

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

O77 Ortolani, Lais Gonçalves.

P Prevalência do papilomavírus humano, diversidade de genótipos e alterações citológicas em mulheres atendidas na rede pública de saúde de Dourados-MS. / LaisGonçalvesOrtolani. – Dourados, MS : UFGD, 2015.

70f.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Juliano Negrão.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1.

PV. 2. Saúde da mulher. 3.Genotipagem. I. Título.

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

**©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO, DIVERSIDADE DE  
GENÓTIPOS E ALTERAÇÕES CITOLÓGICAS EM MULHERES ATENDIDAS NA  
REDE PÚBLICA DE SAÚDE DE DOURADOS - MS**

**LAIS GONÇALVES ORTOLANI**

**DOURADOS-MS**

**2015**

**LAIS GONÇALVES ORTOLANI**

**PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO, DIVERSIDADE DE  
GENÓTIPOS E ALTERAÇÕES CITOLÓGICAS EM MULHERES ATENDIDAS NA  
REDE PÚBLICA DE SAÚDE DE DOURADOS - MS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados – Faculdade de Ciências da Saúde, para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Juliano Negrão

**DOURADOS-MS**

**2015**

## DEDICATÓRIA

*A todas as mulheres participantes deste estudo e a todas as enfermeiras  
coordenadoras das unidades de saúde.*

*Aos meus avós Francisca e João, Ida (in memorian) e Domingos (in memorian); aos  
meus pais Lindalva e Natal, e às minhas irmãs, Letícia e Lívia. Tudo o que consegui  
foi pelo esforço, dedicação, amor e compreensão de cada um de vocês.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser o meu sustento e por manifestar sua força em mim, me tornando capaz para realizar minhas atividades. Somente n'Ele me mantenho firme e somente por sua graça fui capaz de superar os desafios, a Ele toda a honra e toda a glória.

Aos meus pais, que mesmo diante de todas as dificuldades não mediram esforços para permitir que eu chegasse até aqui. Por toda a confiança que depositaram em mim, pelo amor, dedicação e carinho que nunca deixei de receber.

Às minhas queridas irmãs, que são anjos enviados por Deus e são as alegrias de minha vida, que me fazem sorrir mesmo nos momentos de tristeza e que em apenas um abraço podem aliviar todas as dores do mundo, a presença de vocês foi essencial para que eu cumprisse esta missão sem fraquejar. Amo vocês, ao infinito e além!

Aos meus avós, Francisca e João, por todas as horas e horas ao telefone que permitiram diminuir a distância e ficar mais perto do carinho de vocês, por todos os conselhos e pelas infinitas orações, sempre intercedendo por mim.

A todos os membros de minha família que me deram força e sempre me trouxeram felicidade, Tio Pibo, Tia Néia, Tata, Tia Lú, Tio Marcelo, Rafa, Maria, Tia Cida e Tio Mingo.

Agradeço a minha grande amiga Luana, que sempre esteve presente e mesmo com todos os meus defeitos nunca deixou de me amar, sempre me apoiando e aconselhando, você foi um presente de Deus em minha vida.

As minhas amigas que fizeram parte de toda esta caminhada e que ouviram minhas reclamações, compartilharam das minhas alegrias e conquistas e moram no meu coração: Kesia, Maísa, Edilaine, Flora e Natália.

À Camila e sua família, pessoas muito especiais que sempre me ampararam quando eu mais precisei.

Aos Amados Bartimeus, que são parte de mim e que guardo imenso carinho, Maira, Bruno, Gui, Gelson, Suny e Amanda.

A todos os meus amigos distantes, que apesar do tempo nunca deixaram de estar presentes em minha vida, Mari, Mury, Bia, Sté, Letícia, Érica, Alarissa, Amanda, Louise, Danielle e Adriane. E aos amigos de perto Allan, Júlio, Ronaldo, Leandro e Aline.

Agradeço imensamente aos meus irmãos científicos que contribuíram para esta pesquisa, Aracele, Alessandra, Luana, Ana Cláudia, Maysa, Matheus, Suéllen, Bruna, Carol, e Renata, vocês tornaram os dias no Lab mais felizes e sempre estiveram dispostos a me ajudar, seja ouvindo um desabafo, corrigindo um texto, coletando amostras ou fazendo um PCR. Muito Obrigada, vocês são maravilhosos!

As companheiras de mestrado e amigas, Débora, Mariana, Luciana, Camila, Nani, Éllen, Simone, Adriana, Chaiane e Lujan.

Aos alunos de graduação Mariana Kurihara, Romário Oliveira, Maria Lorenza Leal, Gleyce Hellen de Almeida, Ruth Alinne, Hélder Villela, Bruna Pires, Kamila Fernandes, Jéssika Cesco, Amanda Matos, Bruna Reginatto, Ana Luisa Lages e André Salgueiro, e às mestrandas Graciela Santos e Letícia Scapin, por toda a ajuda durante as coletas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Juliano Negrão, muito obrigada pela orientação, pelos ensinamentos e paciência. Obrigada por entender minhas limitações e me incentivar a superá-las. Muito obrigada por confiar em mim e por me proporcionar diversas oportunidades de crescimento profissional.

Aos professores Júlio Henrique Rosa Croda e Simone Simionatto, pela ajuda e apoio em todos os momentos necessários. Obrigada por toda a atenção, por todos os ensinamentos e conselhos científicos.

Aos professores Márcio Barro e Cássia Barbosa Reis pelas contribuições.

Ao Dr. Fábio Nakano, por ajudar neste projeto, por toda paciência e compreensão.

À Universidade Federal da Grande Dourados e ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde.

À FUNDECT, pela bolsa de mestrado concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram para elaboração desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

*"Assim, permanecem agora estes três: a fé, a esperança e o amor. O maior deles, porém, é o amor." 1 Coríntios 13, 13.*



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO.....	3
2.1 Histórico.....	3
2.2 O Papilomavírus Humano.....	4
2.3 Diagnóstico e rastreamento do câncer cervical .....	7
2.3.1 Citopatológico .....	7
2.3.2 Diagnóstico Molecular .....	9
2.4 Epidemiologia.....	12
2.5 Vacina para o HPV .....	15
2.6 Dourados e as Unidades Básicas de Saúde da Família.....	17
3. OBJETIVOS.....	18
3.1 Objetivo geral .....	18
3.2 Objetivos específicos .....	18
4. REFERÊNCIAS .....	19
1. MANUSCRITO .....	33
6. ANEXOS.....	55
6.1 Anexo 1: Divisão da família Papillomaviridae em gêneros e espécies. ....	55
6.2 Anexo 2: Algoritmo para a genotipagem do HPV segundo Nobre et al., 2008... 57	
6.3 Anexo 3: Tabela 2. Prevalência da infecção por HPV em Regiões do Brasil .....	59
6.4 Anexo 4: Normas de publicação do periódico.....	69
6.5 Anexo 5: Autorização para realização da pesquisa.....	71
6.6 Anexo 6: Aprovação do comitê de ética em pesquisa .....	73

6.7 Anexo 7: Questionário utilizado na pesquisa .....	73
6.8 Anexo 8: Termo de consentimento livre e esclarecido .....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do genoma do HPV. Fonte: Adaptado de Ferraz, Santos, Discacciati (51). .....	6
<b>Figura 2.</b> Primers utilizados para detecção e genotipagem na ORF L1. Fonte: Adaptado de <a href="http://dellybeandiary.ordpress.com/2011/02/06/hpv-detection/">http://dellybeandiary.ordpress.com/2011/02/06/hpv-detection/</a> .....	12

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Sequência de primers PGMY09/11 .....	11
6.3 Anexo 3: Tabela 2. Prevalência da infecção por HPV em Regiões do Brasil.....	59

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGC - Células Glandulares Atípicas/*Atypical Glandular Cells*

AIS - Adenocarcinomas *in situ*

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida/*Acquired Immunodeficiency Syndrome*

ASC - Células Escamosas Atípicas

ASC-US - ASC de significado indeterminado/*Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*

CC - Câncer Cervical

CCI - Câncer Cervical Invasivo

CEP - Comitê de Ética e Pesquisa

CDC – Centro de Controle e Prevenção de Doenças/*Centers for Disease Control and Prevention*

DST - Doença Sexualmente Transmissível

E2, E6, E7 - Genes precoces/*E-early*

ESF - Estratégia de Saúde da Família

FDA - Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos/*Food and Drug Administration*

FUNDECT - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul

G1 - Primeira fase do ciclo celular/ Crescimento celular

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana/*Human Immunodeficiency Virus*

HLA - Antígeno Leucocitário Humano/*Human Leukocytes Antigens*

HPV - Papilomavírus Humano/*Human Papillomavirus*

hrHPVs - HPV de alto risco/*High-risk human papillomavirus*

HSIL - Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau/*High grade Squamous Intraepithelial lesion*

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC - Intervalo de Confiança

ICTV - Comitê Internacional de Taxonomia Viral/*The International Committee on Taxonomy of Viruses*

ISH - Hibridização *in situ* /*In Situ Hybridization*

L1, L2 – Genes tardios/*L- late*

lrHPV - HPV de baixo risco/*Low-risk human papillomavirus*

LSIL - Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau/*Low grade Squamous Intraepithelial Lesion*

IARC - Agência Internacional para a Pesquisa do Câncer/*International Agency for Research on Cancer* .

NIC- Neoplasia Intra-epitelial Cervical

Nm – Nanômetro

OMS - Organização Mundial da Saúde/*WHO - World Health Organization*

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde/*PAHO - Pan American Health Organization*

OR - Odds ratio

ORF – Fase Aberta de Leitura/*Open reading frames*

P53 - Proteína 53

pb – Pares de base

PBS - Tampão fosfato-salino/*Phosphate buffered saline*

PCR - Reação em Cadeia pela Polimerase/*Polimerase Chain Reaction*

PNI - Programa Nacional de Imunizações

pRb – Proteína da Retinoblastina

Redcap - Research Electronic Data Capture

RFLP - Polimorfismo dos fragmentos de restrição/*Restriction Fragment Length Polymorphism*

S – Segunda fase do ciclo celular/ Síntese na divisão celular

SIAB - Sistema de Informação da Atenção Básica

UFGD - Universidade Federal da Grande Dourados

## RESUMO

Associado a infecção pelo Papilomavírus Humano (Human Papillomavirus – HPV –) o câncer cervical invasivo é a segunda neoplasia maligna mais comum em mulheres brasileiras. O conhecimento sobre os genótipos do HPV é fundamental para orientar a intervenção e avaliar o impacto de novas estratégias de prevenção contra esta enfermidade. O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de HPV, identificar os genótipos e avaliar as alterações citológicas em mulheres atendidas na rede pública de saúde de Dourados/MS. Entre outubro de 2014 e maio de 2015, 458 mulheres de 18 a 65 anos, que aceitaram participar do estudo, responderam a um questionário para obtenção de informações sócio-demográficas e clínicas. As amostras biológicas foram obtidas no momento do exame colpocitológico anual. Foram coletadas duas amostras, uma para a realização do esfregaço celular em lâmina de vidro, para o exame citológico, e outra para a detecção viral pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), seguida de genotipagem pela metodologia de Polimorfismo dos Fragmentos de Restrição (RFLP) e confirmada por sequenciamento pelo método de Sanger. A prevalência do HPV foi de 5,9 % (N = 27) e a genotipagem realizada identificou 11 tipos virais, sendo os mais comuns os HPV 51, 53, 58 e 83. Há uma forte relação entre ser HPV positivo e possuir mais de um parceiro sexual. Alterações citológicas foram encontradas em 4,8 % (N = 22) das pacientes - consumir álcool e possuir o vírus do HPV foram considerados fatores de risco para estas alterações. Nesta pesquisa não foram encontrados nenhum dos subtipos virais do HPV presentes na vacina disponibilizada nas redes públicas de saúde. Estudos sobre a prevalência genotípica do HPV em uma cidade ou região são importantes para determinar futuramente o impacto da vacina para o sistema único de saúde.

**Palavras chave:** HPV, Saúde da mulher, Genotipagem.



## ABSTRACT

Associated with the infection by the Human Papillomavirus, the invasive Cervical Cancer is the second most common malignant tumor affecting Brazilian women. The knowledge about the genotypes of the Human papillomavirus (Human papillomavirus - HPV) is fundamental to conduct intervention and to evaluate the impact of the new strategies of prevention against this illness. The purpose of this study was to determine the prevalence of HPV, identify the genotypes and to evaluate cytological change in women attending the public health system of Dourados, MS. Between October, 2014 and May, 2015, 458 women aged 18 to 65 years, that accept to participate of the study, answered a questionnaire for the obtainment of sociodemographic and clinical information. The biological samples were obtained in the moment of Papanicolaou test – two sample were collected, one for the realization of cell smear in glass lamina, for the cytological test, and another one for viral detection by the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, followed by genotyping by the methodology of the Restriction Fragment Length Polymorphism technique (RFLP) and confirmed by sequencing by the Sanger method. HPV prevalence was 5,9 % (N=27), the genotyping performed identified 11 types of virus, the most common being the HPV 51, 53, 58 and 83. There is a strong relationship between being HPV positive and not having stable sexual partner. Cytological alteration was found in 4,8 % of the patients, the consumption of alcohol and having the HPV virus was considered risk factors for these alterations. It was not found in this research any HPV virus subtypes of which the vaccines available in the public health system offers protection. The effectiveness of the vaccines against HPV for the reduction of the incidence of Cervical Cancer (CC) depends of many factors, studies about infection and genotypic diversity of HPV in a city or region are important for the establishment of effective preventive strategies against cervical cancer in terms of diagnostic procedures and prophylactic actions.

**Keywords:** HPV, Women Health, Genotyping

## 1. INTRODUÇÃO

A infecção em mulheres pelo Papilomavírus Humano (Human Papillomavirus – HPV –), doença sexualmente transmissível (DST), ganhou importância a partir de sua associação com o câncer cérvico-uterino (1). Comum em todas as raças e grupos sócio-econômicos, a infecção pelo HPV apresenta prevalência significativa entre pessoas sexualmente ativas, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a taxa de infecção assintomática varia de 2% a 44%, dependendo da população e região estudada (2).

A infecção por HPV está ligada a 99% dos cânceres cervicais, 10 a 20% das mulheres com HPV cervical detectado por PCR apresentam alterações citológicas no exame de Papanicolaou (3; 4). Isso pode ser explicado pela gama de subtipos virais com diferentes apresentações clínicas que variam de verrugas genitais a alterações oncogênicas (1; 5).

Nas infecções persistentes pelo HPV para o desenvolvimento de neoplasias, são determinantes: i) fatores próprios do hospedeiro; ii) aspectos relacionados à estirpe, carga viral e infecção única ou múltipla; e iii) fatores de risco, como o uso prolongado de contraceptivos orais, fatores ligados à imunidade, à genética, ao comportamento sexual, a idade e tabagismo (6; 7; 8).

