

**UNIVERSIDADE SANTO AMARO**

**Mestrado em Ciências Da Saúde**

**Hannar Angélica De Melo Alverga**

**PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS  
HUMANO (HPV) EM MULHERES DA ZONA SUL DE SÃO PAULO**

SÃO  
PAULO  
2022

**Hannar Angélica de Melo Alverga**

**PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS  
HUMANO (HPV) EM MULHERES DA ZONA SUL DE SÃO PAULO**

Dissertação apresentada ao programa de mestrado em Ciências da Saúde da Universidade Santo Amaro, como pré-requisito para obtenção do título de mestre.

Orientador (a): Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali

São Paulo

2022

A482p Alverga, Hannar Angélica de Melo.

Prevalência e genotipagem do papilomavírus humano (HPV) em mulheres da Zona Sul de São Paulo / Hannar Angélica de Melo Alverga. — São Paulo, 2023.

46 p.: il., P&B.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) — Universidade Santo Amaro, 2023.

Orientador: Prof. Me. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali.  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Me. Dr.<sup>a</sup> Carolina Nunes França  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Me. Dr.<sup>a</sup> Marina Tiemi Shio.

1. HPV. 2. Técnicas de genotipagem. 3. Citologia. I. Nali, Luiz Henrique da Silva, orient. II. França, Carolina Nunes, coorient. III. Shio, Marina Tiemi, coorient. IV. Universidade Santo Amaro. V. Título.

Fernando Carvalho — CRB8/10122

## DEDICATÓRIA

À minha avó **Francisca** (*in memoriam*), que tanto cuidou de mim, que me apoiou em todas as decisões difíceis que tomei e que fez a viagem antes que eu pudesse concluir essa fase.

## AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pelo dom da vida e por permitir o aprendizado diário. Por ter me amparado em momentos tortuosos ao longo desse mestrado, sempre com sua mão consoladora e esperançosa. Gratidão por ter nos ajudado até aqui.

Ao meu orientador, **Luiz Henrique Nali**. Desde o início eu pude perceber que poderia contar com você. Obrigada por tanto, pelas conversas, pela compreensão de sempre, e principalmente pela ajuda, pelo “correr atrás” para que esse projeto fosse possível de caminhar. De verdade eu não sei como seria minha trajetória se eu não estivesse ao seu lado nessa empreitada. Eu sempre oro muito a Deus pra que ele abençoe você e sua família, você é uma pessoa necessária para a ciência brasileira e me inspira, como pesquisadora, professora e ser humano.

Agradeço, ainda, à professora e coordenadora de mestrado **Carolina Nunes França**, pelo apoio desde o início do programa. Que honra poder ter sua confiança, aprender com você, tê-la em minha banca. Suas aulas são das mais ricas que já assisti em toda minha vida. Obrigada por tudo, tudo mesmo!

Deixo um agradecimento especial à professora **Marina Tiemi Shio**, que tanto me socorreu no laboratório, que agarrou a causa desse projeto como se fosse dela e agregou os seus conhecimentos para enriquecer nosso trabalho. Gratidão!

Aproveito para agradecer os companheiros de laboratório, **Peterson, Graciela, Estella, Danilo, Laura, Juliana, Isabele, Bruna, Lucas, Kevin, Sara e Elaine**, pela companhia de sempre. Foi muito bom aprender com vocês.

Agradecimento especial para a minha parceira **Giovana Dichman**, com quem compartilho esse projeto e que foi essencial para que ele caminhasse. Eu não tenho palavras para dizer o quanto me sinto abençoada por você ter entrado nessa jornada comigo, muito obrigado seria pouco para expressar minha gratidão a você.

Alguns professores parceiros foram essenciais para o desenvolvimento de algumas etapas desse projeto, e nada mais justo que deixar registrada a profunda gratidão à professora **Priscila Paruci** e ao professor **Gabriel Monteiro**.

À professora **Ana Carolina Soares**, pela contribuição de banca e oferta em lapidar esses projetos. Agradeço também a **todos os professores do programa de mestrado em Ciências da Saúde da Unisa**, profissionais competentes e que jamais esquecerei.

Por fim, agradeço à minha mãe, **Maria Marlene**, que é tão sábia e paciente. Agradeço por todo o suporte, por ter entendido o quanto essa etapa é importante pra mim e por esperar pelo meu regresso sempre. Que bom saber que tenho você para contar.

## RESUMO

**Introdução:** O papilomavírus (PV) pertence a um grupo heterogêneo de vírus de DNA e sua relevância na saúde pública se dá pelo fato de o papilomavírus humano (HPV) ser um agente que predispõe à perda de estabilidade e integridade genômica, razão pela qual tem sido associado a vários tipos de câncer, entre eles o câncer de colo uterino. O presente estudo tem como objetivo geral avaliar a prevalência de HPVs em mulheres que realizam exame preventivo de câncer de colo de útero de rotina em um hospital universitário da zona sul de São Paulo. **Métodos** Trata-se de um estudo transversal, descritivo e de abordagem quantitativa. Os dados são coletados no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Escola Wladimir Arruda. As voluntárias são mulheres maiores de 18 anos atendidas no ambulatório de ginecologia do HEWA. Os dados sociodemográficos são coletados por meio de um questionário e em seguida a participante é encaminhada para coleta de amostras de raspado cérvico vaginal. As amostras são encaminhadas para o laboratório de pesquisa da UNISA onde são conduzidas as etapas experimentais de citopatologia oncótica e genotipagem por PCR em tempo real. **Resultados e discussão** Participaram do estudo 107 mulheres com média de idade de 42,97 anos. Dentre as características sócio demográficas coletadas, pode-se perceber que a maioria das participantes são casadas e de baixa renda, com destaque para mulheres casadas com idade entre 31 e 59 anos, que correspondem a 28,97% da amostra total, além da taxa de mulheres de renda de até um salário mínimo que é alta entre as participantes de idade entre 18 a 39 anos, que correspondem a 37,5% do total. Quanto à relação entre a detecção de HPV de alto risco de acordo com a idade, este foi identificado em 2 mulheres de idade entre 18 a 30 anos, e em 2 mulheres da faixa de 31 a 59 anos. Não houve detecção de HPV de alto risco em mulheres idosas. Os resultados das leituras de citopatologia revelaram lesões intraepiteliais de alto grau, a HSIL, em uma mulher de idade jovem e em uma mulher de meia idade. Lesões intraepiteliais de baixo grau foram identificadas em uma mulher idosa. E em duas mulheres com idade entre 18 e 30 anos. **Conclusão** O estudo demonstrou baixa prevalência de HPV's de alto risco em uma amostra de mulheres residentes na zona sul de São Paulo. Além disso, demonstrou baixa incidência de neoplasia cervical, porém confirmou que existe alta associação entre a infecção por HPV de alto risco e o câncer cervical. Dados como esse podem ser muito útil para a qualificação de programas de controle e rastreamento do câncer de colo de útero em um município de características populacionais tão heterogêneas como São Paulo.

**Palavras chave:** HPV; genotipagem; citologia oncótica;

## ABSTRACT

**Introduction** The papillomavirus (PV) belongs to a heterogeneous group of DNA viruses and its relevance in public health is due to the fact that the Human Papillomavirus (HPV) is an agent that predisposes to the loss of stability and genomic integrity, which is why it has been associated to various types of cancer, including cervical cancer. The present study aims to evaluate the prevalence of HPV's in women who undergo routine cervical cancer screening at an university hospital in the south of São Paulo. **Methods** This is a cross-sectional, descriptive study with a quantitative approach. Data are collected at the Gynecology and Obstetrics outpatient clinic of Hospital Escola Wladimir Arruda. The volunteers are women over 18 years of age treated at the HEWA gynecology outpatient clinic. Sociodemographic data are collected through a questionnaire and then the participant is referred for collection of samples of cervical vaginal scrapings. The samples are sent to the UNISA research laboratory where the experimental steps of oncotoc cytopathology and real-time PCR genotyping are carried out. **Results** A total of 107 women have attended to the study, the mean age of 42.97 years. Among the socio-demographic characteristics collected, it can be seen that most of the participants are married and low- income, especially married women aged between 31 and 59 years, which correspond to 28.97% of the total sample, in addition to the rate of women earning up to one minimum wage, which is high among participants aged between 18 and 39, who correspond to 37.5% of the total. Regarding the relationship between the detection of high-risk HPV according to age, it was identified in 2 women aged between 18 and 30 years, and in 2 women aged between 31 and 59 years. There was no detection of high-risk HPV in elderly women. Results of cytopathology readings revealed high-grade of HSIL in a young-aged woman and in a middle-aged woman. Low-grade intraepithelial lesions were identified in an elderly woman. And in two women aged between 18 and 30 years. **Conclusion** The study demonstrated a low prevalence of high-risk HPVs in a sample of women living in the south of São Paulo. In addition, it demonstrated a low incidence of cervical neoplasia, but confirmed that there is a high association between high-risk HPV infection and cervical cancer. Data like this can be very useful for the qualification of cervical cancer control and screening programs in a city with such heterogeneous population characteristics as São Paulo.

