = 0,199
<b>Conhecimento prévio sobre HPV</b>					
Sim	90 (58,4)	23 (25,6)	1,0		
Não	64 (41,6)	21 (32,8)	1,28	0,78 – 2,11	p = 0,326
<b>Conhecimento prévio sobre Citopatológico</b>					
Sim	142 (92,2)	39 (27,5)	1,0		
Não	12 (7,8)	6(50,0)	1,82	0,97 – 2,11	p = 0,339
<b>Já fez citopatológico</b>					
Sim	114 (74,1)	31 (27,2)	1,0		
Não	39 (25,9)	14 (35,9)	1,29	0,77 – 2,16	p = 0,326
<b>Exame Citopatológico</b>					
Sem coilocitose	179 (98,4)	52 (29,0)	1,0		
Com coilocitose	3 (1,6)	3 (100)	3,58	2,83 – 4,53	p <sup>b</sup> = 0,006
<b>HIV-1</b>					
Soronegativo	182 (91,0)	44 (24,17)	1,0		
Soropositivo	18 (9,0)	11 (61,1)	2,47	1,58 – 3,87	p = 0,001
<b>Gestantes</b>					
Não	160 (80)	36 (22,5)	1,0		
Sim	40 (20)	19 (47,5)	2,06	1,33 – 3,18	p = 0,002
<b>CD4</b>					
Maior ou igual a 350	16 (88,8)	10 (62,5)	1,0		
Menor ou igual a 349	2 (11,2)	1 (50,0)	0,53	0,10 – 2,76	p <sup>b</sup> = 0,375

<sup>a</sup> Teste Chi-quadrado de Pearson. <sup>b</sup> Teste Exato de Fisher.

**Tabela 3: Análise multivariada das características associadas à prevalência do HPV**

<b>Variáveis/ Categoria</b>	<b>Razão de prevalência</b>	<b>IC<sub>95%</sub></b>	<b>p<sup>a</sup></b>
<b>Idade da Primeira relação Sexual</b>			
≥ 18 anos	1,0		
≤ 17 anos	2,9	1,90 – 4,20	p = 0,001
<b>Gestação</b>			
Não	1,0		
Sim	2,13	1,40 – 3,25	p = 0,02
<b>HIV-1</b>			
Soronegativas	1,0		
Soropositivas	2,60	1,75 – 3,98	p = 0,01
<b>Exame Citopatológico</b>			
Sem coilocitose	1,0		
Com coilocitose	4,51	2,99 – 5,53	p <sup>b</sup> = 0,01

<sup>a</sup> Teste Chi-quadrado de Person. <sup>b</sup> Teste Exato de Fisher.

dois HPV-11 (3,8%), dois HPV-58 (3,8%), dois HPV-59 (3,8%), dois HPV-68 (3,8%), um HPV-33 (2,0%) um HPV-52 (2,0%) um HPV-70 (2,0%). Das 52 amostras genotipadas, 90,4% eram genótipos de alto risco oncogênico e 9,6% eram genótipos de baixo risco oncogênico. Em três amostras (5,5%) a determinação do tipo de HPV não foi possível devido a sobreposição dos picos das sequências.

Quando comparados os genótipos do HPV com os exames citopatológicos que foram coletados no mesmo dia, entre todas as pacientes infectadas pelo HPV-16, 14 (93,3%) apresentaram citopatológico sem coilocitose e uma (6,7%), citopatológico com coilocitose. Já para o HPV-18, 18 (94,7%) tiveram citopatológico sem coilocitose e uma (5,3%) apresentou o citopatológico com coilocitose. Em relação ao HPV-53, sete (87,5%) apresentaram citopatológico sem coilocitose e uma (12,5%), apresentaram citopatológico com coilocitose. As pacientes infectadas pelos outros genótipos não apresentaram coilocitose no exame citopatológico. Em nenhuma das 200 pacientes foram detectadas lesões intraepiteliais de baixo ou alto grau.