Mundialmente, 32 milhões de novos casos de verrugas genitais, características da infecção por HPV, são diagnosticados a cada ano - no Brasil estas lesões na pele correspondem a 1,9 milhões de casos, onde os HPV 6 e 11 estão associados a 70% e 20% dos casos respectivamente (1).

O câncer cervical é o terceiro câncer mais comum entre as mulheres em todo o mundo, com uma estimativa de 530 mil novos casos diagnosticados anualmente, tendo como principais responsáveis os HPV 16 e 18, presentes em 70% dos casos. No Brasil, este cenário se apresenta com uma incidência de 15.590 pessoas infectadas (9), sendo o HPV tipo 16 a causa mais comum de câncer de colo do útero, respondendo por mais da metade dos casos (5; 10).

No Brasil, assim como nos países integrantes do Mercosul, não há dados estatísticos da real prevalência de infecção pelo Papilomavírus Humano na população sexualmente ativa (11). Na região Centro-Oeste, o câncer do colo do útero encontra-se como o segundo mais frequente, com 22,19 casos por 100.000 mulheres (6; 7).

As técnicas de biologia molecular tais como Hibridização *in situ* (*In Situ* Hybridization -ISH-) e Reação em Cadeia da Polimerase (Polimerase Chain Reaction – PCR-), são as únicas capazes de detectar e identificar as infecções pelo HPV. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, o exame colpocitológico (Exame de Papanicolaou) é o preconizado para a identificação das lesões pré-cancerígenas e vem sendo associado ao exame de aceto-ácido e lugol para o aumento da sua sensibilidade (12; 13; 14).

Países com cobertura superior a 50% do exame Papanicolaou realizado a cada três/cinco anos apresentam taxas inferiores a três mortes por 100 mil mulheres por ano e para aqueles com cobertura superior a 70%, essa taxa anual é igual ou menor que duas mortes por 100 mil mulheres (11; 12; 13; 15; 16). Os dados sobre a ocorrência do HPV e seus genótipos são obtidos por meio da análise de pacientes portadoras de neoplasias intraepiteliais cervicais e carcinoma invasivo do colo uterino (8).

Com as novas vacinas contra os tipos de HPV oncogênicos mais prevalentes (HPV16 e HPV18), a incidência do câncer cervical tende a diminuir (14). Ensaios clínicos randomizados têm demonstrado uma alta proteção contra os subtipos virais 16 e 18 (14). Contudo, determinar qual sub-tipo viral está presente na população é importante para o estabelecimento de uma política pública de prevenção por vacinação (7;15; 17), através de estudos que avaliem a eficácia da vacinação contra o HPV em relação à diminuição da incidência de câncer do colo do útero e a substituição viral por novos tipos de HPV não incluídos no painel de vacinação (14; 18).

Incertezas também existem em relação à dinâmica futura do desenvolvimento das vacinas dos tipos de HPV de baixo e intermediário risco em relação ao grau e a duração da proteção cruzada das vacinas atuais contra esses outros tipos (19).

Este trabalho teve por objetivo fornecer informações sobre a prevalência do HPV, a diversidade de seus genótipos e a ocorrência de alterações citológicas em mulheres

atendidas na rede pública saúde de Dourados, abrangendo diferentes sub-populações de menor e maior risco a fim de obter indicadores epidemiológicos para a avaliação de futuras intervenções, estabelecendo estratégias preventivas e eficazes contra o câncer cervical e norteadoras de políticas públicas de saúde.

## **2. REVISÃO**

### 2.1 Histórico

A infecção genital pelo Papilomavírus Humano foi inicialmente descrita como verrugas da pele por Hipócrates (460-377 A.C.) (20). Evidências sobre sua etiologia viral foram relatadas no início do século XX por G. Ciuffo, o primeiro a suspeitar que as verrugas fossem causadas por vírus (21; 22).

Nos anos 70, estudos demonstraram os aspectos citológicos, colposcópicos e histopatológicos da infecção causada pelo HPV no trato genital feminino e levantaram a hipótese de que as lesões causadas pelo vírus fossem passíveis de transformações malignas (22).

O método citológico criado por George Papanicolaou, capaz de detectar alterações no núcleo das células, categorizava o esfregaço de colo uterino em classes (I, II, III, IV e V). Por esta metodologia apresentar algumas limitações, coletando apenas células superficiais e células descamadas, demonstrando falsos-negativo em até 50%, Richart, em 1947, introduziu o conceito de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC), sugerindo haver uma continuidade e evolução das lesões displásicas leves até carcinoma invasor (23; 24). A melhor compreensão da história natural da NIC tem possibilitado que vários estudos epidemiológicos demonstrem as taxas de regressão, persistência e progressão da infecção por HPV (26).

Meisels e Morin e zur Hausen et al (26; 27; 28) foram os primeiros a relacionar a infecção por HPV com o carcinoma da cérvix uterina (27; 29; 30). A identificação do Papilomavírus Humano como o agente etiológico do condiloma permitiu inferir sobre o processo de transmissão, que ocorre por contato sexual, e sobre o período de incubação, que é variável de 2 semanas a 8 meses (22).

Na década de 80, tipos específicos de HPV foram isolados de amostras de biópsia de câncer cervical, permitindo novos estudos sobre o mecanismo de ação do vírus no desenvolvimento de carcinomas (30; 31). Em 1981 foi relatada a presença do DNA do HPV em células neoplásicas do trato genital através da técnica de hibridização molecular (22).

Devido à detecção de estirpes específicas de HPV em neoplasias cervicais de alto grau, originou-se o conceito de que havia vírus de baixo, intermediário e alto potencial oncogênico. Em 1995, a Agência Internacional para a Pesquisa do Câncer (International Agency for Research on Cancer –IARC–) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) consideraram os HPVs 16 e 18 como os agentes etiológicos do carcinoma escamoso do colo (4; 32; 33; 34).

## 2.2 O Papilomavírus Humano

De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (The International Committee on Taxonomy of Viruses – ICTV–) os papilomavírus são vírus de DNA de fita dupla que infectam vertebrados. Pertencem à família *Papillomaviridae*, na qual passou a ser incluído o gênero *Papillomavirus* (35; 36; 37); nesse gênero são descritas oito espécies e entre elas está o HPV, possui cerca de 55 nm de diâmetro sendo considerado um vírus pequeno, não envelopado, de estrutura icosaédrica apresentando 72 capsômeros (38; 39; 40; 41; 42). Espécie-específico, o HPV possui uma gama restrita de hospedeiros. Infectando as células do epitélio basal (pele e mucosas) com predileção por local-específico dentro do epitélio susceptível. Alguns tipos causam apenas verrugas cutâneas em humanos e outros causam lesões oncogênicas, principalmente na região anogenital (42; 43).

O HPV possui mais de 200 subtipos, entre os quais mais de 100 possuem o genoma completamente sequenciado, e mais de 120 com sequenciamento parcial. De acordo com o ICTV, os papilomavírus filogeneticamente semelhantes estão unidos em gêneros: Alpha, Beta, Gamma, Delta, Kappa, entre outros (36). Os principais gêneros são o Beta-papilomavírus, associado à lesão cutânea no homem, e o Alphapapilomavírus, o mais amplo, que contém HPV de tropismo mucoso e cutâneo (43).

Os HPV são classificados de acordo com a capacidade de alteração na regulação celular, divisão baseada em grandes estudos epidemiológicos tipo caso controle (44; 45; 46; 47). A classificação taxonômica, baseada em dados parciais de sequências da região L1(maior proteína do capsídeo, representa 80% das proteínas totais do vírus) dos papilomavírus, também reflete esta divisão, embora haja divergências entre a filogenia estabelecida por sequenciamento e aquela estabelecida por similaridade fenotípica/clínica (44).

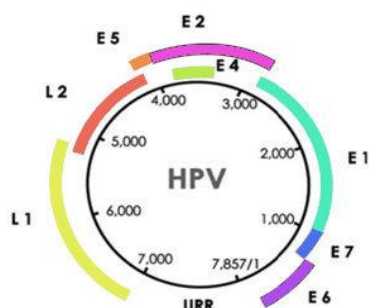
O genoma do HPV é altamente conservado, contudo os genótipos são classificados pelo sequenciamento do gene L1 em tipos, sub-tipos e variantes moleculares. Novos tipos de HPV apresentam menos do que 90% de homologia com qualquer outro tipo anteriormente caracterizado, um sub-tipo viral apresenta entre 90 e 98% de homologia e são consideradas variantes moleculares as diferenças de homologia inferior a 2% (35). Variantes virais surgem principalmente por substituições de nucleotídeos dentro de poucas posições restritas na região de codificação do genoma; na região não codificante, a variação pode ser de 5% entre as variantes de HPV (48; 49).

Testes de neutralização, que permitem a distinção entre sorotipos de vírus, não podiam ser realizados com os HPV pela dificuldade em cultivá-los em células, por isso sua classificação é feita com base nas diferenças do próprio genoma. Assim, os tipos são *genótipos* e não *sorotipos* (50).

Os HPV de baixo risco oncogênico estão agrupados nas espécies  $\alpha 1$ ,  $\alpha 8$  e  $\alpha 10$ , enquanto os de alto risco se concentram nas espécies  $\alpha 5$ ,  $\alpha 6$ ,  $\alpha 7$  e  $\alpha 9$  (36). Em relação à classificação epidemiológica, os HPVs 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 e 82 são considerados como de alto e intermediário risco oncogênico e os HPVs 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81, CP6108 como de baixo risco (Anexo1) (36, 44).

O genoma do HPV possui 8 regiões codificadoras denominadas *Open Reading Frames* (ORF). As ORF codificam genes precoces (E-early), E1, E2, E4, E5, E6 e E7, não-estruturais, relacionados à replicação e transcrição do genoma viral; tardios (L-late), L1 e L2, que são genes responsáveis por formar a estrutura do vírus, codificando proteínas do capsídeo maior e menor, respectivamente; e a região controladora, URR

(Figura 1). Ainda há uma região regulatória denominada LCR entre as regiões L1 e E6, onde se encontra a origem da replicação viral (40; 41; 42).



**Figura 1.** Representação esquemática do genoma do HPV. Fonte: Adaptado de Ferraz, Santos, Discacciati (51).

Segundo Doorbar, 2005 (52), o ciclo normal da infecção pelo HPV passa por cinco etapas consecutivas: 1) infecção, 2) manutenção do genoma, 3) fase proliferativa, 4) amplificação genômica e 5) síntese e liberação de novas partículas virais.

Nas lesões cutâneas benignas associadas ao HPV, o genoma viral encontra-se separado do DNA celular e surge um plasmídeo extra-cromossômico, também chamado de corpo episomal. Contudo, nas lesões malignas, que não fazem parte da história natural do HPV, o DNA viral se integra ao DNA do hospedeiro e leva a alterações morfológicas e no controle do ciclo celular. Na oncogênese são alterados o funcionamento dos genes humanos supressores p53 (responsável pela proteína celular supressora de tumor) ou pRb que monitoram a saúde celular, mantendo a integridade dos cromossomos e a execução correta das diferentes fases do ciclo, normalmente levando a célula alterada a apoptose (40).

Quando ocorre a integração do genoma do HPV no DNA da célula, há a ruptura do gene E2, que inibe a expressão dos genes E6 e E7. A proteína E6 atua degradando a proteína celular supressora de tumor, p53, que resulta no aumento da instabilidade genética e acúmulo de mutações oncogênicas; E7 se liga à proteína pRb (proteína de susceptibilidade ao retinoblastoma), que deixa de regular negativamente o ciclo celular de G1(intervalo antes da divisão celular) para S (duplicação do DNA celular para divisão), levando a proliferação celular (15; 53; 54).

Na maioria dos indivíduos, as infecções por HPV são assintomáticas e transitórias, sendo que 70% das infecções novas regredem em até 1 ano, e 90% em 2 anos (55). Não está claramente definido por que a infecção pelo HPV regride em alguns indivíduos e resulta em lesões mais graves em outros. A infecção persistente com certos tipos de HPV (especialmente os tipos 16 e 18) tem sido bem documentada como um cofator necessário, porém não suficiente para o desenvolvimento do câncer cervical (56).

De acordo com Oliveira et al (57), a aquisição da infecção e persistência são dependentes do sistema imunitário do hospedeiro; os mecanismos de defesa envolvidos na regressão da infecção pelo HPV compreendem a resposta imune mediada por células, sendo necessária uma apresentação adequada aos linfócitos por proteínas do antígeno leucocitário humano (*Human Leukocytes Antigens- HLA-*) (40).

Os tipos de HPV de alto risco são capazes de acionar as vias complexas que acabam por conduzir a um câncer invasivo, em parte, devido à capacidade de oncoproteínas virais E6 e E7. Admite-se que outros fatores, em conjunto com o HPV, modulem o risco de transição da infecção cervical para a malignidade. Incluem-se entre tais fatores a suscetibilidade individual, estado imunológico e nutricional, hormônios endógenos e exógenos, tabagismo, multiparidade e infecção por outros agentes sexualmente transmitidos (54; 58).

## 2.3 Diagnóstico e rastreamento do câncer cervical

### 2.3.1 Citopatológico

A metodologia do Exame Papanicolaou, que permite o rastreamento citológico cervical é um importante procedimento para a detecção de adenocarcinomas *in situ* (AIS) e neoplasias intraepiteliais cervicais, sendo estas alterações precursoras de adenocarcinoma invasivo ou carcinoma de células escamosas do colo uterino (59).

As mudanças morfológicas nas células epiteliais cervicais são verificadas e classificadas pelo sistema Bethesda proposto em 1988, que subdivide células epiteliais escamosas anormais em quatro grupos: 1) células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS); 2) lesões escamosas intra-epiteliais de baixo grau (LSIL), abrangendo displasia leve e neoplasia intraepitelial cervical (NIC-I); 3) lesões



escamosas intraepiteliais de alto grau (HSIL), incluindo displasia moderada e neoplasia intraepitelial cervical (NIC-II) displasia severa, e carcinoma in situ (NIC-III); e 4) carcinoma invasivo (60; 61; 62; 63; 64).

Em 2001, o Sistema Bethesda reclassificou o diagnóstico de ASCUS para duas subdivisões: ASC-US para células escamosas de significado indeterminado; e ASCU-H células escamosas de significado indeterminado não descartando lesão intra-epitelial de alto grau (60).

O exame de Papanicolaou depende de alguns fatores que contribuem para sua limitação, como infraestrutura, tecnologia e necessidade de repetição em intervalos regulares (65). A interpretação dos resultados do exame do Papanicolaou também se encontra como fator limitante por ser muitas vezes subjetiva, principalmente em programas de prevenção sem garantia de qualidade, o que pode explicar as altas taxas de incidência de câncer cervical em países com nível socioeconômico baixo (61; 65).