**Keywords:** HPV; genotyping; oncotoc cytology

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Relação de primers, sondas e concentração utilizados nos ensaios de PCR.....	28
<b>Tabela 2:</b> Relação de variáveis demográficas, de hábitos, comportamento sexual, detecção de HPV de alto risco e achados citopatológicos de acordo com a idade das participantes.....	32
<b>Tabela 3:</b> Proporção de antecedentes clínicos relatados pelas participantes do estudo.....	33
<b>Tabela 4:</b> Valores referentes a quantificação realizada em Nanodrop das amostras do estudo.	33
<b>Tabela 5:</b> Proporção de positividade para HPV de alto risco entre o total de participantes.....	34
<b>Tabela 6:</b> Proporção de resultados de análise citopatológica entre o total de participantes.....	35
<b>Tabela 7:</b> Relação entre os achados citopatológicos com os achados positividade ou negatividade para HPV de alto risco.....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>PV:</b>	Papilomavírus
<b>HPV:</b>	Papilomavírus Humano
<b>INCA:</b>	Instituto Nacional do Câncer
<b>PNAISM:</b>	Política Nacional de Atenção Integral a Saúde da Mulher
<b>MS:</b>	Ministério da Saúde
<b>ISTs:</b>	Infecções Sexualmente Transmissíveis
<b>ORF:</b>	<i>Open Reading Frames</i>
<b>LCR:</b>	<i>Long Control Region</i>
<b>IARC:</b>	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
<b>ZTE:</b>	Zona de Transformação dos Epitélios
<b>JEC:</b>	Junção Escamo-Colunar
<b>HEWA:</b>	Hospital Escola Wladimir Arruda
<b>CEP:</b>	Comitê de Ética e Pesquisa
<b>TCLE:</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>AMA:</b>	Assistência Médica Ambulatorial
<b>UBS:</b>	Unidade Básicas de Saúde
<b>OMS:</b>	Organização Mundial de Saúde

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Curvas de fluorescência de 1 amostra positiva e 4 controles positivos para HPV 18  
(A) e curvas de fluorescência de 3 amostras positivas e 2 controles positivos para HPV16  
(B).....34

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>
2.1 Aspectos históricos sobre o HPV e o câncer cervical.....	16
2.2 Aspectos biológicos do HPV.....	17
2.3 Classificações dos tipos de HPV.....	18
2.4 Aspectos clínicos associados ao HPV e Câncer do Colo do Útero .....	19
2.5 A vacinação para o HPV .....	21
2.6 Aspectos demográficos da zona sul da cidade de São Paulo .....	23
<b>3. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>24</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>25</b>
4.1 Objetivo Geral.....	25
4.2 Objetivos específicos .....	25
<b>5. METODOS.....</b>	<b>26</b>
5.1 Tipo de Estudo.....	26
5.2 Local do estudo.....	26
5.3 Voluntárias e aspectos éticos.....	26
5.4 Desenho do estudo e logística laboratorial.....	26
1.1 Citopatologia oncótica .....	27
1.2 Genotipagem por PCR em tempo real.....	27
1.3 Análises estatísticas .....	28
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>

<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>40</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>44</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O papilomavírus (PV) pertence a um grupo heterogêneo de vírus de DNA e sua relevância na medicina se dá pelo fato de o papilomavírus humano (HPV) ser um agente que predispõe à perda de estabilidade e integridade genômica, razão pela qual tem sido associado a vários tipos de câncer, entre eles o câncer de colo uterino<sup>(1)</sup>.

Entre as doenças sexualmente transmissíveis, o HPV é o vírus de maior prevalência no mundo e é, ainda, um importante desafio de saúde pública<sup>(2)</sup>. Sua associação com o câncer cervical se dá em razão de o mesmo ser amplamente detectado em casos de câncer cervical e infecções, sendo os tipos HPV-16 e HPV-18 os que têm maior potencial carcinogênico, ligados a mais de 70% de todos os casos desse tipo de câncer. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) registrou, em 2020, 66.280 novos casos em todo o Brasil<sup>(2;3)</sup>.

Apesar de a relação entre os diferentes tipos de HPV e o desenvolvimento do câncer cervical estar bem estabelecida e os tipos 16 e 18 de HPV estarem bem consolidados quanto ao risco carcinogênico, estudos<sup>(4)</sup> sugerem que variações genéticas entre um mesmo tipo viral podem influenciar no potencial de infecção, na persistência viral, no desenvolvimento de lesões precursoras e na progressão para o câncer invasivo. Em razão de a prevalência do HPV-16 em casos de câncer do colo do útero ser bem elevada, a associação entre o HPV-16 e o câncer vem sendo estudada ao nível de variantes intratipo, e várias linhas de estudo têm atribuído um maior risco de câncer cervical invasivo a algumas linhagens do HPV-16<sup>(5)</sup>. Este aspecto, entre as diferentes variantes, pode contribuir para as disparidades na incidência do câncer cervical. Logo, pode-se dizer que o estudo dos tipos específicos de HPV tem se tornado fundamental para uma real compreensão dos riscos inerentes do desenvolvimento do câncer cervical<sup>(4;5)</sup>.

No Brasil, estudos realizados mostram uma prevalência de infecção por HPV de diversos tipos entre 13% a 54% na população em geral e entre 10% a 24.5% em mulheres com citologia normal<sup>(6)</sup>. Em pacientes com câncer do colo do útero, o DNA do HPV tem sido detectado em até 99% dos casos, dependendo do tipo de amostra biológica e do método utilizado para a detecção viral<sup>(7)</sup>. Ainda, em outros sítios os estudos indicam alta prevalência do HPV, com 75% dos casos de câncer vaginal, 69% de câncer vulvar, 91% de câncer anal e 63% de casos de câncer de

pênis<sup>(7;8;9)</sup>.

O rastreio em território nacional do HPV em região cervical é protocolado pela Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da Mulher (PNAISM) e a saúde pública conta com o caderno de atenção básica 13, que padroniza o controle dos cânceres de colo útero e da mama. A principal estratégia utilizada pelo Sistema Único de Saúde (SUS) para detecção precoce/rastreamento do câncer do colo do útero é a realização da coleta de material para exames citopatológicos cervico-vaginal e microflora, conhecido popularmente como exame preventivo do colo do útero ou exame de Papanicolau, sendo conhecido ainda como citologia oncológica<sup>(10)</sup>.

Apesar de ainda não serem procedimentos padrões no rastreio de câncer cervical, os testes moleculares de detecção de DNA-HPV oncogênico estão sendo estudados como método de rastreamento, e próprio Ministério da Saúde (MS) reconhece a comprovação da maior sensibilidade do que o exame citopatológico, embora a especificidade seja menor, levando mais mulheres para a realização de colposcopia para associação e confirmação diagnóstica. Entretanto, algumas evidências pontuam que essa limitação pode ser contornada priorizando um público de mulheres com 35 anos ou mais e associando com o rastreio de lesões pelo exame citopatológico. Alguns países da Europa, a exemplo do Reino Unido, Itália, Suécia e Holanda estão em fase de implementação de novas estratégias de rastreio, baseando-se no uso do teste molecular como forma de rastreio primário<sup>(6;8;10;11)</sup>.

Atualmente, a faixa etária aconselhada pelo Ministério da Saúde para a realização do exame preventivo de câncer de colo de útero é de 25 a 64 anos e para mulheres que já iniciaram a atividade sexual. Essa faixa etária foi definida pelo MS baseada em evidências sólidas de que o câncer cervical tem progressão lenta e lesões precursoras que se identificadas podem contribuir para a eficácia do tratamento. Até o ano de 2011 o limite da faixa etária era 60 anos, mas foi ampliado em razão do comportamento demográfico com tendência de maior atividade sexual em pessoas de terceira idade<sup>(12)</sup>.

O Presente estudo está sendo desenvolvido com mulheres atendidas em um hospital universitário da zona sul da cidade de São Paulo. De acordo com dados do último censo realizado pelo IBGE (2010), o município de São Paulo possui 12 milhões de habitantes, e está dividido a nível organizacional em 32 subprefeituras, e 25

supervisões técnicas em saúde. O hospital universitário onde esta pesquisa está sendo desenvolvida atende a população da subprefeitura da Capela do Socorro, na zona sul da cidade de São Paulo. De acordo com dados da secretária de saúde da cidade, a região sul tem um perfil bastante heterogêneo, uma vez que concentra bairros de características nobres, com população de alto poder aquisitivo e conseqüentemente maior instrução e cuidados com a saúde, mesclados com regiões de extrema pobreza, localizadas principalmente no extremo sul da zona sul, nas regiões de Interlagos, Parelheiros e do Grajaú. Essa população possui uma carência de acesso a métodos de rastreio e diagnóstico não somente do câncer cervical como de outras doenças, o que justifica também a realização desse estudo com a possibilidade de achados importantes e subnotificados.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos históricos sobre o HPV e o câncer cervical

Inicialmente observadas na antiguidade por médicos gregos e romanos, as verrugas na pele e na região genital foram nomeadas de condiloma acuminado (do grego *kondilus* = cômulo; do latim *acuminare* = pontudo). Entretanto, estas não possuíam uma causa clara e o conhecimento acerca dos papilomavírus era muito limitado. Apenas no final do século XIX foi documentada a natureza infecciosa das verrugas. Joseph F. Payne, em Londres, publicou um artigo nomeado “*On the contagiousness of common warts*”, em 1891, onde descreve o desenvolvimento, por auto inoculação, de verrugas em seu próprio polegar, depois de ter raspado a superfície de uma lesão verrucosa de uma criança. Poucos anos depois, em 1894, os cientistas C. Licht e Gaston Variot também demonstraram o caráter infeccioso dessas lesões, provocando o aparecimento de verrugas em voluntários inoculados experimentalmente com macerados de tecido verrucoso<sup>(13;14)</sup>.

No início do século XX, o pesquisador G. Ciuffo foi pioneiro em estudos partindo da suspeita que as verrugas eram causadas por vírus. Em seu experimento, usou um filtrado, que havia sido passado em poros incapazes de reter partículas com dimensões compatíveis com as dos vírus, para auto inocular-se e produziu verrugas na mão<sup>(13)</sup>.

Em 1933, Richard E. Shope fez experimentos utilizando filtrado livre de células de verrugas de coelhos selvagens e inoculou-os em coelhos domésticos saudáveis, o que levou ao desenvolvimento das verrugas. Anos depois, a ascensão da microscopia eletrônica e do cultivo de células possibilitou um grande avanço na virologia permitindo a visualização e identificação do Papilomavírus como agente etiológico das verrugas<sup>(14)</sup>.

As primeiras postulações sobre o possível papel do HPV na ocorrência de carcinoma cervical dataram entre 1974 e 1976, com destaque para a contribuição dos cientistas Meisels e Fortin, que publicaram artigos reportando que o aparecimento de colócitos em esfregaços de células cervicais poderiam indicar a presença de infecção pelo HPV. Também foi possível demonstrar a heterogeneidade entre a família *Papillomaviridae*, e o subsequente isolamento de tipos específicos de HPV a partir de verrugas genitais e papilomas de laringe<sup>(13)</sup>.