Foi encontrada uma relação significativa entre o status sorológico para o HIV-1 e a prevalência dos genótipos HPV-33 ( $P = 0,001$ ) e HPV-68 ( $P < 0,001$ ). Entretanto, não foi observada uma relação significativa entre o status sorológico para o

HIV-1 e os genótipos HPV-16 ( $P = 0,473$ ); HPV-18 ( $P = 0,742$ ); HPV-31 ( $P = 0,137$ ); HPV-52 ( $P = 0,752$ ); HPV-53 ( $P = 0,384$ ); HPV-58 ( $P = 0,654$ ); HPV-59 ( $P = 0,654$ ); HPV-70 ( $P = 0,752$ ). Também não foi encontrada uma relação entre os genótipos de baixo risco versus o genótipo de alto risco em mulheres infectadas com o HIV-1 ( $P = 0,939$ ).

## Discussão e Conclusão

A prevalência do HPV de 27,5% é similar aos 27% observados por Nonnenmacher et al. (2002)<sup>17</sup> em Porto Alegre (RS) e os 27,2% descritos por Chinchai et al. (2011)<sup>18</sup> na Tailândia.

Esse estudo encontrou quatro (HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33) dos cinco genótipos mais comuns detectados no mundo todo (HPV16/18/45/33/31).<sup>19</sup> Em estudos no Sul do Brasil, observou-se que o genótipo HPV-16 foi o mais prevalente, seguido do HPV-18.<sup>13,20,21</sup> No entanto, nesse trabalho foi constatada uma maior prevalência do HPV-18 (34,7%). Tanto o HPV-16 como o HPV-18 são genótipos oncogênicos que provocam lesão intraepitelial de alto grau (HSIL), carcinoma da cérvix e de pênis.<sup>3,4</sup>

Em três amostras (5,5%) a determinação do tipo de HPV não foi possível devido a sobreposição do pico das sequências, o que indica que estas pa-



cientes estão infectadas com múltiplos genótipos.<sup>22</sup> Utilizando o sequenciamento automático para genotipar o HPV, Riemma et. al. (2006)<sup>23</sup>, Silva et al. (2006)<sup>24</sup>, Oliveira et al (2013)<sup>20</sup>, Campos et al. (2005)<sup>21</sup> e Entiauspe et al (2014)<sup>22</sup> não identificaram o tipo de HPV em 44,6%, 28,6%, 14,6%, 11,1% e 8,0%, respectivamente. Entiauspe et al. (2010)<sup>13</sup> não determinaram o genótipo em 81,5% das amostras positivas para o HPV pela técnica de RFLP (**Restriction fragment length polymorphism**). Esses dados mostram como a genotipagem do HPV ainda não tem um padrão-ouro.

Na análise multivariada, apenas a renda não manteve associação significativa com infecção pelo HPV. Isso ressalta a relação entre o início sexual precoce (idade  $\leq 17$  anos), a gestação, a infecção pelo HIV-1, a coilocitose presente no exame citopatológico e o DNA do HPV. Esses dados estão de acordo com a literatura.<sup>1,3,20,22</sup>

Em relação ao exame citopatológico, 197 pacientes (98,5%) apresentaram resultado normal, sem coilocitose, e nenhuma das 200 mulheres que participaram do estudo tinham lesões intraepiteliais de baixo ou alto grau. O DNA do HPV foi detectado em 52 (26,3%) dessas mulheres que não apresentaram coilocitose e nem lesão intraepitelial de baixo ou alto grau. Como a alteração celular causada pelo HPV é um fenômeno progressivo, devido ao tempo de infecção, o HPV nessas mulheres possivelmente não foi capaz de causar alterações celulares detectáveis pelo método citopatológico convencional.<sup>13</sup> O resultado do exame citopatológico de três mulheres apresentou coilocitose e cada uma delas estavam infectadas com um genótipo de alto risco oncogênico (HPV-16, HPV-18, HPV-53). Esses dados ressaltam a importância da utilização das técnicas de Biologia Molecular para detectar os HPV de alto risco oncogênico antes mesmo de provocarem transformações celulares.