O Papanicolaou é o exame diagnóstico mais utilizado na atenção básica de saúde. Empregado como triagem, apresenta benefícios por ser considerado rápido, eficaz e barato. Os programas de rastreamento para alterações citológicas (teste de Papanicolaou) têm obtido grande sucesso na redução da incidência de câncer e mortalidade em países onde o rastreamento de boa qualidade é disponível, ainda que resultados falso-positivos e falsos negativos sejam comuns (66; 67).

O exame histopatológico é considerado o padrão ouro no diagnóstico do câncer cervical, mesmo sendo importante para o rastreio de neoplasias, esta metodologia não confirma a presença do DNA do HPV e não permite a realização da tipagem viral (15, 62; 63; 68).

A sensibilidade dos exames de detecção do DNA do HPV tem permitido que programas baseados em citologia incorporem este exame para melhorar a sua eficácia (64). Contudo, a baixa relação entre infecção e alteração celular demanda novos estudos para essa correlação dos métodos de diagnóstico (65).

Apesar de apresentar maior sensibilidade para as infecções pelo HPV quando comparado ao exame de Papanicolaou, as metodologias como, o diagnóstico por Reação em cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction –PCR) e a captura híbrida são

menos específicas para o câncer de cólo de útero, sendo recomendado quando o resultado for positivo para HPV, realizar o teste citológico com maior frequência. Quando nos programas de prevenção são utilizadas estratégias que unem duas metodologias esses se mostram mais eficazes (68).

Nos Estados Unidos da América, a recomendação para o início do rastreamento do câncer do colo do útero é aos 21 anos de idade, sendo que mulheres abaixo dessa faixa etária não devem ser rastreadas, independentemente da idade do início da relação sexual ou outros fatores de risco (69; 70). A partir dos 21, até os 29 anos recomenda-se o rastreamento a cada 3 anos. Mulheres com idade entre 30-65 anos devem realizar o exame de citologia e o teste DNA-HPV a cada 5 anos, preferencialmente, ou somente a citologia a cada 3 anos. No Brasil, o rastreamento do câncer cervical é priorizado para mulheres de 25 a 60 anos, uma vez por ano e, após dois exames anuais consecutivos negativos, a cada três anos (8). Na América do Sul e Central, os programas de prevenção do câncer do colo do útero abrangem boa parte da população, porém a qualidade do diagnóstico e o acesso ao tratamento são fracos, e os índices de câncer cervical são os maiores do mundo (62; 71).

De acordo com alguns estudos, mulheres que realizaram o exame de detecção do DNA do HPV em conjunto com a triagem para lesão cervical, comparadas a mulheres submetidas somente ao exame de Papanicolaou, reduziram a frequência de neoplasias intraepiteliais ou câncer cervical. Este dado demonstra uma redução dos custos em estratégias de triagem de lesão cervical preconizadas a cada 3 ou 5 anos que incluem a detecção do DNA do HPV como prevenção primária e a citologia como secundária, quando comparadas à estratégias em que o exame citológico anual é realizado isoladamente (72; 73; 74).

### 2.3.2 Diagnóstico Molecular

O reconhecimento da infecção pelo HPV como causa necessária para o câncer cervical tem gerado um interesse no uso de teste DNA do HPV para a triagem e prevenção (75). As técnicas de Biologia molecular vêm sendo incorporadas gradativamente na prática clínica, sendo importante a busca de evidências do seu real benefício para a população (76).

Nos Estados Unidos, a utilização combinada de citologia e rastreio primário do HPV tem sido aprovada para mulheres com mais de 30 anos. No entanto, na maioria dos países, como o Brasil, por exemplo, a triagem baseada em citologia é o método de rastreio padrão (75).

Testes moleculares de detecção de DNA-HPV apresentam maior sensibilidade do que o exame citopatológico, porém possuem menor especificidade, podendo levar mulheres saudáveis desnecessariamente à colposcopia, mas algumas evidências demonstram que essa limitação pode ser contornada utilizando a triagem citológica em casos positivos para DNA-HPV oncogênico, encaminhando para a colposcopia apenas as mulheres em que o teste foi positivo e o exame citopatológico revelou alguma alteração (77). Há algumas indicações de que anormalidades endometriais tendem a ser encontradas em mulheres com Células Glandulares Atípicas (AGC - Atypical Glandular Cells) e um teste de HPV negativo, enquanto que anormalidades escamosas e glandulares do colo do útero são mais comuns em pessoas com um teste de HPV positivo. Estes dados sugerem que o teste de HPV pode ajudar a determinar a área em que o processamento inicial deve ser focado: no colo do útero ou no canal do endométrio/uterino (78; 79; 80).

A PCR é utilizada para detecção, genotipagem e quantificação da carga viral, podendo ser combinada com métodos que facilitem a determinação do tipo viral específico, tais como RFLP, Linear Array, PCR Multiplex, e também métodos que quantifiquem a carga viral como a PCR em tempo real (81; 82).

O teste de captura híbrida é um dos métodos mais utilizado para detectar o DNA do HPV em amostras clínicas, porém sete tipos de HPV de alto risco (34, 53, 66, 67, 70, 73, candHPV85) não estão dentro do espectro de detecção desta metodologia. Além disso, um estudo que comparou as metodologias de PCR e captura híbrida, demonstrou que a técnica de PCR possui maior sensibilidade para detectar o DNA do HPV em amostras clínicas (83). Estes achados justificam o uso da PCR como uma ferramenta para diagnóstico e obtenção de informação sobre a infecção pelo HPV (83).

O sucesso do diagnóstico molecular está diretamente relacionado à escolha da região alvo e dos oligonucleotídeos iniciadores (primers) a serem utilizados, que podem

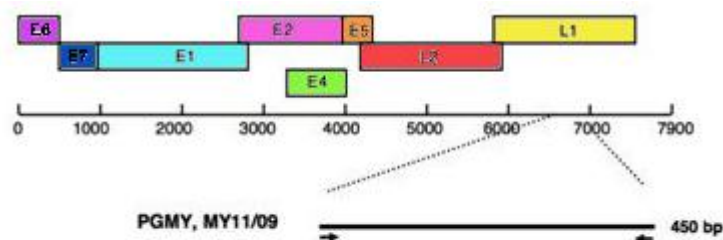
ser genéricos ou tipo-específicos (84). A região L1 conservada do genoma é complementar aos oligonucleotídeos iniciadores genéricos e frequentemente utilizada como alvo para diagnóstico do HPV, sendo amplamente utilizado, o conjunto PGMY09/11 consiste na mistura de primers codificados separadamente além do primer HMBO (Tabela 1) (85).

**Tabela 1.** Sequência de primers PGMY09/11

<b>Primers</b>	<b>Sequência (5'-3')</b>
<b>PGMY11-A</b>	GCA CAG GGA CAT AAC AAT GG
<b>PGMY11-B</b>	GCG CAG GGC CAC AAT AAT GG
<b>PGMY11-C</b>	GCA CAG GGA CAT AAT AAT GG
<b>PGMY11-D</b>	GCC CAG GGC CAC AAC AAT GG
<b>PGMY11-E</b>	GCT CAG GGT TTA AAC AAT GG
<b>PGMY09-F</b>	CGT CCC AAA GGA AAC TGA TC
<b>PGMY09-G</b>	G CCA AGG GGA AAC TGA TC
<b>PGMY09-H</b>	CGT CCA AAA GGA AAC TGA TC
<b>PGMY09-I</b>	G CCA AGG GGA AAC TGA TC
<b>PGMY09-J</b>	CGT CCC AAA GGA TAC TGA TC
<b>PGMY09-K</b>	CGT CCA AGG GGA TAC TGA TC
<b>PGMY09-L</b>	CGA CCT AAA GGG AAT TGA TC
<b>PGMY09-M</b>	CGA CCT AGT GGA AAT TGA TC
<b>PGMY09-N</b>	CGA CCA AGG GGA TAT TGA TC
<b>PGMY09-P</b>	G CCC AAC GGA AAC TGA TC
<b>PGMY09-Q</b>	CGA CCC AAG GGA AAC TGG TC
<b>HMB01b</b>	GCG ACC CAA TGC AAA TTG GT

Tabela de primers de acordo com GRAVITT et al., 2000 (85). O pool de primers, PGMY11 contém cinco oligonucleotídeos iniciadores, e o PGMY09 contém um total de 13 oligonucleotídeos iniciadores.

A PCR multiplex realizada com este conjunto de primers é capaz de identificar maior gama de genótipos do HPV, permitindo melhor diagnóstico das amostras por ser mais amplo, sem deixar de ser específico (Figura 2). Na ressuspensão deste pool de primers, cada oligonucleotídeo participa em igual concentração na mistura, gerando um produto de 450 pares de bases (pb) (84; 85; 86).



**Figura 2.** Primers utilizados para detecção e genotipagem na ORF L1. Fonte: Adaptado de <http://dellybeandiary.ordpress.com/2011/02/06/hpv-detection/>

Devido às diferenças na atividade oncogênica do HPV, é clinicamente importante identificar exatamente os tipos de HPV através de metodologias mais simples e que demandem menor tempo. A técnica de polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição (RFLP) utiliza quatro enzimas de restrição (PstI, HaeIII, DdeI, RsaI) e um algoritmo de genotipagem original (Anexo 2), permitindo a discriminação de todos os tipos de HPV (87). Este ensaio dá informações complementares aos métodos disponíveis comercialmente, e pode também ser financeiramente vantajoso (87).

#### 2.4 Epidemiologia

Apesar dos resultados promissores obtidos nas últimas décadas, com o rastreamento de mulheres assintomáticas por exames de Papanicolau e, mais recentemente, com o advento das vacinas contra o HPV, o câncer do colo do útero é uma doença que apresenta cerca de 530 mil novos casos e 275 mil mortes por ano (88).

A infecção genital pelo HPV é uma das doenças sexualmente transmissíveis (DST) mais frequente na mulher e no homem (89). Alguns tipos causam apenas verrugas cutâneas em humanos e outros causam lesões oncogênicas, especificamente na região anogenital, afetando cerca de 20% a 40% da população feminina sexualmente ativa (55; 90).

O HPV16 é o tipo de HPV mais comum em todo o mundo, com 58,9% de prevalência, seguido do HPV18, com 15% (44). Mulheres positivas para HPV16/18 apresentam um risco de 20% de desenvolver lesões NICIII no período de 10 anos, enquanto que aquelas positivas para outros HPVs oncogênicos apresentam um risco de 2% (91).

A prevalência de infecção por HPV depende da população estudada (população em geral, mulheres em serviços de saúde com citologia normal, mulheres com alterações na citologia) e da técnica de citologia ou identificação viral utilizada. Na população feminina, a prevalência da infecção por HPV varia de 2 a 44% (45) (Anexo 3). A prevalência mundial de infecção por HPV em mulheres sem alterações cervicais é de 11-12%, com taxas mais elevadas na África Subsaariana (24%), Europa Oriental (21%) e América Latina (16%) (102). Informações do *HPV Information Centre do Instituto Catala d'Oncologia*, divulgado pela OMS em 2009, demonstra prevalência de 13,2% para a América do Sul e 14,1% para o HPV em mulheres com citologia normal no Brasil (103).

Segundo a OMS, mais de 630 milhões de homens e mulheres (1:10 pessoas) estão infectados pelo HPV (104). Cerca de 105 milhões de pessoas são positivas para o HPV 16 ou 18 no mundo (105). Para o Brasil, estima-se um número de 9 a 10 milhões de infectados por esse vírus e que, a cada ano, 700 mil casos novos surjam, podendo ser considerada, portanto, uma epidemia (106). A prevalência da infecção pelo Papilomavírus Humano de alto risco no Brasil é estimada em torno de 18%, com diferenças regionais, observando-se variação importante na predominância dos diferentes tipos de alto risco, nas diferentes populações (107).

Taxonomicamente os HPVs 31/33/35/52 e 58 pertencem à espécie *Human Papillomavirus* 16 do gênero *Alphapapillomavirus*, estando entre os oito tipos de HPVs mais prevalentes no câncer cervical invasivo (108). É interessante observar que o HPV 52 e o HPV 58 são os tipos mais prevalentes na Ásia (104). Nas Filipinas o HPV 52 é o mais prevalente em mulheres com lesão cervical (109). No Japão, e em Hong Kong, na China, o HPV58 é o segundo genótipo mais prevalente, com uma porcentagem de 15 e 23% respectivamente (109). No Brasil, o HPV58 foi encontrado como o segundo mais prevalente em Belém - PA e Brasília – DF (100; 101). Estudos realizados com mulheres de origem mexicana e espanhola, e um estudo na Argentina, também encontraram o HPV 58 como o segundo mais prevalente (111; 112; 113).

A idade é considerada um consistente determinante da infecção por HPV, hipótese esta confirmada por muitos estudos epidemiológicos que indicam maior risco dessa infecção em mulheres mais jovens (114; 115; 116). Uma possível hipótese para a

maior prevalência da infecção por HPV em jovens seria um processo de maturação cervical ainda não totalmente completo, que as tornam mais expostas a novas infecções ou mesmo a persistência viral (117).

Na faixa etária de 21 a 25 a prevalência de HPV é de 46%, 36% entre 36 a 40 anos, e 22% acima dos 45 (103), padrão que pode ser observado devido a atividade sexual. Uma explicação possível para isso seria o desenvolvimento de resposta imunológica adaptativa pelos indivíduos infectados, que poderia prevenir a aquisição de uma infecção futura (45). Porém, alguns estudos em diferentes regiões do mundo evidenciaram queda dos valores da prevalência entre as mulheres com idade entre 35 e 54 anos, e um segundo pico após os 55 anos. (45; 118).

A razão para este segundo pico ainda não está clara. As possíveis explicações envolvem a reativação de uma infecção latente (com carga viral abaixo do nível detectável) devido à perda gradual de imunidade tipo-específica, ou a mudança dos padrões de comportamento sexual nas últimas décadas (tanto do homem quanto da mulher), com aquisição de novas infecções (45; 63).

Uma infecção por HPV ativa é susceptível de ser dependente de atividade sexual recente, portanto, adquirida recentemente, ao passo que a infecção latente ou persistente pode ter sido influenciada pelo comportamento sexual passado. Um maior número de parceiros sexuais ao longo da vida pode aumentar o risco de se infectar com um ou mais tipos de HPV ao longo do tempo (119).

Estudos sugerem que hormônios sexuais podem ser um fator adicional para influenciar a infecção viral. O uso prolongado de contraceptivos orais pode ser considerado um dos fatores de risco para aquisição do HPV e da displasia cervical, indicando assim que determinadas concentrações de estrogênio e progesterona podem ser estimuladoras para ativação subsequente de genes de HPV, servindo como receptores do elemento de resposta do vírus dentro da célula (120; 121).

Mudanças hormonais associadas à idade também podem ser consideradas um fator para a infecção em mulheres após os 60 anos, pois poderiam alterar a suscetibilidade à infecção (122). O período trans-menopausa e após a menopausa caracterizam-se por significativa e progressiva redução da produção de hormônios

esteróides ovarianos, causando repercussões sobre o sistema urogenital, predispondo ao maior risco para estas infecções (122; 123).