Também em 1976, Harald Zur Hausen publicou a hipótese de que o HPV estaria

associado ao câncer cervical. Hausen também foi o responsável por identificar dois tipos de HPV de biópsias de câncer cervical - sendo eles o HPV 16 e 18 - e iniciando a rápida expansão nesta área, levando ao desenvolvimento de novos experimentos com o objetivo de explicar o papel do HPV na carcinogênese cervical (ZUR HAUSEN *et al.*, 2002). A expressão de genes virais específicos (como E6 e E7) foram observados em linhagens celulares de câncer cervical, acreditando-se que estariam envolvidos na integração do genoma viral e a imortalização do vírus na célula<sup>(14)</sup>.

Nos posteriores 14 anos resultou-se no melhor entendimento sobre a função dos oncogenes virais e o conhecimento sobre a história natural da infecção pelo HPV. Harald Zur Hausen foi o principal pesquisador no ramo do HPV, desenvolvendo os principais estudos sobre o vírus na progressão do câncer cervical e, por isso, recebeu o Prêmio Nobel de Medicina em 2008<sup>(13;14)</sup>.

## 2.2 Aspectos biológicos do HPV

O HPV envolve um grupo heterogêneo de vírus não envelopado, com dupla fita de DNA circular e 8000 pares de bases nucleotídicas. Esses vírus possuem diâmetro de 55 nm e capsídeo icosaédrico formado por 72 capsômeros composto por duas proteínas estruturais, as proteínas L1 e L2<sup>(15; 16; 17)</sup>.

O genoma do HPV é formado por duas regiões principais, sendo a primeira delas uma região aberta de leitura, a chamada “*Open Reading Frames*” (ORF), onde estão localizados os genes codificantes de proteínas, atuando em funções como ativação de transcrição, transformação, replicação e formação de proteínas estruturais. A segunda região é a longa controladora, ou *Long Control Region* (LCR), que contém sequências que controlam a transcrição e replicação viral<sup>(14; 17; 18)</sup>.

As ORFs apresentam duas regiões, sendo elas: região E (E = *Early*, precoce) onde estão localizados genes que são expressos na fase inicial do ciclo de vida do vírus, denominadas: E1, E2, E4, E5, E6 e E7 e a região L (L= *Late*, tardio) que são expressas na fase tardia de infecção, denominadas: L1 e L2<sup>(19; 20)</sup>.

A região controladora LCR possui regiões promotoras, sítios de ligação de fatores de transcrição e a região de origem de replicação do vírus<sup>(11;19;20)</sup>.

Dentre os genes expressos primeiramente no ciclo de vida do HPV estão: E1 e E2 que são responsáveis por se ligar e recrutar proteínas para sítios de início de replicação e regular a expressão de outros genes <sup>(11; 14)</sup>. A função dos genes E4 e E5 não está

completamente estabelecida, mas acredita-se que eles atuem na modulação e amplificação do DNA do HPV e a expressão de genes estruturais, bem como a saída do vírus da superfície do epitélio <sup>(21; 22)</sup>.

Durante a infecção, os genes E6 e E7 possuem papel importante na proliferação celular por atuar nos fatores de regulação do ciclo celular. Em HPVs de alto risco, o gene E6 pode induzir a degradação da proteína supressora de tumor p53 e o gene E7 pode se ligar e inativar a proteína supressora retinoblastoma (pRB) e outras proteínas envolvidas na regulação do ciclo celular <sup>(21)</sup>.

Por isso, E6 e E7 são genes fundamentais para a formação de tumores associados ao vírus HPV. Em tipos considerados de baixo risco, E6 e E7 participam da formação de tumores benignos, mas apresentam baixo potencial de malignização <sup>(17;18;20)</sup>.

Em HPVs de alto risco as proteínas E6 e E7 possuem maior afinidade por fatores reguladores do ciclo celular do que em HPVs de baixo risco e, por isso, causam o comprometimento dos mecanismos de regulação e sobrevivência da célula <sup>(18)</sup>.

Os genes expressos tardiamente no ciclo celular são L1 e L2, responsáveis pela incorporação do DNA viral e por codificar proteínas do capsídeo viral. O gene L1 codifica a maioria das proteínas do capsídeo, participando da montagem dos vírions. Proteínas produzidas por L2 atuam no transporte de proteínas L1 para o núcleo e no encapsulamento do DNA viral <sup>(17;21)</sup>.

### **2.3 Classificações dos tipos de HPV**

Os Papilomavírus humanos são divididos em cinco gêneros e classificados de acordo com diferenças na sequência de DNA, a partir de sequências do gene L1, devendo apresentar pelo menos 10% de diferenças de outros tipos <sup>(19)</sup>.

Os tipos de HPV que infectam humanos são classificados em Alfa, Beta, Gama, Nu e Mu, sendo os gêneros Alfa, Beta e Gama os grupos mais representativos. No gênero alfa estão vírus que infectam a mucosa epitelial oral e genital; os vírus pertencentes ao gênero beta infectam principalmente a pele, levando desde o desenvolvimento de verrugas benignas até o câncer de células escamosas <sup>(18;22)</sup>.

Apesar de os tipos de HPV estarem divididos em diferentes gêneros, a *International Agency for Research on Cancer (IARC)* também classificou o HPV de

acordo com seu potencial de desenvolver o câncer, podendo ser de baixo risco, alto risco ou de risco indeterminado. Destaque entre os tipos de baixo risco são o HPV 6 e 11, associados ao desenvolvimento de verrugas nas mãos e outras lesões papilomatosas (19;20;21).

Dentre os tipos de alto risco oncogênico estão aqueles intimamente relacionados ao desenvolvimento do câncer e lesões precursoras, como os tipos HPV 16 e 18 (22;23). Os tipos de risco indeterminado são aqueles que não apresentam dados suficientes para uma classificação definitiva, como o HPV 26, 53, 54, 55, 61, 62, 66 E 73 (23).

Além da classificação em família, gênero e espécie, os Papilomavírus são classificados em tipos e variantes (22). Um tipo de HPV difere de outro quando apresenta, pelo menos, 10% de divergência na sequência do gene L1. As variantes de tipos de HPV diferem em menos de 2% na sequência de nucleotídeos de L1, e em até 5% entre a região LCR (23).

#### **2.4 Aspectos clínicos associados ao HPV e Câncer do Colo do Útero**

A infecção por HPV, entre as doenças sexualmente transmissíveis, é a mais comum em todo o mundo, apresentando tropismo para células epiteliais - células da pele e da mucosa genital e oral – sua transmissão ocorre através do contato direto com micro lesões presentes na pele ou em mucosas. Outras formas incluem a transmissão vertical, da mãe para o bebê no momento do parto, podendo levar ao desenvolvimento de lesões anogenitais e a papilomatose respiratória, bem como a auto inoculação (14; 17).

Na maioria da população, a infecção pelo vírus HPV se apresenta de forma transitória, sendo eliminada pelo sistema imune sem que haja o desenvolvimento de manifestações clínicas. Entretanto, em infecções persistentes, o vírus pode levar a alterações celulares que podem progredir para lesões malignas (19).

São sólidos os estudos na literatura que mostram que a infecção pelo HPV é causa necessária, mas não suficiente para o estabelecimento do câncer do colo do útero, sendo necessária ainda a associação de outros cofatores para o desenvolvimento e progressão para o câncer. Dentre os principais cofatores estão os associados ao comportamento sexual e hábitos de vida, como o início sexual precoce, multiplicidade de parceiros sexuais, multiparidade, uso prolongado de anticoncepcionais, tabagismo e histórico de infecções sexualmente transmissíveis. Os fatores associados ao HPV incluem: infecção única ou múltipla, subtipos encontrados e carga viral no epitélio infectado (21;24).

A ocorrência do câncer do colo do útero é caracterizada por um desenvolvimento lento, que pode estar associado ao aparecimento de sintomas na fase inicial, como sangramento vaginal intermitente ou após a relação sexual, corrimento vaginal de cor escura e mal cheiro <sup>(22)</sup>.

Ao atingir estágios avançados, a patologia apresenta massa palpável no colo do útero, obstrução de vias urinárias e de intestino, dores lombares e abdominais, perda de apetite e perda de peso. É uma doença que evolui a partir de uma lesão pré- maligna não invasiva podendo adquirir potencial invasor em um período de 5 a 6 anos <sup>(17;24)</sup>.

Realizando uma retomada anatômica, o colo do útero apresenta formato cilíndrico e é formado por três regiões distintas, sendo elas: a endocérvice, ectocérvice e zona de transformação dos epitélios (ZTE). A endocérvice compreende a parte interna e é coberta por uma camada única de células cilíndricas produtoras de muco. A ectocérvice compreende a parte externa, mantém contato com a vagina e é revestida por camadas de células epiteliais escamosas estratificadas. Entre estes dois epitélios encontra-se a junção escamo-colunar (JEC), podendo variar em tamanho e formato, dependendo da idade da mulher, paridade e estado hormonal <sup>(18;25)</sup>.

A região JEC possui margens bem definidas pela diferença de altura entre os epitélios colunar e escamoso. Uma consideração importante, até mesmo para coleta de material, é que na infância e no período pós-menopausa, geralmente, a JEC situa-se dentro do canal cervical. Já no período reprodutivo da mulher, geralmente ela se situa na ectocérvice <sup>(24)</sup>.

Ao longo da vida da mulher, devido a processos fisiológicos normais e acidez vaginal, as células do epitélio colunar são repetidamente destruídas. A substituição fisiológica do epitélio colunar por um epitélio escamoso recém-formado é denominada de metaplasia escamosa. Assim, células subcilíndricas de reserva se transformam em células mais adaptadas, dando origem a um novo epitélio, que fica situado entre os dois epitélios originais, chamado então de zona de transformação <sup>(23;25)</sup>.

As células basais da zona de transformação possuem grande habilidade de diferenciação, permitindo a elevada taxa de produção de partículas virais durante a infecção pelo HPV. A maioria das mulheres com câncer cervical invasivo apresenta lesão visível ao exame citológico e essas lesões formam-se geralmente na região da zona de transição escamo-colunar <sup>(19;22;25)</sup>.

Os tumores cervicais são originados de células do epitélio da zona de

transformação, podendo apresentar características de célula escamosa, glandular ou padrão misto. Em vista disso, os principais tipos de câncer do colo do útero são os carcinomas de células escamosas e os adenocarcinomas <sup>(25)</sup>.