A vacina quadrivalente da Gardasil produzida pela Merck<sup>6</sup> protege contra os genótipos HPV-6 e HPV-11, de baixo potencial oncogênico, e os genótipos HPV-16 e HPV-18, de alto potencial oncogênico. No Brasil, desde março de 2014, a vacina está disponível no Sistema Único de Saúde para meninas entre 9 e 13 anos. A disponibilização dessa vacina abre a perspectiva de uma prevenção contra a infecção pelo HPV, representando um impor-

tante avanço na medicina contra o câncer e, principalmente, na proteção da saúde da mulher.<sup>6</sup> Os quatro genótipos que a vacina imuniza foram encontrados nesse estudo, sendo a vacina importante nessa população. No entanto, foram encontrados outros genótipos de baixo e alto risco oncogênico que não são assegurados pela vacina. Além disso, outros estudos encontraram que a imunidade cruzada não foi duradoura ou foi menor que a provocada pela vacina bivalente, que protege apenas contra os genótipos HPV-16 e HPV-18.<sup>25,26</sup>

Esse estudo apresentou algumas limitações. Por ser um estudo transversal, as associações encontradas não podem ser consideradas causais devido à possibilidade de causalidade reversa. Ainda podem ser citados os vieses de memória e informação, já que o questionário foi autoaplicado, as informações são baseadas em autorrelatos e isso pode interferir no resultado dos estudos transversais. No entanto, por apresentar como objetivo determinar a prevalência do HPV e dos seus genótipos, este estudo teve o seu propósito alcançado com a metodologia utilizada.

Concluindo, esse estudo teve a prevalência do *Papilomavírus Humano* (HPV) de 27,5%, semelhante à prevalência descrita para esta região. Os genótipos mais prevalentes foram os HPV de alto risco, sendo o HPV-18 o principal tipo viral encontrado.

### Implicações clínicas

A vacina quadrivalente contra o HPV tem importância na população estudada. No entanto, outros genótipos de baixo e alto risco oncogênico não assegurados pela vacina foram detectados, ressaltando a importância da continuidade dos programas de rastreamento e diagnóstico.

### Agradecimentos

Ao Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Universitário (HU-FURG) e a equipe do Laboratório de Biologia Molecular da FAMED/FURG por possibilitarem a realização deste trabalho.

### Financiamento

Este estudo foi financiado pelo Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PIBIC – CNPq), Processo número 120698/2009-9.