## 2.5 Vacina para o HPV

Até o momento foram desenvolvidas e registradas duas vacinas contra HPV: a vacina quadrivalente recombinante, que confere proteção contra os tipos de HPV 6, 11, 16 e 18, e a vacina bivalente, que confere proteção contra os tipos 16 e 18 (124).

A vacina contra o HPV é a mais recente estratégia de proteção às lesões associadas à infecção por HPV e na prevenção do câncer cervical. Esta vacina é composta pela proteína do capsídeo viral L1, produzida com partículas semelhantes ao vírus (VLP) que induzem fortemente a resposta humoral com anticorpos neutralizadores (125), mostrando uma proteção significativa contra a infecção com um número limitado de tipos de HPV relacionados filogeneticamente (125).

A vacina contra o HPV parece exibir proteção cruzada parcial contra outros tipos filogeneticamente relacionados aos HPVs 16 e 18, fator que deve ser visto como um benefício que talvez possa ocorrer em alguns indivíduos (76). Um estudo realizado no Panamá avaliou a proteção cruzada da vacina bivalente para tipos de HPV filogeneticamente relacionados, considerando a correlação do HPV16 com os HPVs 31, 52, 58; e HPV18 com o HPV45 – foram identificados os anticorpos neutralizantes para os tipos de HPV 31/45, mas não para os tipos HPV 52/58 (126).

O benefício máximo da vacina é alcançado em meninas jovens, de 11 a 15 anos, que ainda não iniciaram a atividade sexual, porém jovens com idade entre 16 e 26 anos, que já iniciaram a relação sexual e podem ter novos parceiros no futuro, também se beneficiam com a vacina (127; 128).

A imunidade conferida pela vacina tem duração prévia de 9,4 anos, valor ainda não confirmado devido ao pouco tempo em que a vacina é comercializada no mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, apesar de haver proteção cruzada para ambas as vacinas, bivalente ou quadrivalente, os estudos existentes ainda não conseguiram determinar a relevância clínica, tampouco a duração dessa proteção (76).



O Ministério da Saúde, em 2014, por meio do Programa Nacional de Imunizações (PNI), iniciou a campanha de vacinação para meninas de 09 a 13 anos contra o vírus HPV (129). A vacina quadrivalente (Gardasil), adotada por este programa, oferece proteção contra os dois HPV de alto risco (hrHPVs - High-risk human papillomavirus) encontrados em 70% de todos os casos de CC (Câncer cervical) (HPV-16 e HPV-18), bem como a proteção de dois HPV de baixo risco (lrHPV-low-risk human papillomavirus) que causa cerca de 90% dos casos de verrugas genitais (HPV-6 e HPV-11) (94).

A eficácia das vacinas contra o HPV para a redução da incidência de CC vai depender de uma série de fatores, incluindo a cobertura da mesma, a ação atingida com uma, duas ou três doses, o grau de proteção cruzada contra os tipos de HPV não incluídos nas vacinas, e a prevalência dos genótipos para os quais a elas não fornecem proteção (94; 129).

Nos últimos anos, vários estudos têm realizado uma avaliação econômica em relação à vacina contra o HPV, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, com o intuito de demonstrar a relação custo-efetividade de sua introdução nos sistemas de saúde. A maioria dos estudos apontou que a vacina contra HPV, quando combinada aos métodos de rastreio tradicionais, é custo-efetiva (124).

São escassos os dados disponíveis que descrevem as distribuições de genótipos do HPV em câncer cervical. A vacinação em adolescentes para a prevenção primária da infecção pelo HPV e métodos para detectar a infecção por tipos cancerígenos surgiram como abordagens para a prevenção do câncer cervical. Estudos de base populacional da prevalência do genótipo do HPV são necessários para prever como estas abordagens podem influenciar a prevenção do câncer cervical (130).

A infecção persistente com genótipos específicos de papilomavírus humano é a principal causa de câncer cervical invasivo (CCI). Apenas alguns dos vários tipos de HPV são responsáveis pela maior parte dos casos em todo o mundo, e diferenças geográficas na sua distribuição são evidentes. Os dados de genótipos localmente predominantes são essenciais, tendo em vista a introdução de vacinas profiláticas específicas (131; 132).

## 2.6 Dourados e as Unidades Básicas de Saúde da Família

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (18), a cidade de Dourados esta localizada ao Sul do Mato Grosso do Sul com uma área de 4.086,244 Km<sup>2</sup>, contando com uma população de 196.000 habitantes e uma média de 60.000 mulheres entre 18 e 65 anos. De acordo com o Sistema de Informação da Atenção Básica (SIAB) do município de Dourados, em 2014, 85.375 mulheres de diversas faixas etárias foram cadastradas nas Equipes de Saúde da Família. Dourados possui 36 Unidades Básicas de Saúde da Família, divididas em 4 regiões.

De acordo com um estudo de revisão sobre as prevalências da infecção do colo do útero pelo HPV no Brasil, houve concentração de estudos em mulheres da região Sudeste, Sul e menor nas regiões Nordeste e Norte, sem relatos para a região Centro-Oeste. Este dado evidencia a necessidade de investigações adicionais para aumentar a abrangência das informações disponíveis sobre as mulheres brasileiras em relação à infecção pelo HPV (15)

Tozzeti et al, possui dois estudos nas duas maiores cidades do estado de Mato Grosso do Sul. Em um estudo foi avaliada a frequência de vários tipos de HPV em amostras cervicais de mulheres na cidade de Campo Grande, identificando os genotipos 11, 6, 16, 18, 45 e 66. O outro trabalho teve como objetivo estimar a frequência de infecção por Papilomavírus Humano em acadêmicas sexualmente ativas, na faixa etária de 18 a 35 anos, nos municípios de Dourados e Campo Grande, identificando com maior frequência os tipos virais HPV45 seguido pelo HPV16 e HPV31 (133; 134).

Estudos realizados com a população atendida pelo sistema único de saúde no estado de Mato Grosso do Sul não foram identificados. Em um país de grandes dimensões e diversidade socioeconômica e cultural é possível inferir que as populações de mulheres apresentem riscos diferentes para os fatores associados à infecção pelo HPV. Investigações adicionais são necessárias para aumentar a abrangência das informações disponíveis, e para isso é essencial conhecer os fatores que contribuem para a regressão, progressão e persistência da infecção do colo do útero pelo HPV, na perspectiva de identificar os grupos de maior vulnerabilidade e risco para a doença, e

assim avançar em estratégias norteadoras de políticas públicas de saúde através de estudos de base populacional (15).

### **3. OBJETIVOS**

#### 3.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência da infecção por HPV e seus tipos virais predominantes; bem como a presença de alterações celulares em mulheres atendidas na rede pública de saúde, no município de Dourados.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Determinar a prevalência da infecção por HPV.
- Identificar as principais alterações citológicas presentes nos resultados da colpocitologia oncótica.
- Analisar diferentes fatores de risco relacionados à presença de infecção por HPV e neoplasias.
- Identificar os tipos virais de HPV predominantes na população estudada.

#### 4. REFERÊNCIAS

1. Fedrizzi EN. Epidemiology of the genital HPV infection. Rev. Bras. Pat. Trato. Inf 2011; 1 (1):38.
2. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, G Bruni, Muñoz N, et al. Prevalência e distribuição mundial genótipo de DNA cervical papilomavírus humano em mulheres com citologia normal: Uma meta-análise. Lancet Infect Dis. 2007; 7: 453-9.
3. Eklund C, Forslund O, Wallin KL, Dillner J. Global improvement in genotyping of human papillomavirus DNA: the 2011 HPV LabNet International Proficiency Study. J Clin Microbiol. 2014 Feb;52(2):449-59.
4. Rosenblatt C, Pereyra eAG, Arap S, Pinnotti JA, Lucon AM. HPV prevalence among partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. International journal of gynecology. USA. 2004; v.84, n.2, p. 156-161
5. de Sanjose S, Quint WGV, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, Tous S, Felix A, Bravo LE, Shin HR., Pesquisa Internacional Retrospectiva e HPV tendências temporais Grupo de Estudo. Human papillomavirus atribuição genótipo em câncer cervical invasivo: um estudo mundial transversal retrospectivo. Lancet Oncol 2010 ; 11: 1048-1056.
6. International collaboration of epidemiological studies of cervical cancer. Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. International journal of cancer, Genève, v. 118, n.6, p. 1481-1495, mar. 2006.

7. International collaboration of epidemiological studies of cervical cancer. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *The Lancet*, Boston, v. 370, n. 9599, p. 1609-1621, nov. 2007.
8. Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Divisão de Apoio à Rede de Atenção Oncológica. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero / Instituto Nacional de Câncer. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Divisão de Apoio à Rede de Atenção Oncológica. – Rio de Janeiro: INCA, 2011.
9. BRASIL. INCA - Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2014. Incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014.
10. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia das Doenças do Papilomavírus Humano. Guia do HPV. São Paulo, 2013.
11. Rama CH, Roteli-Martins CM, Derchain SFM, Longatto-Filho A, Gontijo RC, Sarian LOZ, et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. *Revista de Saúde Pública*. 2008;42:123-30.
12. Ayres ARG, Silva GAe. Prevalência de infecção do colo do útero pelo HPV no Brasil: revisão sistemática. *Revista de Saúde Pública*. 2010;44:963-74.
13. International collaboration of epidemiological studies of cervical cancer. Cervical carcinoma and sexual behavior: collaborative reanalysis of individual data on 15,461 women with cervical carcinoma and 29,164 women without cervical carcinoma from 21 epidemiological studies. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, Philadelphia, v. 18, n. 4, p. 1060-1069, abr. 2009.
14. Pereira SMM, Utgawa ML, Maeda MYS, Pittoli JE, Aguiar LS, Longatto Filho A. Implantação do teste de captura de híbridos no Instituto Adolfo Lutz. *Bol Inst Adolfo Lutz*. 2003; 13: 1 - 4.
15. Coser J, da Rocha Boeira T, Simon D, Kazantzi Fonseca AS, Ikuta N, Lunge VR. Prevalence and genotypic diversity of cervical human papillomavirus infection among women from an urban center in Brazil. *Genet Mol Res*. 2013;12(4):4276-85.

16. Anttila A et al. Cervical cancer screening policies and coverage in Europe. *Eur J Cancer*. 2009; 45(15):2649-5.
17. Arbyn M et al. The challenges of organising cervical screening programmes in the 15 old member states of the European Union. *Eur J Cancer*. 2009b; 45(15): 2671-8.
18. Sundstrom K, Eloranta S, Sparen P, Arnheim Dahlstrom L, Gunnell A, Lindgren A, et al. Prospective study of human papillomavirus (HPV) types, HPV persistence, and risk of squamous cell carcinoma of the cervix. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010 Oct;19(10):2469-78.
19. Murray P. A 9-Valent HPV Vaccine in Women. *N Engl J Med*. 2015 Jun 25;372(26):2568.
20. Carvalho JJM – Manual Prático do HPV – Papilomavírus Humano – Instituto Garnet – São Paulo, 2004.
21. Yamamoto LSU, Alves VAF. Histórico. In: Bibbo, M.; Moraes Filho, A. Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital. *Revinter*. 1998. p. 1-2.
22. Santos NSDO, Wigg MTV, Dutra M. Introdução à virologia humana. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008.
23. Rivoire WAR, Capp E, Corleta HE, Silva ISB. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 2001, 47(2): 179-84.
24. Richart RM. Colpomicroscopic studies of cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer*. 1996; 19(3):395-405.
25. Minotto, FN. Influência da infecção genital pelo Papilomavírus Humano no ciclo de resposta sexual feminina. São Paulo, Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, USP, 2009.
26. zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1977; 78:1–30
27. Meisels A, Morin C. & Casas-Cordero M.. Human papillomavirus infection of the uterine cervix. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 1982. 1, 75.
28. Gissmann L, zur Hausen H. Partial characterization of viral DNA from human genital warts (*Condylomata acuminata*). *Int J Cancer*. 1980 May 15; 25(5): 605–609.
29. Zur Hausen H. *Condylomata acuminata* and human genital cancer. *Cancer Res*. 1976 Feb; 36(2 pt 2): 794.

30. Shamanin V, Glover M, Rausch C, Proby C, Leigh IM, zur Hausen H, de Villiers EM. Specific types of human papillomavirus found in benign proliferations and carcinomas of the skin in immunosuppressed patients. *Cancer Res.* 1994 Sep 1; 54(17):4610–4613.
31. NAUD, P. et al. Infecção pelo papiloma vírus humano (HPV). *Revista HCPA*, v.20, n.2, p. 138-142, ago. 2000.
32. Green M, Brackmann KH, Sanders PR, et al. Isolation of a human papillomavirus from a patient with epidermodysplasia verruciformis: Presence of related viral DNA genomes in human urogenital tumors. *Proc Natl Acad Sci.* 1982 Jul; 79(14): 4437-41.
33. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Monographs in Human Papillomaviruses. 1<sup>st</sup> ed. Lyon: Iarc; 1995. p.64.
34. Parellada CI, Campaner AB, Aldrighi, JM. Papilomavírus humano: mitos, verdades e novos conceitos. In: Aldrighi, JM; Campaner, AB.. (Org.). Aldrighi JM; Campaner AB. - Ginecologia - Série das Evidências à Prática. 1ed. São Paulo: Atheneu, 2013, v. 1, p. 193.
35. International Committee on Taxonomy of Viruses. ICTV approved virus orders, families and genera. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm> . Acessado em 24/08/2015).
36. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004 Jun 20; 324 (1):17-27.
37. Chen Z, de Freitas LB, Burk RD. Evolution and classification of oncogenic human papillomavirus types and variants associated with cervical cancer. *Methods Mol Biol.* 2015;1249:3-26.
38. Buck CB, Cheng N, Thompson CD et al. Arrangement of L2 within the Papillomavirus Capsid. 2008 Jun; 82(11): 5190-7.
39. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 2003 Jan; 16(1):1- 17.
40. Trabulsi LR. microbiologia. 5<sup>a</sup> Ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

41. Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. [Human papillomavirus and cervical neoplasia]. *Cad Saude Publica*. 2009;25(5):953-64.
42. Rosales R, Rosales C. Immune therapy for human papillomaviruses-related cancers. *World J Clin Oncol*. 2014 Dec 10;5(5):1002-19.
43. Gurgel, APAD, et al. Prevalence and Genetic Variability in Capsid L1 Gene of Rare Human Papillomaviruses (HPV) Found in Cervical Lesions of Women from North-East Brazil. *Biomed Research International*. Vol 2013, Article ID 546354, 7 p.
44. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):518-27.
45. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006 Mar 30; 24 Suppl 1:S1-15.
46. Zanotti KM, Belinson J. Update on the diagnosis and treatment of human papillomavirus infection. *Cleve Clin J Med*. 2002 Dec; 69 (12):948, 51-5, 56 passim.
47. Castro TPPG, Bussoloti FI. Prevalência do papilomavírus humano (HPV) na cavidade oral e na orofaringe. *Rev. Bras. Otorrinolaringol*. [serial on the Internet]. 2006 Apr [cited 2013 Apr 06]; 72(2): 272-282.
48. Munoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*. 2006 Aug 31; 24 Suppl 3:S3/1-10.
49. Bernard HU. Gene expression of genital human papillomavirus and considerations on potential antiviral approaches. *Antiviral Ther.*, 7 (4), 2002, pp. 219–237.
50. White DO & Fenner FJ. *Medical Virology*, San Diego, Academic Press, 1994, 603 p.
51. Ferraz LC, Santos ABR, Discacciati MG. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intraepitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. *J Health Sci Inst*. 2012; 30 (2): 107-11.
52. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*. 2005; 32S:S7–S15.
53. Schiffman MH. Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Journal of the National Cancer Institute*. 84(6): 394-398, 1992.



54. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res* 2002; 89(2): 191-199.
55. Franco ED, Steben M. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecol Oncol* 2007; 107: S2-S5.
56. Amaro-Filho SM, Golub JE, Nuovo GJ, Cunha CB, Levi JE, Villa LL, et al. A comparative analysis of clinical and molecular factors with the stage of cervical cancer in a Brazilian cohort. *PLoS One*. 2013;8(3):e57810.
57. Oliveira LB, Louvanto K, Ramanakumar AV, Franco EL, Villa LL. Polymorphism in the promoter region of the Toll-like receptor 9 gene and cervical human papillomavirus infection. *J Gen Virol*. 2013 Aug;94(Pt 8):1858-64.
58. Bernard HU, Calleja-Macias IE, Dunn ST. Genome variation of human papillomavirus types: phylogenetic and medical implications. *Int J Cancer*. 2006 Mar 1;118(5):1071-6.
59. Umezawa T, Umemori M, Horiguchi A, Nomura K, Takahashi H, Yamada K, et al. Cytological variations and typical diagnostic features of endocervical adenocarcinoma in situ: A retrospective study of 74 cases. *Cytojournal*. 2015;12:8.
60. Barcelos AC, Michelin MA, Adad SJ, Murta EF Atypical squamous cells of undetermined significance: Bethesda classification and association with Human Papillomavirus. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2011: 904674.
61. Bhatla N, Moda N. The clinical utility of HPV DNA testing in cervical cancer screening strategies. *Indian J Med Res*. 2009 Sep; 130(3): 261-5.
62. Kitchener HC, Castle PE, Cox JT. Chapter 7: Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine*. 2006 Aug; 24 Suppl 3: S3/63-70.
63. Bezerra SJS, et al. Perfil de mulheres portadoras de lesões cervicais por HPV quanto aos fatores de risco para o câncer de colo uterino. *DST- J bras Doenças Sex Transm*, v. 17, n. 2, p.143-148, 2005.
64. Tulio S. et al. Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico de lesões de alto grau. *J Bras Patol Med Lab*. v. 43, n. 1, p. 31-35, fevereiro 2007.
65. Terrazas S et al. Human papillomavirus testing in cervical cancer screening at a public health service of Santiago, Chile. *Rev. méd. Chile*, Santiago, v.

143, n.1, Jan. 2015. Disponível em: <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872015000100007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872015000100007&lng=en&nrm=iso)>. Acessado em 22/07/2015.

66. ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Results of a randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 188:1383-1392.

67. World Health Organization. Agency for Research on Cancer – IARC. Histopathology and cytopathology of the Uterine Cervix – Digital Atlas. Histopathologie et Cytopathologie du Col Utérin – Atlas Numérique. Edited by L. Frappart, B. Fontanière, E. Lucas et R. Sankaranarayanan. Autumn, 2004. Disponível em: <http://screening.iarc.fr/atlascyto.php?lang=1>. Acessado em 13 de julho de 2015.

68. Gonçalves CS. Expressão de proteínas RAP1 recombinantes e produção de anticorpos antiRAP1: potencial uso como biomarcador no diagnóstico de tumores. Ministério da Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Dissertação de Mestrado, dezembro, 2013.

69. Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, et al. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis.* 2005; 191(11):1808-16.

70. Agency for Healthcare Research and Quality – AHRQ. Screening for Cervical Cancer: A Decision Analysis for the U.S. Preventive Services Task Force, Rockville, 2011.

71. Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM, et al. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med.* 2009 Apr; 360(14): 1385-94.

72. Cuzick J, Mayrand MH, Ronco G, Snijders P, Wardle J. Chapter 10: New dimensions in cervical cancer screening. *Vaccine.* 2006 Aug; 24 Suppl 3: S3/90-7.

73. Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgren K, et al. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N Engl J Med.* 2007 Oct; 357(16): 1589-97.

74. Chow IH, Tang CH, You SL, Liao CH, Chu TY, Chen CJ, et al. Cost-effectiveness analysis of human papillomavirus DNA testing and Pap smear for cervical

cancer screening in a publicly financed health-care system. *Br J Cancer*. 2010 Dec; 103(12): 1773-82.

75. Flores YN, Bishai DM, Lorincz A, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Hernandez M, et al. HPV testing for cervical cancer screening appears more cost-effective than Papanicolaou cytology in Mexico. *Cancer Causes Control*. 2011 Feb;22(2):261-72.

76. BRASIL. Ministério da saúde secretaria de vigilância em saúde departamento de vigilância de doenças transmissíveis coordenação geral do programa nacional de imunizações. Guia prático sobre o HPV, perguntas e respostas. Brasília, novembro, 2013.

77. Leinonen M et al. Age-specific evaluation of primary human papillomavirus screening vs conventional cytology in a randomized setting. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(23):1612-23.

78. Zeferino LC, Rabelo-Santos SH, Villa LL, Sarian LO, Costa MC, do Amaral Westin MC, et al. Value of HPV-DNA test in women with cytological diagnosis of atypical glandular cells (AGC). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2011 Nov;159(1):160-4.

79. Antoneli CBG, Ribeiro KB, Sredni ST, Arias, VEA, Andreoli MA, de Camargo B, Sobrinho, JS, Prado, JCM, Soares FA, Villa, LL. Low prevalence of HPV in Brazilian children with retinoblastoma. *Journal of Medical Virology (Print)*, v. 83, p. 115-118, 2011.

80. Villota C, Vidaurre S, Campos A, Oliveira-Cruz L, Boccardo E, Burzio V, Varas M, Villegas J, Villa LL, Valenzuela P, Socias M, Roberts S, Burzio LO . Expression of mitochondrial ncRNAs is modulated by high risk HPV oncogenes. *Journal of Biological Chemistry (Online)*, v. N, p. N-N, 2012.

81. Winn JRW. et al. Koneman - Diagnóstico microbiológico: texto e atlas. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006.

82. Rodrigues AD et al. Comparacao das tecnicas de captura de hibridos e PCR para a deteccao de HPV em amostras clinicas. *J Bras Patol Med Lab*. v. 45. n. 6. p. 457-462. Dezembro 2009.

83. Rodrigues AD, Cantarelli VV, Frantz MA, Pilger DA, et al. (2009). Comparação das técnicas de captura de híbridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 45: 457-462.
84. Pitta DR, et al. Prevalência dos HPV 16, 18, 45 e 31 em mulheres com lesão cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2010; 32(7): 315-20.
85. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlee F, Hildesheim A, et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol.* 2000 Jan;38(1):357-61.
86. Haws ALF, Burchell NA, Winer RL, Sanjosé S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine.* 2006; 24(S3):52-61.
87. He Q, Rady PL, et al. Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5+/6+ primer sets improves detection of HPV DNA in cervical samples. *J Virol Methods.* 2004 Dec; 122(1):87-93.
88. Nobre RJ, de Almeida LP, Martins TC. Complete genotyping of mucosal human papillomavirus using a restriction fragment length polymorphism analysis and an original typing algorithm. *J Clin Virol.* 2008 May;42(1):13-21.
89. Jemal A, Bray F, Centro de MM, Ferlay J, Ward E, et al. As estatísticas de câncer globais . *Cancer J Clin CA*, 2011. 61 : 69-90.
90. Bravo IG, de Sanjose S, Gottschling M. The clinical importance of understanding the evolution of papillomaviruses. *Trends Microbiol.* 2010 Oct;18 (10):432-8.
91. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, Rush BB, Glass AG, Schiffman M. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Jul; 97(14): 1072-9.
92. Vieira RC, Monteiro Jdo S, Manso EP, Dos Santos MR, Tsutsumi MY, Ishikawa EA, et al. Prevalence of type-specific HPV among female university students from northern Brazil. *Infect Agent Cancer.* 2015;10:21.

93. Silva DP, Ribas-Silva RC. Prevalência de Mulheres Infectadas pelo Papilomavírus Humano em Ubitatã-Paraná. *SaBios: Rev. Saúde e Bio*, p. 69-76, 2013.
94. Figueiredo Alves RR, Turchi MD, Santos LE, Guimaraes EM, Garcia MM, Seixas MS, et al. Prevalence, genotype profile and risk factors for multiple human papillomavirus cervical infection in unimmunized female adolescents in Goiania, Brazil: a community-based study. *BMC Public Health*. 2013; 13:1041.
95. Oliveira GR, Vieira VC, Barral MFM, Döwich V, Soares MA, Conçalves CV, de Martinez AMB. 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(5): 226-32
96. Entiauspe LG, Silveira M, Nunes EM, Basgalupp SP, Stauffert D, Dellagostin JOA, et al. High incidence of oncogenic HPV genotypes found in women from Southern Brazil. *Braz J Microbiol*. 2014; 45(2):689-94.
97. Augusto EF, Santos LS, Oliveira Ldo H. Human papillomavirus detection in cervical scrapes from women attended in the Family Health Program. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2014 Jan-Feb; 22 (1):100-7.
98. Miranda PM, Pitol BC, Moran MS, Silva NN, Felix PM, Lima-Filho JL, et al. Human papillomavirus infection in Brazilian women with normal cervical cytology. *Genet Mol Res*. 2012; 11 (2):1752-61.
99. Girianelli VR, Thuler LC, e Silva GA. [Prevalence of HPV infection among women covered by the family health program in the Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, Brazil]. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2010 Jan; 32(1):39-46.
100. Camara GNL, Cerqueira DM, Oliveira APG, Silva EO, Carvalho LGS, Martins CRF. Prevalence of Human Papillomavirus Types in Women with Pré-neoplastic Cervical Lesions in the Federal District of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003 Oct; 98(7): 879-883. 21.
101. NORONHA, Vânia Lúcia. et al. Papilomavírus humano (HPV) em mulheres submetidas a rastreamento para câncer de cérvix uterina, Belém - Pará - Brasil. *DST j. bras. doenças sex. transm.*, Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 5-11, 2011.

102. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F12-23.
- 103.
104. Fedrizzi EM, Schlup CG, Menezes ME, Ocampos M. Infecção pelo papilomavírus humano (HPV) em mulheres de Florianópolis, Santa Catarina, J. Brás. *Doenças Sex Transm*. 2008; v.20, p.73-79.
105. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Globocan 2002 cancer incidence. Mortality and prevalence worldwide. *IARC Cancer Base* 2004; 5: 123-9.
106. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a metanalysis. *Br J Cancer* 2003; 88(1): 63-73.
107. Giraldo PC, Silva MJPM, Fedrizzi EN, Gonçalves AKS, Amaral RLG et al. Prevenção da Infecção por HPV e Lesões Associadas com o Uso de Vacinas. *J bras Doenças Sex Transm* 2008; 20(2): 132-40.
108. Novaes HMD, Silva GA, Ayres AR, Rama C, Padovan J, Sartori AM, Soárez PC, Neto JF. Projeto “Avaliação tecnológica de vacinas para a prevenção de infecção por papilomavírus humano (HPV): estudo de custo-efetividade da incorporação de vacina contra HPV no Programa Nacional de Imunizações/PNI do Brasil” Instituição: Departamento de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina da USP, 2010.
109. Sasagawa T, Bash W, Yanazaki H, Inow M. High –risk and multiple human papilomavirus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidem Biomarkers Prev*, 2001, 10: 45-52.
110. Miyashita M, Agdamag DM, Sasagawa T, Mitsushita K, Salud LM, Salud CO, Saikawa K, Liano PS, Pagcaliwagan T, Acuna J, Ishizak A, Kagliama S, Ichimura H. High-risk HPV types in lesions of the uterine cervix of female commercial sex, warkers in the Philippines. *J. Med. Virol*. 81 (3); 2009:345 – 51.
111. Giuliano AR, Papenfuss M, Abrahamsen M, Denman C, Zapien JG, Henze JL, et al. Human papillomavirus infection at the United States-Mexico border. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2001; 10(11): 1129-36.

112. Touze A, de Sanjose S, Coursaget P, Almirall MR, Palacio V, Meijer CJL, Kornegay J, Bosch FX 2001. Prevalence of anti-human papillomavirus type 16, 18, 31 and 58 virus-like particles in women in the general population and in prostitutes. *J Clin Microbiol* 39: 4344-4348.
113. De Luca GD, Lucero RH, Martin de Civeta MT, Vicente L, Gorodner OLZ, Schelover E et al. Human Papillomavirus genotypes in women with cervical cytological abnormalities from an area with high incidence of cervical cancer. *Rev Inst Med Trop SP* 2004 Jan-Feb; 46(1): 9-12.
114. Takakuwa K, Mitsui T, Iwashita M, Kobayashi I, Suzuki A, Oda T, et al. Studies on the prevalence of human papillomavirus in pregnant women in Japan. *J Perinat Med.* 2006; 34(1): 77-9.
115. Dempsey AF, Mendez D. Examining future adolescent human papillomavirus vaccine uptake, with and without a school mandate. *J Adolesc Health.* 2010;47:242–8.
116. Moscicki AB, Ma Y, Wibbelsman C, Powers A, Darragh TM, Farhat S, et al. Risks for cervical intraepithelial neoplasia-3 among adolescents and young women with abnormal cytology. *Obstet Gynecol.* 2008;112:1335–42.
117. Molano M, Posso H, Weiderpass E, van den Brule AJ, Ronderos M, Franceschi S, et al. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. *Br J Cancer.* 2002;87(3):324-33.
118. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of Human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32 Suppl 1: S16-S24.
119. Lenselink CH, Melchers WJG, Quint WGV, Hoebbers AMJ, Hendriks JCM, Massuger LFAG, et al. Sexual behaviour and HPV infections in 18 to 29 year old women in the pre-vaccine era in the Netherlands. *PLoS One.* 2008.
120. Shew ML, McGlennen R, Zaide N, Wisterheim M, Ireland M, Anderson S. Oestrogen receptor transcripts associated with cervical human papillomavirus infection. *Sex Transm Infect.* 2002; 78: 210-4.
121. Hwang LY, Ma Y, Benningfield SM, Clayton L, Hanson EN, Jay J, et al. Factors that influence the rate of epithelial maturation in the cervix in healthy young women. *J Adolesc Health.* 2009;44:103.

122. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P, et al. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer*. 2001; 91(3):412-20.
123. Herrero R, Castle PE, Schiffman M, Bratti MC, Hildesheim A, Morales J, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005; 191(11):1796-807.
124. Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde – BRATS. Câncer de colo de útero: a vacina para prevenção do HPV e o desafio para a melhoria da qualidade do rastreamento no Brasil. Ano VI nº 17 | Dezembro de 2011.
125. Lowy DR, Schiller JT. Prophylactic human papillomavirus vaccines. *J Clin Invest*. 2006 May; 116(5): 1167-73.
126. Kemp TJ, Hildesheim A, Safaeian M, Dauner JG, Pan Y, Porras C, et al. HPV16/18 L1 VLP vaccine induces cross-neutralizing antibodies that may mediate cross-protection. *Vaccine*. 2011 Mar 3;29(11):2011-4.
127. Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Paavonen J, Iversen OE, et al. High sustained efficacy of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus types 6/11/16/18 L1 virus-like particle vaccine through 5 years of follow-up. *Br J Cancer*. 2006 Dec; 95(11): 1459-66.
128. Stanley M. HPV - immune response to infection and vaccination. *Infect Agent Cancer*. 2010 Oct; 5(19): 1-6.
129. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia Prático Sobre HPV: Guia de Perguntas e Respostas para Profissionais de Saúde. Brasília: Ministério de Saúde, 2013.
130. Wheeler CM, Hunt WC, Joste NE, Key CR, Quint WG, Castle PE. Human papillomavirus genotype distributions: implications for vaccination and cancer screening in the United States. *J Natl Cancer Inst*. 2009 Apr 1;101(7):475-87.
131. Berois N, De Cremoux P, Mazal D, Sica A, Cedeira M, Caserta B, et al. Prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus genotypes in invasive carcinoma of the uterine cervix in Uruguay. *Int J Gynecol Cancer*. 2013 Mar;23(3):527-32.



132. Brotherton JM, Gertig DM. Primary prophylactic human papillomavirus vaccination programs: future perspective on global impact. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011 Aug;9(8):627-39.
133. Tozetti IA, Scapulatempo ID, Kawski VL, Ferreira AW, Levi JE. Multiple types of human papillomavirus in cervical samples in women in Campo Grande, MS, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2006 Oct;10(5):309-10.
134. Tozetti IA. Prevalência da infecção por Papilomavírus Humano entre acadêmicas de instituições de ensino superiores nos municípios de Campo Grande e Dourados, Mato Grosso do Sul. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. Projeto aprovado pela Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul Processo 23/200.287/2009. Disponível em <http://fundect.ledes.net/index.php/project/view/p/13865/prevalencia-da-infeccao-por-papilomavirus-humano-entre-academicas-de-instituicoes-de-ensino-superior-nos-municipios-de-campo-grande-e-dourados-mato-grosso-do-sul>. Acessado em 20/08/2015.

1        **1. MANUSCRITO**

2  
3        **Low prevalence of subtypes present in the HPV vaccine in women attending the**  
4                    **public health system in a city of the Brazilian central west.**

5  
6                    **Lais Gonçalves Ortolani<sup>1</sup>, Fábio Juliano Negrão<sup>1</sup>**

7        <sup>1</sup>Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, Dourados, Mato Grosso do Sul,  
8        Brasil

9  
10  
11        **\*Correspondence of the author:**

12        Fábio Juliano Negrão (Negrão FJ)

13        Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados,

14        Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Cidade Universitária S/N, Caixa Postal 14 533,

15        CEP 79.804-970, Dourados, MS, Brazil.

16        E-mail: fabionegrao@ufgd.edu.br

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

**ABSTRACT**

Associated with the infection by the Human Papillomavirus (HPV), the invasive Cervical Cancer is the second most common malignant tumor affecting Brazilian women. The knowledge about the genotypes of the Human papillomavirus (Human papillomavirus - HPV) is fundamental to conduct intervention and to evaluate the impact of the new strategies of prevention against this illness. The purpose of this study was to determine the prevalence of HPV, identify the genotypes and to evaluate cytological change in women attending the public health system of Dourados, MS. Between October,2014 and May,2015, 458 women aged 18 to 65 years, that accept to participate of the study, answered a questionnaire for the obtainment of sociodemographic and clinical information. The biological samples were obtained in the moment of Papanicolaou test – two sample were collected, one for the realization of cell smear in glass lamina, for the cytological test, and another one for viral detection by the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, followed by genotyping by the methodology of the Restriction Fragment Length Polymorphism technique (RFLP) and confirmed by sequencing by the Sanger method. HPV prevalence was 5,9 % (N=27), the genotyping performed identified 11 types of virus, the most common being the HPV 51,53,58, and 83. There is a strong relationship between being HPV positive and not having stable sexual partner. Cytological alteration was found in 4,8 % of the patients, the consumption of alcohol and having the HPV virus was considered risk factors for these alterations. It was not found in this research any HPV virus subtypes of which the vaccines available in the public health system offers protection. The effectiveness of the vaccines against HPV for the reduction of the incidence of Cervical Cancer (CC) depends of many factors, studies about infection and genotypic diversity of HPV in a city or region are important for the establishment of effective preventive strategies against cervical cancer in terms of diagnostic procedures and prophylactic actions.

**Keywords:** HPV, Women Health, Genotyping

## 57 **Introduction**

58           With the wide distribution among all the races and socioeconomics groups, the  
59 infection by Human Papillomavirus (HPV) presents significantly prevalence among  
60 sexual active people and high association with cervical cancer, which is considered the  
61 third most common cancer among women in the world, being 530 thousands new cases  
62 diagnosed annually (1, 2).

63           HPV are classified according to its capacity of alteration in the cellular  
64 regulation (3; 4; 5; 6). According with the epidemiologic classification, HPV type 16,  
65 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82, 26, 53, 66, 70 and 73 are considered of  
66 high and intermediate oncogenic risk (for cervical cancer), and HPV 6, 11, 40, 42, 43,  
67 44, 54, 61, 72, 81, CP6108 are considered of low risk (3).

68           Until the present moment, two vaccines were developed and registered: the  
69 recombinant quadrivalent vaccine, that confers protection against the HPV types 6, 11,  
70 16, and 18, and the bivalent vaccine that confers protection against types 16 and 18 (2;  
71 7).

72           Studies have demonstrated that the vaccination against HPV, with the  
73 quadrivalent vaccine, in teenager girls in Brazil, can be a public health intersection of  
74 low cost that can substantially reduce the burden of cervical diseases and genital warts  
75 in women. (8, 9, 10). However, it is verified that usually are ignored the cost of the  
76 monitoring system of post-introduction of the vaccine, that can articulate to already  
77 existing systems, such as vaccination coverage and other adverse events, belonging to  
78 the national immunization program, but for the HPV vaccine need to associate to other  
79 systems, some already existent ( but with low coverage), such as the population-based  
80 cancer registries, or to be implanted, such as monitoring the prevalence of HPV  
81 infection by serotypes and precancerous lesions (10, 11, 12, 13, 14).

82           This study aimed to provide information about the HPV prevalence in women  
83 attended in the public health system of Dourados, covering different subpopulations of  
84 low and high risk for so obtain epidemiological indicators necessary for the  
85 implementation of future interventions in women's health, relating the prevalence to the  
86 risk factors and the most frequent subtype.

87

## 88 **Materials and Methods**

### 89 **Study type**

90 A cross-sectional study of prevalence was carried out by investigating 458  
91 women attending the Health Strategy Unit of the Family (ESF) in the city of Dourados,  
92 in the state of Mato Grosso do Sul, between October 2014 and May 2015.

93

### 94 **Population Characteristics**

95 According to data from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (15),  
96 the city of Dourados is located in the south of Mato Grosso do Sul with an area of  
97 4.086,244 Km<sup>2</sup>, counting with a population of 196.035 habitants and an average of  
98 60.000 women between 18 and 65 years.

99 According to the Information System of Primary Care from the city of  
100 Dourados, in 2014, 85.375 women of different age groups were registered in the Family  
101 Health Team. Dourados has 36 Family Basic Health Units, being 28 in the urban area,  
102 which are divided into four regions according to the numbers of residents in each one  
103 (Figure 1) (16).

104 The women included in this study belonged to the age range group of 18 to 65  
105 years, have not been immunized against HPV, attended the Family Health Strategy  
106 Units, and agreed to participate in the study by signing a Consent Term approved by the  
107 Research and Ethics Committee from Universidade Federal da Grande Dourados  
108 (UFGD) ( Committee opinion number: 860.790/2014). Patients undergoing treatment or  
109 suspected of cellular alteration, with disabilities that prevented them from understanding  
110 the study or to answer the questionnaire, pregnant women, indigenous people, and  
111 lacked self-independence (special and minors), were excluded from the study.

### 112 **Sampling**

113 The sampling was calculated using the software Sampsize, considering the  
114 population of 60.000 women, with confidence limit of 95%, estimated prevalence of  
115 14% and an error of 7% (17).

116 To obtain the study population, the city was divided into four regions already  
117 determined by the board of health of Dourados ( North, South, East,West), each region  
118 has a specific number of health units according to the demand of the resident population  
119 in that area.

120 Through the raffle system by conglomerate, the Family Health Strategy Units  
121 belonging to each region were randomized to obtain two health units. Samples were  
122 obtained by spontaneous demand, observing the numerical balance of collection per  
123 sector. This way was possible to cover a heterogeneous population including all socio-  
124 economic classes in the city.

#### 125 **Socio-demographic characteristics and Risk factors**

126 To characterize the population and identify risk factors related to cellular  
127 changes and HPV infection, patients who wished to participate in the study were  
128 submitted to an interview using a socio-economic and risk behavior questionnaire  
129 administered by trained students. The variables obtained during the interview were: age,  
130 color / race, nationality, place of birth, monthly income, education, age of first  
131 intercourse, sexual preference, marital status, number of partners in the last five years,  
132 number of children, number of normal births, number of abortions, numbers of cesarean  
133 sections, performed gynecological surgery, smoking, HIV carries, STD carrier, use of  
134 prescription drugs, contraceptive, use of illicit drug, use of alcohol.

#### 135 **Obtaining the biological sample**

136 Women participating of the study attended the ESF by spontaneous demand.  
137 Samples were collected by an obstetrician gynecologist and a nurse properly trained;  
138 two cervical samples were collected from each participant: one for the performing of  
139 cell smear in glass lamina, which was fixed in alcohol and forwarded to the laboratory  
140 where it was held cytological test by the Papanicolaou technique, and another one to  
141 perform the detection and genotyping the HPV through molecular techniques.

## 142 **Biological analysis**

143           The cervical smear were analyzed and classified according to Bethesda as  
144 normal/inflammatory cells, atypical squamous cells of undetermined significance  
145 (ASCUS), atypical granular cells (AGC), low-grade squamous intraepithelial lesion  
146 (LSIL), high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) and adenocarcinoma in situ  
147 (AIS) (18).

148           The DNA was extracted from cervical samples with the commercial kit  
149 Wizard® Genomic DNA Purification / Promega. The primers PGMY09/11 were used to  
150 detect HPV DNA by amplification of the viral capsid L1 region of about 450bp (base  
151 pairs) using the polymerase chain reaction (PCR) (19).As an internal control of the  
152 reaction it was used the human  $\beta$ -globulin gene (approximately 268 bp) amplified using  
153 the primers GH20 and PC04, according to Bauer et al. (20).

154           The HPV genotyping was performed by analysis of restriction fragment length  
155 polymorphism (RFLP). The PCR products were digested by restriction enzymes  
156 (*HaeIII*, *DdeI*, *PstI*, *RsaI*) and the banding pattern of each sample was analyzed by  
157 agarose gel electrophoresis 3% stained with ethidium bromide under UV light,  
158 compared to the standards of RFLP in the algorithm proposed by Noble et al, 2008 (21).  
159 Genotypes were confirmed by sequencing by the Sanger method.

## 160 **Data analysis**

161           The information obtained was entered into the database Research Electronic  
162 Data Capture (RedCap) and subjected to statistical analysis by SAS V.9.1 software  
163 (SAS Institute, Cary, NC, USA), considering the laboratorial diagnosis, risk factors and  
164 socio-demographic data. Independent factors associated with HPV infection or  
165 cytological alterations and covariates were identified by multiple logistic regression  
166 analysis with a threshold of statistical significance less than 0.10. Variables that reached  
167 a significance level in association with acquisition of the disease ( $P < 0.1$ ) were included  
168 in the multivariate analysis,  $P$  values less than or equal to 0.05 were considered  
169 statistically significant.

## 170 **Results**

171 The women participating in the study had an average age of 42 years, 69% (N =  
172 223), household income greater than a minimum wage (R\$ 788.00) and 51.05% (N =  
173 234) attended only elementary school or reported to be illiterate. Blacks and browns  
174 was the most prevalent group representing 51.53% (N = 236) of the study population. In  
175 drug use history only 0.22% (N=1) made use of illicit drugs; 11.14% (N = 51) were  
176 smokers and 14.85% (N = 85) did alcohol use.

177 The onset of sexual activity to 62.4% (N = 286) of the study participants was 17  
178 years or less. Regarding contraceptive methods, 29.9% (N = 137) make use of birth  
179 control and only 22.49% (N = 103) uses preservative always. Women who maintained a  
180 stable sexual partner during the last five years were equivalent to 71.4% (N = 327). The  
181 average number of children was 2,312 (with a confidence interval -95% CI of 2.161 to  
182 2.463).

183 It was reported cases of STDs such as candida, chlamydia, gonorrhea, syphilis,  
184 hepatitis B and AIDS in 7.37% (N = 33) of participants (Table 1).

185 As a risk factor (OR 4.834; 95% CI: 2066-11310), to have more than one sexual  
186 partner in the last five years is related to acquisition of HPV infection.

187 Consume alcohol and have the HPV virus were also considered risk factors  
188 associated with the presence of cellular changes with a relative risk of OR 4.358 (95%  
189 CI 1688-11249) and OR 4.877 (95% CI 1544-15404) respectively .

190 Other factors such as color, education, and income, being a smoker, use of  
191 contraceptive methods, number of abortions and number of children were not associated  
192 with HPV infection or cytological alterations (Table 2).

193 Most women (N = 436) showed normal cytology (95.1%), 12 cytological  
194 samples (2.6%) were excluded of the study because they presented unsatisfactory  
195 evaluation, 13 (2.8%) were identified as ASCUS (Atypical Squamous Cells of  
196 Undetermined Significance.) and 5 (1.09%) samples presented LSIL (Low-grade  
197 Squamous Intraepithelial Lesion).For the cytological alterations AGC (Atypical  
198 Glandular Cells), HSIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion) and AIS  
199 (Adenocarcinoma in situ) were found the frequencies of 0.21% (N = 1) 0.21% (N = 1)  
200 and 0.43% (N = 2) respectively.