O câncer do colo do útero apresenta uma variedade de tipos histológicos, sendo o carcinoma de células escamosas responsáveis por até 95% dos casos, seguido pelo adenocarcinoma e o carcinoma adenoescamoso <sup>(19)</sup>.

O carcinoma adenoescamoso exibe diferenciação glandular e escamosa e possui prognóstico pior em relação ao carcinoma de célula escamosa e adenocarcinomas <sup>(25)</sup>. A presença de adenocarcinomas está associado a maiores chances de falso negativos no exame de citologia oncológica quando comparado com carcinoma de célula escamosa <sup>(24)</sup>. Além disso, pesquisas relacionadas apontam que as infecções por HPV 18 são mais associadas ao adenocarcinoma do que as infecções por HPV 16 <sup>(23)</sup>. Justifica este fato devido a diferenças no potencial oncogênico entre os tipos de HPV <sup>(25)</sup>.

## **2.5 A vacinação para o HPV**

Representando um grande avanço para a prevenção do cancer de colo uterino para uma geração de mulheres, a primeira vacina contra o HPV foi registrada em 2006. Em 2009, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou nos Estados Unidos a vacina quadrivalente para prevenção de verrugas genitais em meninos e homens, de 9 a 26 anos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) acrescentou a vacina ao seu calendário vacinal em 2014, inicialmente somente para meninas, mas em 2011 ampliou a indicação para homens <sup>(26)</sup>.

Entre as vacinas regulamentadas para uso da população no Brasil, pode-se citar a vacina bivalente Cervarix®, produzida pela Glaxo Smith Kline (Rixensart, Bélgica) que atua contra os tipos virais 16 e 18, e é indicada para mulheres de 10 a 19 anos; e a vacina tetravalente ou quadrivalente Gardasil® (guardian of squamous intraepithelial lesion) da Merck Sharp & Dohme (New Jersey, Estados Unidos), desenvolvida para prevenir infecções pelos tipos virais não somente de alto risco, mas também os mais comuns, responsáveis pelas verrugas genitais (HPV 6 e 11), além dos responsáveis mais frequentemente pelo câncer do colo do útero (HPV 16 e 18). Ambas devem ser administradas em três doses por via intramuscular <sup>(27;28)</sup>.

Relativo a sua composição, as vacinas contra o HPV têm a proteína capsídeo L1 do HPV que se auto-reproduz em partículas virus-like (VLP), e quando expressa em sistemas recombinantes induzem forte resposta humoral com anticorpos neutralizadores.

As partículas VLP são idênticas em forma e tamanho ao vírus e adsorvida no adjuvante sulfato de hidroxifosfato. Cada 0,5 ml da vacina contém 20 µg da proteína HPV6L1, 40 µg da proteína HPV11L1, 20 µg da proteína HPV18L1 e 20 µg HPV16L1, entre outros adjuvantes como sódio, cloreto de L-histidina, polisorbato 80, borato de sódio e água para injeção. O produto não contém conservantes ou antibióticos, e as embalagens são livres de látex <sup>(27;28)</sup>.

O gene que codifica a proteína L1 de cada tipo é expresso na levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A injeção intramuscular da VLP resulta em resposta imune adaptativa eficaz para células T e B, que são capazes de neutralizar as infecções naturais subsequentes. As VLP não são infecciosas e nem oncogênicas, uma vez que não possuem DNA, o que as torna inócuas <sup>(26)</sup>. A presença das VLP estimula a produção de anticorpos neutralizantes específicos contra as proteínas do capsídeo viral (L1) que serão liberados através da mucosa genital, visando prevenir a infecção primária ou persistente, impedindo a instalação do processo infeccioso <sup>(26;27;28)</sup>.

A eficácia das vacinas elaboradas com as proteínas E6 e E7 também vêm sendo pesquisadas em modelos animais. A vacina HPV16 L1 VLP mostrou alto índice de proteção contra a infecção persistente pelo HPV 16 e inibiu o aparecimento das NIC 2 e 3 durante um período de 3,5 anos após a imunização, a bivalente demonstrou eficácia entre 4 e 5 anos <sup>(29)</sup>. Atualmente a literatura sustenta que a vacina oferece imunidade duradoura, mesmo para quem já iniciou a vida sexual, protegendo as mulheres de uma nova contaminação <sup>(30)</sup>. Porém, para saber a duração da imunidade conferida de um modo mais consistente, ainda é necessário um maior tempo de acompanhamento da população vacinada para o conhecimento da persistência da proteção <sup>(31)</sup>.

Quanto ao esquema básico, tanto as vacinas bivalente e tetravalente consistem em três doses. Cada dose contém 0,5 mL e é administrada via intramuscular, sendo que os músculos deltóide e vasto lateral são os mais indicados por terem obtido melhores resultados quando avaliados. A segunda dose deve ser administrada entre 1 a 2 meses após a primeira, e a terceira dose, de 3 a 6 meses após a segunda dose. Desta maneira a vacina deve alcançar os vasos linfáticos locais, ocorrendo produção de anticorpos neutralizantes em grande quantidade. Nos casos de interrupção da vacinação, indica-se que o programa não deve ser reiniciado, continuando com as vacinas restantes e respeitando os intervalos mínimos de 1 mês e 3 meses, entre a primeira e segunda e entre a segunda e terceira, respectivamente <sup>(31)</sup>.

Relativo às suas contra indicações, há contraindicação para indivíduos com antecedentes e hipersensibilidade ao levedo, uma vez que se comprovou risco mínimo de anafilaxia em pessoas com história de reação alérgica a *Saccharomyces cerevisiae* ou a qualquer outro componente do produto. Somado a isso, foi relatada síncope após vacinação, principalmente entre adolescentes e adultos jovens, sendo recomendada a observação durante 15 minutos após aplicação <sup>(29;31)</sup>.

## **2.6 Aspectos demográficos da zona sul da cidade de São Paulo**

Dados do ultimo censo demográfico do IBGE <sup>(32)</sup> apontaram que a cidade de São Paulo possui uma população de cerca de 11 milhões de habitantes, sendo a capital mais populosa do Brasil. Sendo popularmente e administrativamente dividida em regiões, a região sul da capital caracteriza-se por ser a região mais populosa, sendo que somente nos bairros do extremo sul da zona sul habitam cerca de 2.5 milhões de pessoas, correspondendo a uma taxa de 22,1% da população da capital <sup>(32)</sup>.

Por ser a região mais populosa, conseqüentemente a população da zona sul corresponde a uma maior porcentagem também de população economicamente ativa (23,6%), no entanto, curiosamente a região também apresenta uma má distribuição de oferta de emprego, principalmente o extremo sul da zona sul (zona sul 2), possuindo uma taxa de oferta de 5%, quando comparada a outras regiões que concentram maior distribuição de ofertas de empregos formais, como na zona sul 1, zona oeste e centro, com 25,4%, 21% e 17,8%, respectivamente, de todas as ofertas de emprego do município. A consequência dessa baixa oferta de emprego na própria região é um grande grande fluxo de deslocamento de pessoas para realização de atividades comerciais em outras regiões da cidade <sup>(33)</sup>.

Quanto à renda, alguns dos bairros do extremo sul e sudoeste do município possuem renda per capita de R\$1.500,00, a exemplo dos bairros Capão Redondo, Campo Limpo e Grajaú. No entanto, bairros como Parelheiros, Marsilac, Jardim Mitsutani e Jardim Ângela apresentam renda per capita inferior a 500 reais, caracterizando regiões de alta carência. Relativo aos estabelecimentos de saúde, a região conta com 25 unidades de Assistência Médica Ambulatorial (AMA) e 90 Unidades Básicas de Saúde (UBS) <sup>(33)</sup>.

### **3. JUSTIFICATIVA**

Por ter uma característica de baixa renda, baixa escolaridade e carência de acesso a métodos de rastreio e diagnóstico, a investigação da prevalência de HPV na população feminina da zona sul de São Paulo torna-se relevante à medida que pode revelar achados importantes e subnotificados.

Uma vez que a infecção pelo HPV representa um problema considerável para a saúde pública e seu desfecho pode ser o câncer cervical, a realização do seu rastreio pode contribuir para a diminuição da incidência do câncer de colo de útero, ou mesmo sua detecção precoce, além de que essa abordagem está dentro das metas previstas para uma boa qualidade de assistência à saúde da mulher pela OMS.

Além disso, o rastreio da infecção pelo HPV por biologia molecular - de modo a detectar não somente a presença mas também o tipo de HPV incidente - representa um aliado importante aos achados citopatológicos, uma vez que podem antecipar os achados da citologia ou mesmo auxiliar no diagnóstico.

Por fim, os resultados obtidos nesse estudo poderão servir de base para as autoridades governamentais de saúde para averiguar e estabelecer estratégias de prevenção e promoção direcionadas a população afetada.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Avaliar a prevalência de HPVs de alto risco em mulheres que realizam exame preventivo de câncer de colo de útero de rotina em um hospital universitário da zona sul de São Paulo.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Descrever o perfil sociodemográfico da população estudada correlacionando com a idade;
- Comparar o perfil e prevalência de infecção de HPV de acordo com a idade;
- Determinar a frequência dos HPV's de alto risco (tipos 16 e 18) encontrados;
- Correlacionar os ensaios laboratoriais de citopatologia e de biologia molecular;

## **5. METODOS**

### **5.1 Tipo de Estudo**

Esta pesquisa é um estudo transversal, descritivo e de abordagem quantitativa.

### **5.2 Local do estudo**

Os dados foram coletados no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Escola Wladimir Arruda (HEWA), localizado no campus I da Universidade de Santo Amaro e voltado para o público da região de Parelheiros, São Miguel Paulista e Jardim das Embuias. O hospital conta com 64 consultórios médicos, 15 salas de exames de apoio e diagnóstico, três centros cirúrgicos, além de salas de pequenos procedimentos e outros. Os ambulatórios contam com as especialidades de pediatria, psiquiatria e ginecologia e obstetrícia.