## Referências

- Moura MRP, Costa ACM. Prevalência de HPV em mulheres HIV positivas atendidas no centro de referência em DST/AIDS. *Rev Enferm UFPI*. 2014; 3:33-41.
- Dias ICC, Nascimento MDSB, Batista JE, Vidal FCB, Silva DF, Silva MACN et al. Câncer de colo do útero, genotipagem do Papiloma-Vírus Humano (HPV) em mulheres quilombas de um município brasileiro: aceitabilidade da vacina. *Cad Pesqui. (São Luis)*.2014; 21: 1-11.
- Bicca GLO, Silveira MF, Silva SM, Silva KRS, Barros FCLF. Prevalência de infecção Por HPV de alto risco em mulheres utilizando Captura Híbrida na Prevenção do câncer do colo do útero no sul do Brasil. *DST J Bras Doenças Sex Transm*.2013; 25:109-14.
- Bahmanyar ER, Paavonen J, Naud P, Salmerón J, Chow SN, Apter D., et al. Prevalence and risk factors for cervical HPV infection and abnormalities in young adult women at enrolment in the multinational PATRICIA trial. *Gynecol Oncol*. 2012; 123: 440-50.
- Vargas S, Gelati LC, Buffo A. Avaliação do perfil citopatológico de mulheres atendidas no Hospital Geral de Porto Alegre. *Revista Fasem Ciências*. 2013; 4(2): 24-33.
- Germano FN, Silva TMG, Mendonza-Sassi R, Martinez, AMB. Alta prevalência de usuários que não retornam ao Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) para o conhecimento do seu status sorológico - Rio Grande, RS, Brasil. *Ciênc, Saúde Coletiva*. 2008; 13:1033-40.
- Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, et al. Epi-Info version 6.04d; A word processing database, and statistics program for epidemiology on microcomputers. Center of disease control and prevention. Atlanta, Georgia, USA. 1996.
- Gontijo RC, Derchain SFM, Montemor EBL, Sarian LOZ, Serra MMP, Zeferino LC, et al. Citologia oncológica, captura de híbridos II e inspeção visual no rastreamento de lesões cervicais. *Cad Saúde Pública*. 2005; 21:141-9.
- Silva TT, Guimarães ML, Barbosa MIC, Pinheiro MFG, Maia AF. Identificação de tipos de papilomavírus e de outros fatores de risco para neoplasia intra-epitelial cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2006; 28: 285-91.
- Kanesima EN, Bidoia CCG, Gabriel M, Suzuki LE, Consolaro MEL. Aplicação do método PCR-RFLP para tipagem de HPV em infecções cervicais de pacientes atendidas no Lepac, Universidade Estadual de Maringá. *Acta sci*. 2001; 23: 731-7.
- Coelho A, Matos A, Catarino R, Pinto D, Pereira D, Lopes C, et al. Protective role of the polymorphism CCR2-64I in the progression from squamous intraepithelial lesions to invasive cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*.2005; 96: 760-4.
- Van den Brule AJC, Snijders PJF, Gordjin RLJ, Bleker OP, Meijer CJLM, Walboomers, JMM. General primer-mediated polymerase chain reaction permits the detection of sequenced and still unsequenced human papillomavirus genotypes in cervical scrapes and carcinomas. *Int J Cancer*. 1990; 45: 644-9.
- Entiauspe LG, Teixeira, LO, Mendonza-Sass RA, Gonçalves CV, Gonçalves P, Martinez AMD. Papilomavírus humano: prevalência e genótipos encontrados em mulheres HIV positivas e negativas, em um centro de referência no extremo Sul do Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010; 43:260-3.
- Lauritsan JM, Bruus M, Myatt MA. An extended tool for validated data entry and documentation of data. The EpiData Association, Odense Denmark 2002. (v2.1).
- StataCorp Stata Statistical Software: release 7.0. Stata Corporation, 2004.
- IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Nonnenmacher B, Breitenbach V, Villa LL, Prolla JC, Bozzetti MC. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. *Rev Saúde Pública*.2002; 36: 95-100.
- Chincai T, Chansaenroj J, Junyangdikul P, Swangvaree S, Karalak A, Niruthisard A, et al. Comparison between Direct Sequencing and INNO-LiPA Methods for HPV Detection and Genotyping in Thai Women. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011; 12: 989-94.
- Nicol AF, Nuovo, GJ, Dillneer J. A summary of the 25th International Papillomavirus Conference 2009: Vaccines, screening, epidemiology and therapeutics. *J Clin Virol*. 2010; 47: 208-15.
- Oliveira GR, Caldeira TDM, Barral MFM, Dôwich V, Soares MA, Conçalves CV et al. Fatores de risco e prevalência da infecção pelo HPV em pacientes de Unidades Básicas de Saúde e de um Hospital Universitário do Sul do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2013; 35:226-32.
- Campos RR, Melo VH, Castilho DM, Nogueira CPF. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2005; 27: 248-56.
- Entiauspe LG, Silveira M, Nunes EM, Basgalupp SP, Stauffert D, Dellagistini OA et al. High incidence of oncogenic HPV genotypes found in women from Southern Brazil [Internet]. *Braz. J. Microbiol.* ahead of print Epub Aug 05, 2014. [citado 2014 Ago 24]. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjmm/2014nahead/2013-289.pdf>>
- Riema RAR, Polettini J, Marques MEA, Stolf HO, Candeias JMG, Silva MG, et al. Detecção e genotipagem de papilomavírus humano em lesões de queratoacantoma solitário de pacientes imunocompetentes. *An Bras Dermatol*. 2006; 81:443-8.
- Silva TT, Guimarães ML, Barbosa MIC, Pinheiro MFG, Maia AF. Identificação de tipos de papilomavírus e de outros fatores de risco para neoplasia intra-epitelial cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2006; 28: 285-91.
- Markowitz LE, Hariri S, Lin C, Dunne EL, Steinau M, McQuillan G. Reduction in Human Papillomavirus (HPV) Prevalence Among Young Women Following HPV Vaccine Introduction in the United States, National Health and Nutrition Examination Surveys, 2003–2010 [Internet]. *J Infect Dis*. 2013 [Citado 24 Ago 2014]. Disponível em: <<http://jid.oxfordjournals.org/content/early/2013/06/18/infdis.jit192.full.pdf+html>>
- Kohli M, Laurence D, Haig J, Anonychuk A, Demarteau N. Modeling the impact of the difference in cross-protection data between a human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine and a human papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 vaccine in Canada [Internet]. *BMC Public Health*. 2012 [Citado 24 Ago 2014]. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2458-12-872.pdf>>.