201 The HPV infection was present in 5.9% (N = 27) of the samples, of these, 70,4%  
202 (N = 19) were positive for high-risk HPV and 29,62% (N = 8) to low-risk HPV. As  
203 expected, the altered cytology was significantly associated with HPV infection (Table  
204 3).

205 The most prevalent types identified were HPV 70, 83 and 92 which belong to the  
206 low risk group (lrHPV), and HPV51, 53 and 58 belonging to high-risk group (hrHPV).  
207 Regarding the samples that showed alterations and were positive for HPV-DNA,  
208 genotype 58 was present in 42.85% of them (N = 3). It was not found in this study any  
209 of the viral subtypes of HPV that compose the vaccine available in the public health  
210 system (Board 1).

## 211 **Discussion**

212 According to some studies, the overall prevalence of HPV infection in women  
213 with normal cytology in Brazil ranges from 10.4% and 24.5%, considering 14% as a  
214 general average (17; 22). In our study, we found a prevalence of 5.9%, considered low  
215 when compared to other Brazilian studies, probably because these include women under  
216 18 years of age who typically have higher prevalence of HPV infection (23, 24).

217 Although the analysis do not indicate an association between the number of  
218 sexual partners and HPV infection, there was a strong relationship between being HPV  
219 positive and having multiple partners. Women who have had the same sexual partner  
220 for more than five years were less prone to infection, possibly because they presented  
221 lower exposure to different sexual partners and viral subtypes (25).

222 Other factors related to lifestyle, such as age at first intercourse and number of  
223 sexual partners over a lifetime, were not risk factors for acquisition of HPV infection.  
224 However, of the 27 patients positive for HPV, 55.5% (N = 15) reported initiating sex  
225 life with 17 years or less, and of these, 11 were diagnosed with high-risk HPV. Some  
226 studies adopt the age of 17 years or less to perform this type of comparison for the fact  
227 that the cervical ripening process occurs with 18 years old or more, providing protection  
228 against HPV infection and its persistence, while women under 18 years have the  
229 cervical tissue of the uterus immature and therefore more exposed to infection and  
230 persistence of the virus (26).

231 Despite of HPV87 genotype be considered as low grade, it presents a peculiarity  
232 by often be associated with immunocompetent patients, being transitory and  
233 asymptomatic (27).This association was identified in our study, where a patient who  
234 claimed to have the HIV virus (Human Immunodeficiency Virus) was diagnosed with  
235 HPV infection by genotype 87, also presenting low-grade cytological alterations.

236 Of the 458 study participants, the interval of time to perform the colpo  
237 cytopathologic test was 1,743 (year) (% CI: 1,499 - 1,994). In Brazil, cervical cancer  
238 screening is prioritized for women aged 25 to 60 years once a year, and after two  
239 consecutive negative annual exams, every three years (28).This data indicates that the  
240 screening system for cervical cancer in Dourados public health system has shown good  
241 compliance and the actions of the health teams on prevention strategies may be  
242 associated with the lower rate of HPV infection found in this study.

243 According to the Health Ministry, in Brazil, the most common types found in  
244 normal cytology samples are HPV 16, 31, 18, 6, 35, 58, 33, 11, 54 and 68; in low grade  
245 lesions are identified HPV 16, 51, 31, 18, 58, 33, 35, 39, 56 and 59; and in high-grade  
246 lesions the most prevalent are: HPV 16, 11, 58, 18, 31, 6, 45, 66 and 35 (29).The HPV  
247 genotypes found in this study differed largely from studies conducted in different  
248 regions of Brazil, which have a higher prevalence for HPV 16 and 18 (30; 31; 32; 33;  
249 34; 35; 36; 37).

250 Oliveira et al, through a study conducted in Rio Grande do Sul, in 2013,  
251 identified as the most prevalent the HPV 58, one of the viral subtypes of highest  
252 frequency found in our work (33).In Brazil, HPV 58 was found to be the second most  
253 prevalent in Belém - PA and Brasilia - DF (38; 39). Studies performed with women of  
254 Mexican and Spanish descent, and a study in Argentina, also found that the HPV 58 was  
255 the second most prevalent type(40; 41; 42). In Japan, and Hong Kong, China, the  
256 HPV58 is the second most prevalent genotype, with a percentage of 15 and 23%  
257 respectively (43).

258 Epidemiological studies show that only a small portion of women infected with  
259 high-risk HPV progress to high-grade squamous intraepithelial lesions and cancer. In

260 our study, 87,71% (N = 6) of patients positive for HPV presented infection with  
261 subtypes considered high risk, but none of them was HSIL or AIS (44).

262 In the multivariate analysis the risk factor associated with cytological changes  
263 was the use of alcohol ( $P<0.01$ ). Some studies show that the viral load of HPV  
264 (especially high-risk type) associated with alcohol consumption, has effect on viral  
265 persistence and synergistically increases the risk of cytological abnormalities  
266 (45). Besides these considerations, the alcohol affects the defense mechanisms involved  
267 in the regression of HPV infection that comprise the immune response, being that the  
268 immune status of the limited host is a risk factor of transition from cervical infection to  
269 malignancy (46; 47).

270 In Brazil, two vaccines against HPV - one against types 6, 11, 16 and 18 and the  
271 other against types 16 and 18 - designed to pre-teen children, are being used as a  
272 primary preventive measure for cervical cancer. It is recommended that immunization  
273 be performed for those between 9-26 years, but in public health system, the offer is  
274 from 9 to 13 years, being administered in three doses (37).

275 Randomized clinical trials have shown almost complete protection against viral  
276 subtypes 16 and 18 (48). However, to evaluate the efficacy of vaccination against HPV  
277 in relation to decreasing of cervical cancer incidence it is need a long term to observe  
278 data relating to loss of efficacy in the population caused by new HPV types not included  
279 in the vaccination panel (48, 49). Uncertainties also exist regarding the future dynamics  
280 of the development of vaccines for HPV types of low and intermediate risk in relation to  
281 the degree and duration of cross-protection of current vaccines against other types (48).

282 Recently, economic evaluation results of the quadrivalent vaccine were  
283 published in Brazil, in which were compared the screening strategies (according to  
284 national guidelines and 63% of coverage) and vaccination of pre-teen girls with three  
285 doses (with coverage of 50, 70 and 90%) (10). The cost of vaccination, using the  
286 acquisition cost of the vaccine, according to the Pan American Health Organization  
287 (PAHO) per dose in 2011 is of US\$ 15.15. Assuming a total cost of the series of three  
288 vaccines of R\$ 72.72 (US\$ 45.45) (8).

289 A study developed by a group of researchers linked to the Albert Sabin Vaccine  
290 Institute, Harvard School of Public Health, Pan American Health Organization (PAHO),  
291 Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and the, Institut Català d'Oncologia,  
292 Barcelona / Spain, in six selected countries in Latin America and the Caribbean:  
293 Argentina, Brazil, Chile, Colombia, Mexico and Peru, whose results were released so  
294 far still in the form of a report (Constenla, 2008), highlights in its conclusions that  
295 despite the introduction of the vaccine is cost-effective for all countries (using the  
296 criteria proposed by WHO), provided that with cost per girl vaccinated below R\$ 75,  
297 the spending on vaccine represent, even with this value, an important economic impact  
298 for the countries (50).

299 The HPV vaccine appears to show partial cross-protection against other types  
300 phylogenetically related to HPV 16 and 18, factor that should be seen as a benefit that  
301 might occur in some individuals (51).A study conducted in Panama evaluated the cross-  
302 protection of bivalent vaccine for HPV types phylogenetically related, considering the  
303 correlation of HPV16 with HPV 31, 52, 58; and HPV18 with HPV45 - neutralizing  
304 antibodies were identified for HPV types 31/45, but not for HPV types 52/58 (52).

305 The investigation of the genotypic diversity of HPV in a city or region is  
306 important for the establishment of effective preventive strategies against cervical cancer  
307 in terms of diagnostic procedures and prophylactic actions (22).

308 This study has some limitations, the characteristic of the population may be a  
309 selection bias for the low prevalence of HPV. The fact that they often perform  
310 preventive examinations ( with average interval of 1 year) and having permanent sexual  
311 partners for more than five years characterizes this population as women with low risk  
312 for cytological alteration and acquisition of HPV and it is important to note that none of  
313 the study participants received the vaccine against HPV.

314 Further investigations are needed to increase the scope of the information  
315 available, it is essential to know the factors that contribute to the regression, progression  
316 and persistence of infection of the cervix by HPV, in the perspective of identify the  
317 most vulnerable and at-risk groups for the disease, and so progress on guiding strategies  
318 of public health policy through new population-based studies (21, 53).

319 The prevalence of HPV infection depends on the population of women studied  
320 (the general population, women in health services with normal cytology, women with  
321 alterations in the cytology) and cytology technique or viral identification used (54).Data  
322 on the geographical distribution, population characteristics and viral subtypes reveal  
323 important aspects for appropriate screening programs and the real impact of vaccination  
324 (55).

325 None of the genotypes found in this study comprises the HPV genotypes present  
326 in the HPV vaccine. A new vaccine, known as HPV- 9 valent, is under development  
327 with the purpose of include the HPV 31/33/45/52 and 58, of which HPV 45 and 58 were  
328 identified in this and other studies conducted in Brazil (33; 38; 39; 49; 56).

329

### 330 **Acknowledgments**

331 We are grateful to the Department of Health of Dourados for their support during the  
332 execution of our work. We thank all the coordinators of the Health Strategy Units of the  
333 Family that received us very well and assisted us during our activities. To all the women  
334 who agreed to participate of the study and trusted our work. Our thanks to the members  
335 of the research group and teachers collaborators who contributed directly or indirectly in  
336 this work.

### 337 **Funding**

338 This work received financial support from the Foundation of Support to Development  
339 of Education, Science and Technology of the State of Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

340

### 341 **References**

342 1- Russomano F. The treatment of subclinical Human Papillomavirus (HPV)  
343 cervical infection: consensus and controversy. URL: <http://www.cervical.com.br> -  
344 Jornal Brasileiro de DST. 2000; 6; 27-36.

- 345 2- Eklund C, Forslund O, Wallin KL, Dillner J. Global improvement in genotyping  
346 of human papillomavirus DNA: the 2011 HPV LabNet International Proficiency Study.  
347 J Clin Microbiol. 2014 Feb;52(2):449-59.
- 348 3- Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al.  
349 Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical  
350 cancer. N Engl J Med. 2003 Feb 6;348(6):518-27.
- 351 4- Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus  
352 infection. Vaccine. 2006 Mar 30; 24 Suppl 1:S1-15.
- 353 5- Zanotti KM, Belinson J. Update on the diagnosis and treatment of human  
354 papillomavirus infection. Cleve Clin J Med. 2002 Dec; 69 (12):948, 51-5, 56 passim.
- 355 6- Castro TPPG, Bussoloti FI. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral  
356 cavity and oropharynx. Brazilian Journal of Otolaryngology. [serial on the Internet].  
357 2006 Apr [cited 2013 Apr 06] ; 72(2): 272-282.
- 358 7- Brazilian Health Technology Assessment Bulletin (BRATS). Cervical cancer:  
359 vaccine to prevent HPV and the challenge to improve the tracking quality in Brazil.  
360 Year VI No. 17 | December 2011.
- 361 8- Kawai K, de Araujo GT, Fonseca M, Pillsbury M, Singhal PK. Estimated health  
362 and economic impact of quadrivalent HPV (types 6/11/16/18) vaccination in Brazil  
363 using a transmission dynamic model. BMC Infect Dis. 2012;12:250.
- 364 9- Jit M, Demarteau N, Elbasha E, Ginsberg G, Kim J, Praditsitthikorn N, et al.  
365 Human papillomavirus vaccine introduction in low-income and middle-income  
366 countries: guidance on the use of cost-effectiveness models. BMC Med. 2011;9:54.
- 367 10- Novaes HMD, Silva GA, Ayres AR, Rama C, Padovan J, Sartori AM, Soárez  
368 PC, Neto JF. Project "Technological evaluation of vaccines for the prevention of  
369 infection with human papillomavirus (HPV): cost-effectiveness study of the HPV  
370 vaccine uptake in the National Immunization Program / PNI Brazil". Institution:  
371 Department of Preventive Medicine, USP School of Medicine, 2010.
- 372 11- Markowitz LE, Hariri S, Lin C, Dunne EF, Steinau M, McQuillan G, et al.  
373 Reduction in human papillomavirus (HPV) prevalence among young women following  
374 HPV vaccine introduction in the United States, National Health and Nutrition  
375 Examination Surveys, 2003-2010. J Infect Dis. 2013 Aug 1;208(3):385-93.

- 376 12- Saraiya M, Goodman MT, Datta SD, Chen VW, Wingo PA. Cancer registries  
377 and monitoring the impact of prophylactic human papillomavirus vaccines: the potential  
378 role. *Cancer*. 2008 Nov 15;113(10 Suppl):3047-57.
- 379 13- Howlett RL, Miller AB, Pasut G, Mai V. Defining a strategy to evaluate cervical  
380 cancer prevention and early detection in the era of HPV vaccination. *Preventive*  
381 *Medicine* 2009; 48: 423-437.
- 382 14- Novaes HMD, de Soárez PC, Silva GA, Ayres A, Itria A, Rama CH, et al. Cost-  
383 effectiveness analysis of introducing universal human papillomavirus vaccination of  
384 girls aged 11 years into the National Immunization Program in Brazil. *Vaccine*.  
385 2015;33, Supplement 1:A135-A42.
- 386 15- Brazil. Brazilian Institute of Geography and Statistics. Demographic Census  
387 2010: Population characteristics - Sample. Accessed April 11, 2012. Available at:  
388 <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>.
- 389 16- System of Information of Basic Attention (SIAB), municipality of Dourados,  
390 2014.
- 391 17- Fedrizzi EM, Schlup CG, Menezes ME, Ocampos M. Infection with human  
392 papillomavirus (HPV) in women of Florianópolis, Santa Catarina, *Brazilian Journal of*  
393 *STD*. 2008; v.20, p.73-79.
- 394 18- Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, D O'Connor, Prey M, S Raab,  
395 Sherman M, D Wilbur, Wright T Jr, Young N: Members Forum Bethesda Group  
396 Workshop 2001: The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of  
397 cervical cytology. *JAMA* 2002, 287 (16) : . 2114-9.
- 398 19- Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlee F, Hildesheim A, et al.  
399 Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol*. 2000  
400 Jan;38(1):357-61.
- 401 20- Bauer HM, Manos MM. PCR Detection of Genital Human Papillomavirus. In.  
402 Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, editors. *Diagnostic molecular*  
403 *microbiology: principals and applications*. Washington, D.C.: American Society for  
404 Microbiology; 1993. p. 407-13.