### **5.3 Voluntárias e aspectos éticos**

O estudo foi aprovado em Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Santo Amaro sob parecer número 4.237.294. As voluntárias foram mulheres maiores de 18 anos atendidas no ambulatório de ginecologia do HEWA e que foram convidadas a participar do estudo. Elas são incluídas no estudo após a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Vale destacar que independente da participação, as mulheres não sofreram qualquer prejuízo em seu atendimento e/ou tratamento. Foram coletadas 107 amostras.

### **5.4 Desenho do estudo e logística laboratorial**

As voluntárias que concordaram em participar do estudo foram convidadas pela equipe do ambulatório de ginecologia e obstetrícia do HEWA a responder um questionário com objetivo de coletar dados sociodemográficos e clínicos. Os dados que constavam no questionário foram informações como idade, renda, escolaridade, estado civil, além de questões acerca dos antecedentes clínicos, ginecológicos e obstétricos. O questionário foi aplicado em local reservado e a mulher previamente informada sobre os dados que seriam coletados no momento da aplicação do TCLE. Após a coleta de dados sociodemográficos e clínicos, foram coletadas amostras de raspado cérvico vaginal do colo uterino das regiões endocérvice, junção escamo-colunar (JEC) e ectocérvice, e essas amostras foram imersas em meio de transporte de citologia líquida.

As amostras então foram encaminhadas ao laboratório de pesquisa da UNISA para condução das etapas experimentais que serão descritas a seguir:

## **1.1 Citopatologia oncótica**

As amostras encaminhadas para a citopatologia oncótica foram obtidas através de material cérvico vaginal por raspado do colo uterino das regiões ectocervice, junção escamo-colunar (JEC) e canal endocervical utilizando escova de cerdas plásticas em rotação de 360°. O material coletado foi armazenado em meio líquido ThinPrep Pap Test e foram retirados 1,5 ml de cada amostra para a coloração. A alíquota foi separada em tubo falcon e centrifugada a 1.500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet de células lavado com PBS e fixado em lâminas.

As lâminas foram coradas pelo método de Papanicolau, e em seguida foi realizada a leitura para análise citopatológica no laboratório de pesquisa em citopatologia do Centro de Pesquisa da Universidade Santo Amaro, utilizando o método de nomenclatura do Ministério da Saúde (2006) para classificação do resultado das lâminas.

## **1.2 Extração do DNA e detecção do genoma viral**

Para a realização do PCR, uma alíquota de 5 ml da amostra foi coletada em meio líquido e separada em tubo falcon e centrifugada a 1.500 rpm por 3 minutos, para a posterior realização da extração de ácidos nucleicos. O sobrenadante foi descartado e o pellet de células foi lavado com Tampão fosfato salino (PBS) estéril em duas etapas, e então foi iniciado o processo de extração.

As células foram resuspendidas em 200µl de PBS e encaminhadas para a extração de DNA. As etapas do procedimento seguiram as indicações e recomendações do fabricante pelo Kit Qiagen DNA mini kit. Após a extração todas as amostras tiveram o seu rendimento quantificado em aparelho Nano Drop. O DNA extraído foi armazenado em freezer -20oC até o momento da utilização. Além disso, para assegurar para com a presença de DNA genômico, as amostras foram testadas para gene endógeno GAPDH pelo método Sybr-green.

As amostras foram testadas em PCR em Tempo Real em equipamento Step One Plus (Applied Biosystems) com primers e sondas complementares ao HPV 16 e 18. Para o preparo pré-ciclagem foi utilizado o Taqman Master mix (12,5 µl por amostra), H<sub>2</sub>O DNase free (7,5 µl por amostra), os primers Forward e Reverse para cada tipo de HPV a ser pesquisado (1 µl de cada por amostra) e a sonda diluída dos tipos de HPV 16

e 18. A ciclagem foi padronizada em 50°C por 2 minutos, em seguida 95°C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 50°C por 1 minuto, e 60°C por um minuto. Em todas as reações foram adicionados controles positivos e negativos.

Os primers utilizados nas reações estão descritos na tabela 1<sup>(49)</sup>.

**Tabela1.** Relação de primers, sondas e concentração utilizados nos ensaios de PCR.

<b>Primers/gene</b>	<b>Sequência</b>	<b>Concentração final</b>
<b>HPV16 e7 F</b>	GATGAAATAGATGGTCCAGC	0,2µM
<b>HPV16 e7 R</b>	GCTTTGTACGCACAACCGAAGC	0,2µM
<b>Sonda HPV16</b>	FAM-CAAGCAGAACCGGACAG-TAMRA	0,1µM
<b>HPV18 e7 F</b>	AAGAAAACGATGAAATAGATGGA	0,2µM
<b>HPV18 e7 R</b>	GGCTTCCACCTTACAACACA	0,2µM
<b>Sonda HPV18</b>	FAM-AATCATCAACATTTACCAGCC-TAMRA	0,1µM
<b>GAPDH</b>	ACCCACTCCTCCACCTTTGAC	0,2µM
<b>GAPDH</b>	TGTTGCTGTAGCCAAATTCGTT	0,2µM

Os controles positivos foram células naturalmente infectadas pelo HPV, no caso para os ensaios de PCR para o HPV16 foram utilizadas as células Siha e para os ensaios de HPV18 foram utilizadas as células HeLa. A amostra foi considerada positiva quando os a curva de fluorescência ultrapassou o limiar de detecção de fluorescência estabelecido pelo equipamento . Os controles positivos foram gentilmente doados pelo Dra Lucy Vilasboas do laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo

### **1.3 Análises estatísticas**

Os dados obtidos de prevalência serão amostrados de forma descritiva para todos os tipos de HPV. As variáveis de prevalência e de genotipagem a serem analisadas entre

os grupos ou possível significância será avaliada por análises estatística considerando os dados paramétricos ou não paramétricos. A amostragem para esse estudo baseou-se em uma quantidade de conveniência em razão de demanda espontânea do serviço ambulatorial para o rastreio do câncer do colo do útero, no entanto, considerando que a prevalência do .

## 6. RESULTADOS

Participaram do estudo 107 mulheres com média de idade de 42,97 anos. Dentre as características sócio demográficas coletadas, pode-se perceber que a maioria das participantes são casadas e de baixa renda, com destaque para mulheres casadas com idade entre 31 e 59 anos, que correspondem a 28,97% da amostra total, além da taxa de mulheres de renda de até um salário mínimo que é alta entre as Participantes de idade entre 18 a 39 anos, que correspondem a 37,5% do total.

Relativo aos hábitos que podem ser fatores de risco para o desenvolvimento de câncer, a maioria das mulheres referiu não serem fumantes, sendo que as participantes que fumam se concentram principalmente na faixa de idade de 31 a 59 anos (10,28%). O hábito etilismo também foi pouco referido entre as participantes, sendo a maioria referida por mulheres de 18 a 30 anos.

Quanto à frequência sexual semanal, dado importante para o rastreamento de infecções sexualmente transmissíveis, a maior parte das mulheres revelaram ter uma frequência rara, sendo a maior taxa referida por mulheres de 31 a 59 anos, 35,51% do total. É relevante destacar que entre as mulheres idosas houve relatos de frequência sexual semanal moderada, 3,73% das participantes, indicando que essa população do estudo possui vida sexual ativa. Ainda relativo aos hábitos de vida sexual, a grande maioria das mulheres entre 31 e 59 anos relataram não utilizar nenhum método contraceptivo (50,46%). Mulheres na faixa de idade entre 18 a 30 anos, que referiu em maioria ter frequência sexual moderada a alta, também são a maioria que relata utilizar anticoncepcional hormonal (14,95%). Nenhuma participante utiliza DIU e o preservativo foi pouco referido, sendo mais usado pelas mulheres de 31 a 59 anos, correspondendo a 5,6% da amostra.

Quanto à relação entre a detecção de HPV de alto risco de acordo com a idade, este foi identificado em 2 mulheres de idade entre 18 a 30 anos, e em 2 mulheres da faixa de 31 a 59 anos. Não houve detecção de HPV de alto risco em mulheres idosas. Os resultados das leituras de citopatológicas revelaram lesões intraepiteliais de alto grau, a HSIL, em uma mulher de idade jovem e em uma mulher de meia idade. Lesões intraepiteliais de baixo grau foram identificadas em uma mulher idosa. E em duas mulheres com idade entre 18 e 30 anos.

A tabela 2 descreve, de acordo com a idade, as variáveis demográficas, as de hábitos, as de comportamento sexual e as de detecção de HPV de alto risco e de achados citopatológicos.

**Tabela 2** – Relação de variáveis demográficas, de hábitos, comportamento sexual, detecção de HPV de alto risco e achados citopatológicos de acordo com a idade das participantes.

Variáveis	Categorias	Idade						p
		18 a 30 anos (24)		31 a 59 anos (70)		Acima de 60 anos (13)		
		N	%	N	%	N	%	
Estado Civil	Solteira	19	17,75	27	25,23	2	1,86	0.23
	Casada	6	5,60	31	28,97	6	5,60	0.84
	União Estável	1	0,93	1	0,93	0	0	0.82
	Viúva	0	0	7	6,54	3	2,80	0.84
	Divorciada	0	0	2	1,86	2	1,86	0.22
Renda familiar em salários	1 salário mínimo	9	37,5	28	26,16	5	4,67	0.22
	2 salários mínimos	7	29,16	30	28,03	5	4,67	0.99
	3 ou mais salários mínimos	7	29,16	15	14,01	1	0,93	0.87
Tabagismo	Sim	1	0	11	10,28	2	1,86	0,67
	Não	23	95,83	59	55,14	11	10,28	0,98
Etilismo	Sim	5	20,83	4	3,73	1	0,93	0,78
	Não	19	79,16	66	61,68	12	11,21	0,87
Frequência sexual semanal	Rara	4	3,73	38	35,51	9	8,41	0,77
	Moderada	14	13,08	29	27,10	4	3,73	0,65
	Alta	6	5,60	3	2,80	0	0	0,99
Método contraceptivo	Nenhum	4	3,73	54	50,46	10	9,34	0,57
	Anticoncepcional hormonal	16	14,95	10	9,34	0	0	0,40
	preservativo	4	3,73	6	5,60	2	1,86	0,93
	DIU	0	0	0	0	0	0	NA
Detecção de HPV de alto risco	HPV 16	2	1,86	2	1,86	0	0	0,68
	HPV 18	1	0,93	0	0	0	0	0,74
Citopatológico	Normal	15	14,01	19	17,75	5	4,67	0,25
	Inflamatório	6	5,60	15	14,01	7	6,54	0,55
	HSIL	1	0,93	1	0,93	0	0	0,49
	LSIL	2	1,86	0	0	1	0,93	0,33
	ASC-US	0	0	1	0,93	0	0	0,99

O questionário aplicado na pesquisa tem ainda uma sessão relativa à coleta de dados clínicos das pacientes. Fatores de risco como antecedentes pessoais de diabetes foram relatados por 6,3% das mulheres. O histórico de câncer na família foi relatado por 41,2% das participantes. Outros fatores de risco como início da atividade sexual, número de parceiros nos últimos 6 meses e diagnóstico prévio de IST estão descritos na tabela 3.

**Tabela 3** – Proporção de antecedentes clínicos relatados pelas participantes do estudo.

<b>Antecedentes clínicos</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Diabetes</b>	11	10,28
<b>Câncer</b>	14	13,08
<b>Histórico familiar de câncer</b>	41	38,31

Na fase de análise laboratorial, a extração de DNA das amostras iniciou-se a partir de uma alíquota do meio líquido que continham as amostra a serem analisadas, bem como dos controles positivos, as células HeLa e SiHa, seguindo as recomendações do fabricante pelo Kit Qiagen DNA mini kit. Após esse processo, todas as amostras foram quantificadas em aparelho nanodrop, e todas foram GAPDH positivas. A tabela 4 trás as médias de 5 amostras.

**Tabela 4.** Valores referentes a quantificação realizada em Nanodrop das amostras do estudo.

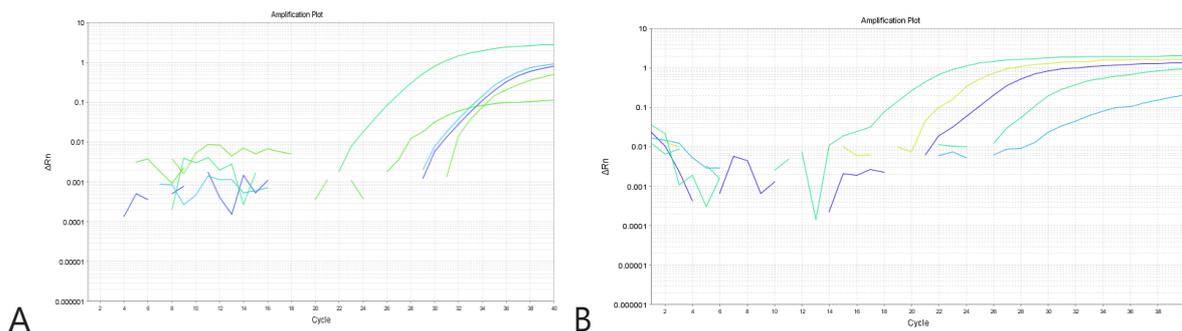
<b>Amostra</b>	<b>ng/µl</b>	<b>A260/A280</b>	<b>A260/A230</b>
<b>H1</b>	10,60	1,76	1,33
<b>H2</b>	10,10	2,04	1,58
<b>H3</b>	10,10	2,07	1,48
<b>H4</b>	12,60	1,83	2,71
<b>H5</b>	16,60	1,77	1,58

A Análise de PCR revelou 4 amostras positivas para HPV 16 e 1 amostra positiva para HPV 18, entre as 107 amostras analisadas. As proporções estão descritas na tabela 5.

**Tabela 5** – Proporção de positividade para HPV de alto risco entre o total de participantes.

Diagnóstico	N	%
Positivo para HPV 16	4	3,73
Positivo para HPV 18	1	0,93

A Figura 1 ilustra o resultado das reações de PCR em tempo real, obtidos no software StepOne Plus, comparando os controles positivos com a amostra positiva para HPV18 e as amostras positivas para HPV16.



**Figura 1** – Curvas de fluorescência de 1 amostra positiva e 4 controles positivos para HPV 18 (A) e curvas de fluorescência de 3 amostras positivas e 2 controles positivos para HPV16 (B).

Quanto aos achados citopatológicos, a tabela 6 descreve a porcentagem das classificações encontradas. A maioria dos achados (54,02%) apresentaram inflamação, grande parte (36,44%) foram resultados normais, uma pequena parcela (1,86%) apresentou lesão intraepitelial de alto grau, e 2,8% apresentou lesão intraepitelial de baixo grau. Somente uma amostra (0,93%) apresentou atipias de significado indeterminado.

**Tabela 6** – Proporção de resultados de análise citopatológica entre o total de participantes.

<b>Resultado da análise citopatológica</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Normal</b>	39	36,44
<b>Inflamação</b>	28	26,16
<b>LSIL</b>	3	2,80
<b>HSIL</b>	2	1,86
<b>ASC-US</b>	1	0,93

Quando comparados os resultados de análise citopatológica com a presença ou não de HPV de alto risco, uma amostra que tinha LSIL foi detectado com infecção por HPV 18 e uma amostra que com lesão do tipo HSIL foi detectado com HPV 16. Os dados estão descritos na tabela 7.

**Tabela 7** – Relação entre os achados citopatológicos com os achados positividade ou negatividade para HPV de alto risco.

<b>Variáveis</b>	<b>Categorias</b>	<b>Negativo para HPV de alto risco</b>		<b>HPV 16</b>		<b>HPV 18</b>	
		<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Sem malignidade</b>	<b>Inflamação</b>	28	26,16	3	2,80	0	0
	<b>ASC-US</b>	1	0,99	0	0	0	0
<b>Alteração maligna</b>	<b>LSIL</b>	2	0	0	0	1	0,93
	<b>HSIL</b>	1	0	1	0,93	0	0

## 7. DISCUSSÃO

Em relação aos dados sociodemográficos coletados, 47,8% das mulheres do estudo mencionaram estar casada, e também a maioria das mulheres relataram uma baixa rotatividade de parceiros sexuais na vida. Estudo de 2018 de Rodrigues et al. <sup>(34)</sup> relata que a multiplicidade de parceiros sexual durante a vida é um fator de risco importante para infecção por HPV e de outras alterações genitais, tendo em vista que as mulheres com tais práticas tendem a se contaminarem mais facilmente com as IST's, inclusive com o HIV, fato este que pode favorecer o desenvolvimento do câncer de colo de útero.

Estudos apontam que, na sociedade moderna, o início das práticas sexuais e a alta rotatividade de parceiros ocorrem de modo cada vez mais precoce, principalmente entre os adolescentes, o que faz necessário que profissionais de educação e saúde e sociedade em geral tomem medidas de orientações sobre os riscos produzidos pelas relações sexuais desprotegidas <sup>(35)</sup>.

Outro dado importante encontrado nesse estudo foi o início precoce da atividade sexual, sendo 44,3 % a porcentagem de mulheres que relatam ter tido a primeira relação sexual antes dos 16 anos. Bringel (2018) pontua em sua pesquisa que mulheres que iniciam a vida sexual antes dos 16 anos têm maiores chances de contaminação pelo HPV e conseqüentemente desenvolvimento de lesões cervicais, justificando esse risco ao fato de que a zona de transformação uterina nessas mulheres está em processo de transformação e maturação, tendo assim maior surgimento de lesões intraepiteliais neoplásicas. Além disso, destaca-se também o potencial de transmissão da infecção entre jovens, pois muitas adolescentes têm dificuldade em assumir posturas decisivas no uso do preservativo, aumentando o seu risco de infecção e/ou reinfecção pelo HPV <sup>(36)</sup>.

Quanto ao uso de métodos contraceptivos, no presente estudo a maioria absoluta das mulheres relataram não utilizar nenhum método. Um estudo realizado no município de Campina Grande- PB por Oliveira et al. <sup>(37)</sup> com 150 mulheres sobre comportamentos sexuais e autopercepção de vulnerabilidade às IST/Aids investigou os motivos que levam a não utilização do preservativo durante as relações sexuais. Os resultados apresentados revelaram que 38,1% das mulheres referem que o parceiro não gosta; 34,3% que o preservativo incomoda; 19,0% por preferir o anticoncepcional como método contraceptivo; e 8,3% por confiar no parceiro.

Embora no presente estudo os motivos da não utilização não tenham sido

investigados, e levando em consideração que mesmo tendo somente um parceiro, a fidelidade do parceiro não é garantida, pode-se afirmar que é preocupante que a maioria das mulheres nunca usa preservativo. Ainda relativo aos métodos contraceptivos, a utilização de anticoncepcional hormonal também é registrada na literatura como um fator de risco para o câncer cervical. Brito e Galvão (2010) <sup>(38)</sup>, em trabalho sobre fatores de risco para câncer de colo uterino em mulheres com HIV mostram que os anticoncepcionais aumentam a atividade transformadora dos oncogenes do HPV e interferem na resolução espontânea de lesões causadas pelo vírus no colo uterino. Além disso, o trabalho pontua que é um hábito que os preservativos sejam substituídos pela utilização dos anticoncepcionais, tornando esta prática fator de risco importante para o desenvolvimento do câncer de colo.

Relativo aos antecedentes pessoais etilismo e tabagismo, a frequência das participantes do estudo que relataram adotar tais hábitos foi relativamente baixa, sendo 19,3% e 25%, respectivamente. O uso do álcool e de outras drogas é associado na literatura à vulnerabilidade de exposição para infecção por HPV e outras IST's, podendo estar interligado com práticas sexuais desprotegidas, aumentando o risco de contaminação<sup>(39)</sup>.

Os dados relativos à idade desse estudo revelaram que a média entre as participantes foi de 43 anos. O perfil das mulheres foi, portanto, de meia idade, o que significa que as usuárias do sistema de saúde da região estão dando continuidade ao rastreio do câncer cervical no período indicado pelo Ministério da Saúde, que é entre os 25 anos e 55 anos <sup>(10)</sup>. No entanto, avaliando a idade de início de atividade sexual que, conforme mencionada anteriormente, foi precoce em grande parte das participantes, é importante também frisar a necessidade de início do rastreio de precoce, como vem sustentando a literatura mais recente. Um estudo de Genta<sup>(40)</sup> com 414 pacientes com diagnóstico de câncer cervical revelou que destas, apenas 44% com diagnóstico de câncer haviam feito algum rastreio antes dos seus 30 anos.

Em nosso estudo os achados citopatológicos apresentaram alterações lesões precursoras em mulheres que tinham mais de 40 anos. O resultado citológico de inflamação também foi em maioria em mulheres de meia idade. A idade como fator de risco para o desenvolvimento do câncer cervical foi descrita em outros estudos da literatura <sup>(41; 42; 43)</sup>. De Sanjose *et al.*<sup>(44)</sup> relatam em suas pesquisas que os genótipos do HPV16 e HPV18 são provavelmente integrados ao genoma humano mais rapidamente

que os outros genótipos do HPV, e os tumores decorrentes desses genótipos podem se manifestar em idades mais jovens.

Esses dados são compatíveis, ainda, com resultados de estudos retrospectivos investigando mulheres com infecções por HPV16 e HPV18 e que revelaram risco maior de desenvolver lesões cervicais de alto grau em um período menor do que as mulheres infectadas com outros genótipos. Esses estudos suportam sugestões de que o rastreamento do câncer de colo uterino seja realizado com maior periodicidade nos casos da presença do HPV 16 e HPV18 em amostras cervicais <sup>(42)</sup>.

A prevalência de infecção genital por HPV de alto risco desse estudo foi de 4,67%, taxa inferior do que os 13,8%, para ambos os tipos virais, detectados em um estudo na cidade de São Paulo<sup>(45)</sup> e os 15,4% obtidos no sul do País, pesquisando exclusivamente tipos virais de alto risco. No entanto a prevalência encontrada foi semelhante a estudos<sup>(46)</sup> conduzidos na Espanha (3%) para ambos os tipos virais. Isso pode ser explicado pelo fato do nosso estudo ter observado dados referentes apenas ao HPV16 e 18, e sabidamente temos os demais tipos de HPV de alto risco que contribuem para esse aumento da incidência

Quando comparados os resultados de alteração em citologia e achados moleculares, as lesões de alto e baixo grau foram observadas em mulheres HPV positivas, embora uma porcentagem de amostras positivas para HPV não tenham apresentado alterações citológicas. Sabe-se que a presença da infecção por HPV é um fator necessário porém não suficiente para o desenvolvimento do câncer de colo uterino. Assim, outros fatores podem contribuir para a neoplasia como, por exemplo, fatores hormonais como elevada paridade associada a um longo período de exposição a anticoncepcionais orais, além de outras infecções genitais como *Chlamydia trachomatis* ou mesmo outros tipos de HPV que não foram pesquisados nesse estudo mas que mesmo considerados de baixo risco podem sim desenvolver lesão cancerígena<sup>(40;47;48)</sup>.

## **8. CONCLUSÃO**

Essa pesquisa demonstrou baixa prevalência de HPVs de alto risco em uma amostra de mulheres residentes na zona sul de São Paulo. Além disso, demonstrou baixa incidência de neoplasia cervical, porém confirmou que existe alta associação entre a infecção por HPV de alto risco e o câncer cervical. Dados como esse podem ser muito útil para a qualificação de programas de controle e rastreamento do câncer de colo de útero em um município de características populacionais tão heterogêneas como São Paulo.

Além disso, esse estudo contribuiu para o embasamento e evolução da implantação do diagnóstico molecular de HPV no sistema público de saúde do Brasil, que combinado ao esquema de vacinação já implantado pode ajudar a minimizar as taxas de incidência desse importante problema de saúde pública.

## REFERENCIAS

1. ALFARO, A.; JUÁREZ-TORRES, E.; MEDINA-MARTÍNEZ, I.; MATEOS- GUERRERO, N.; BAUTISTA-HUERTA, M.; ROMÁN-BASSAURE, E. *et al.* Different Association of Human Papillomavirus 16 Variants with Early and Late Presentation of Cervical Cancer. **PLoS One**. 2016.
2. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR. Informativo Vigilância do Câncer no Brasil n. 8: MAGNITUDE DO CÂNCER NO BRASIL: INCIDÊNCIA, MORTALIDADE E TENDÊNCIAS. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//informativovigilancia-do-cancer-n8-2020.pdf>
3. BRUNI L, ALBERO G, SERRANO B, MENA M, GÓMEZ D, MUÑOZ J, ET AL. ICO/IARC. Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. 2020.
4. CHEN, A.A.; GHEIT, T.; FRANCESCHI, S.; TOMMASINO, M.; CLIFFORD, G.M.; IARC HPV VARIANT STUDY GROUP. Human Papillomavirus 18 Genetic Variation and Cervical Cancer Risk Worldwide. **Journal of Virology**, v. 89, n. 20, p. 10680– 10687, 2015.
5. VIDAL, J.P.C.B., FELIX, S.P., CHAVES, C.B., PATURY, P., FRANCO, V.F., DE CAMARA, G.N.N.L.; CRUZ, M.R.; VERAS, V.S.; MARTINS, C.R.F. Os papilomavírus humanos – HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 149–158, 2008.
6. ASSOCIAÇÃO HOSPITALAR MOINHOS DE VENTO. Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecção pelo HPV (POP-BRASIL) - 2015-2017 / **Associação Hospitalar Moinhos de Vento**. – Porto Alegre, 2020. 89 p
7. MOLIMARD et al. Human papillomavirus DNA and p16 expression in head and neck squamous cell carcinoma in young French patients. **J Int Med Res** ; 49(7): 3000605211022534, 2021 Jul.
8. DE OLIVEIRA CM, FREGNANI JH, CARVALHO JP, LONGATTO-FILHO A, LEVI JE. Human papillomavirus genotypes distribution in 175 invasive cervical cancer cases from Brazil. **BMC Cancer**. 2013 Jul 24;13:357. doi: 10.1186/1471-2407-13-357. PMID: 23883423; PMCID: PMC3725167.
- RAZZAGHI, H.; SARAIYA, M.; THOMPSON, T.D.; HENLEYM S,J.; VIENS, L.;
9. WILSON, R. Five-year relative survival for human papillomavirus-associated cancer sites. **Cancer**. 1;124(1):203-211. doi: 10.1002/cncr.30947. 2017.
10. BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: **INCA**; 2020.
11. SCHIFFMAN, M.; DOORBAR, J.; WENTZENSEN, N.; DE SANJOSÉ, S.; FAKHRY,C.; MONK, B.J. *et al.* Carcinogenic human papillomavirus infection.**Primer**, v. 2, p. 1–20, 2016.
12. BRASIL. Ministério da Saúde. Atenção ao pré-natal de baixo risco. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2012. (Cadernos de Atenção Básica, 32).
13. BERNARD, H. U. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. **Journal of Clinical Virology**, v. 32S, p. 1– 6, 2005.

14. ZUR HAUSEN, H. Papillomavirus infections — a major cause of human cancers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, v. 1288, n. 2, p. F55– F78, 1996.
15. BURD, E. M. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 1, p. 1–17, 2003.
16. D'ABRAMO, C.M.; ARCHAMBAULT, J. Small molecule inhibitors of human papillomavirus protein - protein interactions. **Open Virol J.**;5:80-95. doi: 10.2174/1874357901105010080. 2011.
17. PINIDIS, P.; TSIKOURAS, P.; IATRAKIS, G.; ZERVOUDIS, S.; KOUKOULI, Z.; BOTHOU, A. *et al.* Human Papilloma Virus' Life Cycle and Carcinogenesis. **Maedica - a Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 1, p. 48–54, 2016.
18. MUÑOZ, N.; CASTELLSAGUÉ, X.; DE GONZÁLEZ, A.B.; GISSMANN, L. Chapter1: HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, v. 24, n. S3, p. 1–10, 2006.
19. FELLER, L.; KHAMMISSA, R.A.; WOOD, N.H.; LEMMER, J. Epithelial maturation and molecular biology of oral HPV. **Infectious Agents and Cancer**, v. 4, n. 16, p. 1– 9, 2009. doi: 10.1186/1750-9378-4-16. 2009
20. BIRYUKOV, J.; MEYERS, C. Papillomavirus infectious pathways: A comparison of systems. **Viruses**, v. 7, n. 8, p. 4303–4325, 2015.
21. GALLOWAY, D. A.; LAIMINS, L. A. Human papillomaviruses: shared and distinct pathways for pathogenesis. **Current Opinion in Virology**, v. 116, n. 8, p. 1477– 1490, 2016.
22. HOFFMAN, S. R.; LE, T.; LOCKHART, A.; SANUSI, A.; DAL SANTO, L.; DAVIS, M. *et al.* Patterns of persistent HPV infection after treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN): a systematic review. **International Journal of Cancer**, p. 1–37, 2016
23. GRAVITT, P.E et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. **Journal of clinical microbiology**, jan. 2000, p. 357-361
24. RODRIGUES, L. L. S. et al. Cervico-vaginal self-collection in HIV-infected and uninfected women from Tapajós region, Amazon, Brazil: High acceptability, hrHPV diversity and risk factors. **Gynecologic Oncology**, v. 151, p. 102-110, 2018.
25. DIZ, M.D.P.E.; MEDEIROS, R.B. Câncer de colo uterino – fatores de risco , prevenção, diagnóstico e tratamento. **Revista de Medicina**, v. 88, n. 1, p. 7– 15, 2009.
26. ANVISA. Registrada vacina do HPV contra 9 subtipos do vírus. 2017. Disponível em:< [http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset\\_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/registrada-vacina-do-hpv-contra-9-subtiposdo-virus/219201](http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/registrada-vacina-do-hpv-contra-9-subtiposdo-virus/219201)>. Acesso em: 17 jan 2022.
27. GARLAND S, KJAER SK, MUÑOZ N, BLOCK SL, BROWN DR, DINUBILE MJ ET AL. Impact and effectiveness of the quadrivalent human papillomavirus vaccine: a systematic review of 10 years of real-world experience. **Clin Infect Dis** 2016; 63 (4):519-27
28. GILLISON ML, CHATUVERDI AK, LOWY DR. HPV prophylactic vaccines and the potential prevention of noncervical cancers in both men and women **Cancer** 2008;113(10):3036- 46

29. JOURA EA, GIULIANO AR, IVERSEN OE, BOUCHARD C, MAO C, MEHLSSEN J ET AL. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. **N Engl J Med** 2015;372(8):711-23
30. MARKOWITZ LE, LIU G, HARIRI S, STEINAU M, DUNNE EF, UNGER ER. Prevalence of HPV after introduction of the vaccination program in the United States. **Pediatrics** 2016;137(3):1-2
31. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informe técnico da ampliação da oferta das vacinas papilomavírus humano 6, 11, 16 e 18 (recombinante): Vacina HPV quadrivalente e meningocócica C (conjugada). Brasília: **Ministério da Saúde**. 2018
32. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Panorama da População de São Paulo. São Paulo: IBGE, 2018. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/sao-paulo/panorama>
33. PREFEITURA DE SÃO PAULO. **Dados demográficos dos distritos pertencentes às Subprefeituras**. São Paulo; 2018. Disponível em: [https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/subprefeituras/subprefeituras/dados\\_demograficos/index.php?p=12758](https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/subprefeituras/subprefeituras/dados_demograficos/index.php?p=12758)
34. RODRIGUES, L. L. S. et al. Cervico-vaginal self-collection in HIV-infected and uninfected women from Tapajós region, Amazon, Brazil: High acceptability, hrHPV diversity and risk factors. **Gynecologic Oncology**, v. 151, p. 102-110, 2018.
35. LARA, L. A. S.; ABDO, C. H. N. Aspectos da atividade sexual precoce. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 37, n. 5, p. 199-202, 2015.
36. VARGENS, O. M. C. et al. Diagnóstico de HPV: o processo de interação da mulher com seu parceiro. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 66, n. 3, p. 327-332, 2013.
37. OLIVEIRA, T. M. F. et al. Risk behavior and self-perceived vulnerability to stis and aids among women. **J Nurs UFPE on line**, v. 10, n. 1, p. 137-142, 2015.
38. BRITO, D. M. S.; GALVÃO, M. T. G. Fatores de risco para câncer de colo uterino em mulheres com HIV. **Revista da rede de enfermagem do Nordeste**, v. 11, n. 1, p. 191- 199, 2010.
39. DUARTE, M. T. C., PARADA, C. M. G. DE L., & SOUZA, L. DO R. DE. Vulnerabilidade de mulheres vivendo com HIV/Aids . **Revista Latino-Americana De Enfermagem**, (2014)22(1), 68-75. <https://doi.org/10.1590/0104-1169.2837.2377>
40. GENTA, M.L.N.D. Genotipagem do Papilomavirus humano (HPV) nos casos de câncer do colo uterino do instituto do cancer do estado de Sao Paulo no período de 2008 a 2012. **Faculdade de Medicina da Universidade de Sao Paulo**. Sao Paulo: 2016.
41. MUNOZ, N. et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus Types associated with cervical cancer. **N Engl J Med**. 2004.
42. WHEELER, C.M. HPV genotypes: implications for worldwide cervical cancer screening and vaccination. **Lancet Oncol**. 2010.
43. DE CREMOUX, P. Et al. Different outcome of invasive cervical cancer associated with high risk versus intermediate risk HPV genotype. **Int J Cancer**. 2009
44. DE SANJOSE, S. Et al. Human Papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. **Lancet**

**Oncol.** 2010.

45. FRANCO EL, VILLA LL, SOBRINHO JP, PRADO JM, ROUSSEAU MC, DÉSY M, ET AL. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. **J Infect Dis.** 1999;180(5):1415-23

46. SANJOSE S, ALMIRALL R, LLOVERAS B, FONT R, DIAZ M, MUÑOZ N, ET AL. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. **Sex Transm Dis.** 2003;30(10):788-93.

47. RAMA CH, ROTELI-MARTINS CM, DERCHAIN SFM, OLIVEIRA EZ, MARIANI-NETO C, ALDRIGHI JM, ET AL. Detecção sorológica de anti HPV 16 e 18 e sua associação com achados do Papanicolaou em adolescentes e mulheres jovens. **Rev Assoc Med Bras.** 2006;52(1):43-7.

48. SYRJÄNEN K, NAUD P, DERCHAIN S, ROTELI-MARTINS C, LONGATTO-FILHO A, TATTI S, ET AL. Comparing Pap smear cytology, aided visual inspection, screening colposcopy, cervicography and HPV testing as optional screening tools in Latin America. Study design and baseline data of the LAMS study. **Anticancer Res.** 2005;25(5):3469-80.

49. VEO CA, SAAD SS, FREGNANI JH, ET AL. Clinical characteristics of women diagnosed with carcinoma who tested positive for cervical and anal high-risk human papillomavirus DNA and E6 RNA. **Tumour Biol.** 2015 Jul;36(7):5399-405. doi: 10.1007/s13277-015-3205-9. Epub 2015 Feb 13. PMID: 25677903.

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### **PROTOCOLO: PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES IDOSAS DA ZONA SUL DE SÃO PAULO.**

Estes esclarecimentos estão sendo apresentados para solicitar sua participação no projeto **PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES IDOSAS DA ZONA SUL DE SÃO PAULO** do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Santo Amaro - UNISA, que será realizado pela pesquisadora **Hannar Angélica de Melo Alverga** como dissertação para obtenção do título de mestre sob orientação do Prof. Dr. **Luiz Henrique da Silva Nali**

#### 1. Descrição do estudo e objetivos

Estamos realizando um estudo de caráter observacional em mulheres idosas e não idosas com o objetivo de avaliar a prevalência de HPVs em mulheres idosas que realizam exame preventivo de câncer de colo de útero de rotina em residentes da zona sul de São Paulo. Gostaríamos de observar a diversidade do HPV na população da Zona Sul de São Paulo e também investigar alguns marcadores biológicos para melhor compreender como nosso organismo responde a essa infecção. Vale destacar que a sua participação ou não, não acarretará em nenhuma interferência em seu atendimento médico ou em seu tratamento. Sendo assim, o objetivo desse termo é convidá-la a participar do nosso estudo

#### 2. Procedimentos da pesquisa

Após ter sido esclarecido sobre o estudo, você poderá ou não participar do estudo. Caso aceite, você será solicitado a assinar esse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, uma cópia deste documento lhe será fornecida. O seu acompanhamento médico não será afetado no decorrer do estudo, além disso, você poderá optar por não participar mais do estudo a qualquer momento, sem que exista quaisquer implicações para ti. Caso aceite participar, coletaremos uma amostra de sangue e uma amostra de papanicolau, que será coletada juntamente com o seu exame, e coletaremos algumas informações sociodemográficas no questionário que se segue. O material biológico e os dados coletados durante esse utilizados apenas para o objetivo desse estudo.

#### 1. Benefícios e obrigações do participante

Você não terá despesas pessoais por participar desse estudo, e nem quaisquer obrigações. Também não haverá compensação financeira por sua participação. A princípio, esse estudo não trará nenhum benefício imediato a você. Entretanto, as informações obtidas nesse estudo poderão servir de base para a compreensão da disseminação do vírus na população, e também conhecer possíveis marcadores biológicos que ajudará na compreensão do desenvolvimento do câncer, futuramente.

#### 2. Desconfortos e riscos

Por ser um estudo observacional, ou seja, sem quaisquer tipos de intervenções, esse estudo não oferece risco aos voluntários. A coleta de sangue é pouco invasiva e oferece riscos mínimos, onde há um desconforto por conta da coleta e pode, no máximo, gerar alguns hematomas e com

relação a coleta de papanicolau há um desconforto mínimo durante a coleta e também oferece riscos mínimos durante a coleta.

3. Garantia de acesso aos pesquisadores.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para **esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações** sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Os pesquisadores responsáveis são a enfermeira **Hannar Angélica de Melo Alverga** e **Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali**, podem ser encontrado na Universidade de Santo Amaro no endereço Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP, campus I, telefone 11 2141-8702 no setor Pós Graduação em Ciências da Saúde.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: 2141-8687.

Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (nexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica **assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais**, bem como procurar obter **indenizações** por danos eventuais.

Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

São Paulo, / /

\_\_\_\_\_  
(Hannar Angélica de Melo Alverga

\_\_\_\_\_  
(Prof Dr. Luiz Henrique da S. Nali

Se você concordar em participar desta pesquisa assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o nº de seu documento de identificação.

Nome: (do participante): .....

Doc. Identificação: .....

Ass: .....

\_\_\_\_\_  
Nome: (do representante legal) .....

Doc. Identificação: .....

Nível de representação: (genitor, tutor, curador, procurador.) .....

Nome do participante: .....

Declaro (amos) que obtive (mos) de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante (ou do representante legal deste participante) para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo Data / /

## APÊNDICE B

### Instrumento de Coleta de Dados

Identificação:

Data da coleta: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Estado Civil: \_\_\_\_\_

Escolaridade: \_\_\_\_\_ Ocupação: \_\_\_\_\_

Questionário:

1. Há quanto tempo iniciou a atividade sexual?
2. Possui vida sexual ativa no momento? ( ) Sim ( ) Não
3. Frequência semanal de relações sexuais ( ) Rara ( ) Moderada ( ) Altamente frequente
4. Qual o número de parceiros sexuais na vida até agora?
5. Quantas gestações já teve? ( ) 0 ( ) 1 ( ) 2 ( ) 3 ( ) 4 ou mais
6. Se já teve filhos, amamentou? ( ) Sim ( ) Não
7. Já recebeu diagnóstico de alguma infecção genital? ( ) Sim ( ) Não
8. Se IST positiva, fez ou faz tratamento? ( ) Sim ( ) Não
9. É histerectomizada? ( ) Sim ( ) Não
10. Possui histórico pessoal de câncer? ( ) Sim ( ) Não
11. Possui casos de câncer na família? ( ) Sim ( ) Não
12. Já recebeu diagnóstico de alguma infecção genital? ( ) Sim ( ) Não
13. Se IST positiva, fez ou faz tratamento? ( ) Sim ( ) Não
14. É histerectomizada? ( ) Sim ( ) Não
15. Possui histórico pessoal de câncer? ( ) Sim ( ) Não
16. Possui casos de câncer na família? ( ) Sim ( ) Não ( )