- 405 21- Nobre RJ, de Almeida LP, Martins TC. Complete genotyping of mucosal human  
406 papillomavirus using a restriction fragment length polymorphism analysis and an  
407 original typing algorithm. *J Clin Virol*. 2008 May;42(1):13-21.
- 408 22- Ayres ARG, Silva GAE. Prevalence of cervical infection by HPV in Brazil: a  
409 systematic review. *Journal of Public Health*. 2010;44:963-74.
- 410 23- Nonnenmacher B, Breitenbach V, Villa LL, Prolla JC, Bozzetti MC. Genital  
411 human papillomavirus infection identification by molecular biology among  
412 asymptomatic women. *Journal of Public Health*. 2002;36(1):95-100.
- 413 24- Carestiato FN, Silva KC, Dimetz T, Oliveira LH, Cavalcanti SM. Prevalence of  
414 human papillomavirus infection in the genital tract determined by hybrid capture assay.  
415 *Braz J Infect Dis*. 2006;10(5):331-6.
- 416 25- Rama CH, Roteli-Martins CM, Derchain SFM, Longatto-Filho A, Gontijo RC,  
417 Sarian LOZ, et al. HPV prevalence in women screened for cervical cancer. *Journal of*  
418 *Public Health*. 2008;42:123-30.
- 419 26- Pereira CR, Rosa ML, Vasconcelos GA, Faria PC, Cavalcanti SM, Oliveira LH.  
420 Human papillomavirus prevalence and predictors for cervical cancer among high-risk  
421 women from Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Gynecol Cancer*. 2007 May-Jun;17(3):651-60.
- 422 27- Menzo S, Monachetti A, Trozzi C, Ciavattini A, Carloni G, Varaldo PE, et al.  
423 Identification of six putative novel human papillomaviruses (HPV) and characterization  
424 of candidate HPV type 87. *J Virol*. 2001 Dec;75(23):11913-9.
- 425 28- National Cancer Institute (Brazil). General Coordination of Strategic Actions.  
426 Support Division Oncological Care Network. Brazilian guidelines for the screening of  
427 cervical cancer of the uterus / National Cancer Institute. General Coordination of  
428 Strategic Actions. Support Division Oncological Care Network. – Rio de Janeiro:  
429 INCA, 2011.
- 430 29- Ministry of Health (BR). National Cancer Institute (INCA). Estimate (2012).  
431 Cancer incidence in Brazil. Accessed 17 January 2013. Available at:  
432 <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012>.
- 433 30- Vieira RC, Monteiro Jdo S, Manso EP, Dos Santos MR, Tsutsumi MY, Ishikawa  
434 EA, et al. Prevalence of type-specific HPV among female university students from  
435 northern Brazil. *Infect Agent Cancer*. 2015;10:21.



- 436 31- Silva DP, Ribas-Silva RC. Prevalence of Women Infected by Human  
437 Papillomavirus in Ubiratã-PR. SaBios: Journal of Health and Biology, p. 69-76, 2013.
- 438 32- Figueiredo Alves RR, Turchi MD, Santos LE, Guimaraes EM, Garcia MM,  
439 Seixas MS, et al. Prevalence, genotype profile and risk factors for multiple human  
440 papillomavirus cervical infection in unimmunized female adolescents in Goiania,  
441 Brazil: a community-based study. BMC Public Health. 2013; 13:1041.
- 442 33- Oliveira GR, Vieira VC, Barral MFM, Döwich V, Soares MA, Conçalves CV, de  
443 Martinez AMB. Risk factors and prevalence of HPV infection in patients Basic Units of  
444 Health and a University Hospital in Southern Brazil. Brazilian Journal of Gynecology  
445 and Obstetrics. 2013; 35(5): 226-32.
- 446 34- Entiauspe LG, Silveira M, Nunes EM, Basgalupp SP, Stauffert D, Dellagostin  
447 OA, et al. High incidence of oncogenic HPV genotypes found in women from Southern  
448 Brazil. Braz J Microbiol. 2014; 45 (2): 689-94.
- 449 35- Miranda PM, Pitol BC, Moran MS, Silva NN, Felix PM, Lima-Filho JL, et al.  
450 Human papillomavirus infection in Brazilian women with normal cervical cytology.  
451 Genet Mol Res. 2012; 11 (2):1752-61.
- 452 36- Girianelli VR, Thuler LC, e Silva GA. [Prevalence of HPV infection among  
453 women covered by the family health program in the Baixada Fluminense, Rio de  
454 Janeiro, Brazil]. Rev Bras Ginecol Obstet. 2010 Jan; 32 (1): 39-46.
- 455 37- Augusto EF, Santos LS, Oliveira Ldo H. Human papillomavirus detection in  
456 cervical scrapes from women attended in the Family Health Program. Rev Lat Am  
457 Enfermagem. 2014 Jan-Feb;22(1):100-7.
- 458 38- Camara GNL, Cerqueira DM, Oliveira APG, Silva EO, Carvalho LGS, Martins  
459 CRF. Prevalence of Human Papillomavirus Types in Women with Pré-neoplastic  
460 Cervical Lesions in the Federal District of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003 Oct;  
461 98(7): 879-883. 21.
- 462 39- NORONHA, Vânia Lúcia. et al. Human Papillomavirus (HPV) in Women  
463 Screened to Cervical Uterine Cancer, Belém - Pará - Brasil. Brazilian Journal of STD,  
464 Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 5-11, 2011.

- 465 40- Giuliano AR, Papenfuss M, Abrahamsen M, Denman C, Zapien JG, Henze JL,  
466 et al. Human papillomavirus infection at the United States-Mexico border. *Cancer*  
467 *Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10(11): 1129-36.
- 468 41- Touze A, de Sanjose S, Coursaget P, Almirall MR, Palacio V, Meijer CJL,  
469 Kornegay J, Bosch FX 2001. Prevalence of anti-human papillomavirus type 16, 18, 31  
470 and 58 virus-like particles in women in the general population and in prostitutes. *J Clin*  
471 *Microbiol* 39: 4344-4348.
- 472 42- De Luca GD, Lucero RH, Martin de Civeta MT, Vicente L, Gorodner OLZ,  
473 Schelover E et al. Human Papillomavirus genotypes un womem with cervical  
474 cytological abnormalities from an area with high incidence of cervical cancer. *Rev Inst*  
475 *Med Trop SP* 2004 Jan-Feb; 46(1): 9-12.
- 476 43- Miyashita M, Agdamag DM, Sasagawa T, Mitsushita K, Salud LM, Salud CO,  
477 Saikawa K, Liano PS, Pagcaliwagan T, Acuna J, Ishizak A, Kagliama S, Ichimura H.  
478 High-risk HPV types in lesions of the uterine cervix of female commercial sex, warkers  
479 in the Philippines. *J. Med. Virol.* 81 (3); 2009:345 – 51.
- 480 44- Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N. Environmental co-factors in HPV  
481 carcinogenesis. *Virus Res* 2002; 89(2): 191-199.
- 482 45- Oh HY, Seo SS, Kim MK, Lee DO, Chung YK, Lim MC, et al. Synergistic  
483 effect of viral load and alcohol consumption on the risk of persistent high-risk human  
484 papillomavirus infection. *PLoS One.* 2014;9(8):e104374.
- 485 46- Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. [Human  
486 papillomavirus and cervical neoplasia]. *Cad Saude Publica.* 2009; 25 (5):953-64.
- 487 47- Berois N, De Cremoux P, Mazal D, Sica A, Cedeira M, Caserta B, et al.  
488 Prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus genotypes in invasive  
489 carcinoma of the uterine cervix in Uruguay. *Int J Gynecol Cancer.* 2013 Mar;23(3):527
- 490 48- Sundstrom K, Eloranta S, Sparen P, Arnheim Dahlstrom L, Gunnell A, Lindgren  
491 A, et al. Prospective study of human papillomavirus (HPV) types, HPV persistence, and  
492 risk of squamous cell carcinoma of the cervix. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*  
493 2010 Oct;19(10):2469-78.
- 494 49- Murray P. A 9-Valent HPV Vaccine in Women. *N Engl J Med.* 2015 Jun  
495 25;372(26):2568.

- 496 50- Vanni T, Luz PM, Foss A, Mesa-Frias M, Legood R. Economic modelling  
497 assessment of the HPV quadrivalent vaccine in Brazil: a dynamic individual-based  
498 approach. *Vaccine*, 30 (2012), pp. 4866–4871.
- 499 51- BRAZIL. Ministry of Health; Secretariat of Health Surveillance; Department of  
500 Communicable Disease Surveillance; General Coordination of the National  
501 Immunization Program. A practical guide for HPV, questions and answers. Brasilia,  
502 November, 2013.
- 503 52- Kemp TJ, Hildesheim A, Safaeian M, Dauner JG, Pan Y, Porras C, et al.  
504 HPV16/18 L1 VLP vaccine induces cross-neutralizing antibodies that may mediate  
505 cross-protection. *Vaccine*. 2011 Mar 3;29(11):2011-4.
- 506 53- Novaes HM, Itria A, e Silva GA, Sartori AM, Rama CH, de Soarez PC. Annual  
507 national direct and indirect cost estimates of the prevention and treatment of cervical  
508 cancer in Brazil. *Clinics (Sao Paulo)*. 2015 Apr;70(4):289-95.
- 509 54- de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, G Bruni, Muñoz N, et  
510 al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus  
511 DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7: 453-  
512 9.
- 513 55- Schiffman M. Integration of human papillomavirus vaccination, cytology, and  
514 human papillomavirus testing. *Cancer*, 2007; 111: 145-153.
- 515 56- Serrano B, de Sanjosé S, S Tous, Quiros B, Munõz N, Bosch X, Alemany L.  
516 Human papillomavirus genotype attribution for HPVs 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 and

**Table 1:** Socio-demographic characteristics, risk factors and variables associated

<b>Variables</b>	<b>N %</b>	<b>Mean</b>	<b>Standard deviation</b>
HPV positive	27 (5.9)		
Cytology positive	22 (4.8)		
<b>Sociodemographic</b>			
Age, per year/mean±	-	42.07	(40.90 – 43.24)
Single	161 (35.1)		
BMI/mean±	-	27.16	(26.60 – 27.72)
<b>State</b>			
MS	323 (70.3)		
Other	135 (29.4)		
<b>Race</b>			
White	215 (46.9)		
Brown	217 (47.3)		
Black	19 (4.1)		
Yellow	7 (1.5)		
<b>Income</b>			
≤ R\$788,00	235 (51.3)		
> R\$788,00	223 (48.6)		
<b>Education</b>			
Illiterate	19 (4.1)		
Elementary School	215 (46.9)		
High School	162 (37.3)		
Higher Education	62 (13.5)		
<b>History of drugs</b>			
Illicit drugs	1 (0.2)		
Alcohol Consumption	68 (14.8)		
Smoker	51(11.1)		
<b>Factors associated</b>			
Homosexual	9 (1.9)		
Condom use	103 (22.4)		
STD	33 (7.3)		
HIV +	8 (1.7)		
Contraceptive use	137 (29.9)		
Gynecological surgery	141 (30.7)		
Prescription drugs	137 (29.9)		
Age of 1st intercourse/mean±	-	17.37	(17.05 – 17.69)
No. of partners/mean±	-	1.36	(1.19 – 1.53)
Last preventive/mean± (frequency/year)	-	1.74	(1.49-1.99)
No. of children/mean±	-	2.31	(2.16-2.46)

Abbreviations: BMI – Body Mass Index, MS – Mato Grosso do Sul, HPV- Human Papillomavirus, STD –Sexually Transmitted Disease, HIV - Human Immunodeficiency Virus.

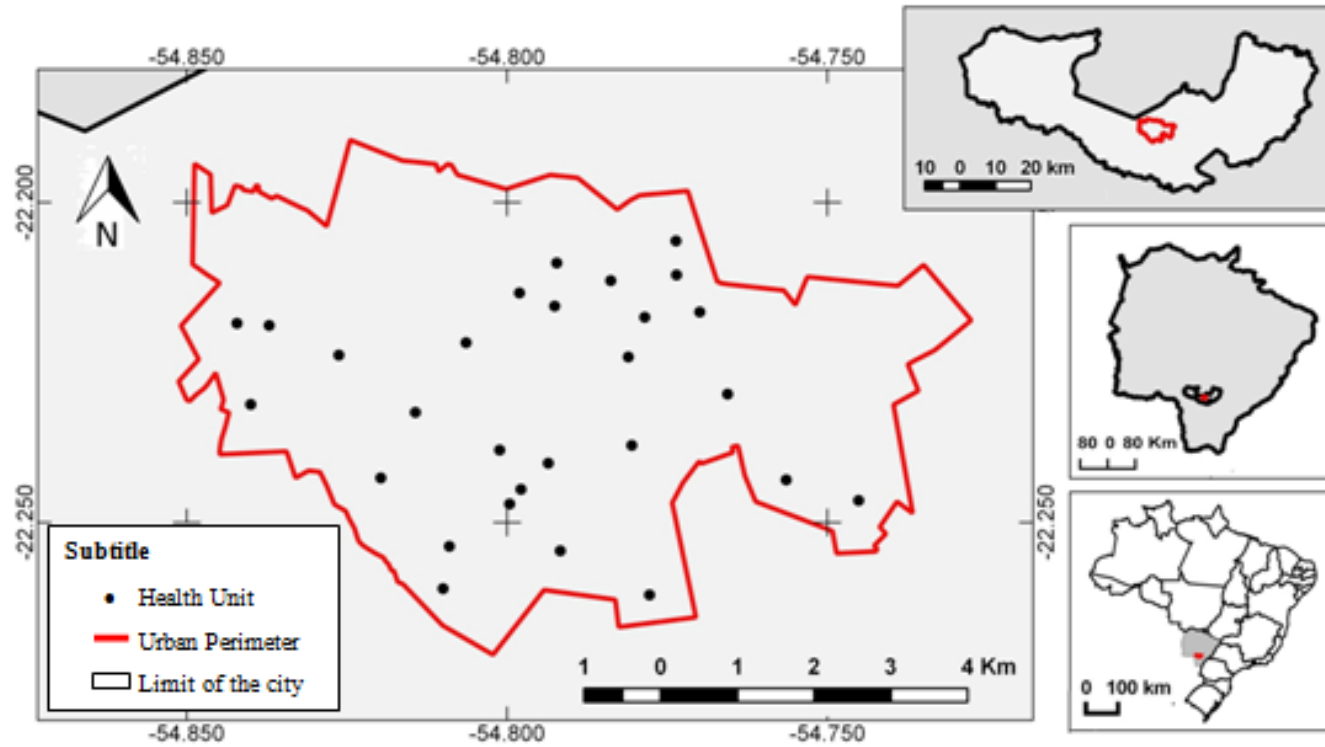
**Table 2:** Multivariate regression analysis of risk factors associated with infection by the Human Papillomavirus and cytological changes.

Variables	Cytology		HPV	
	Odds Ratio	Odds Ratio	Odds Ratio	Odds Ratio
	Gross value	Adjusted value	Gross value	Adjusted value
	Univariate	Multivariate	Univariate	Multivariate
<b>Sociodemographics</b>				
Age, per year	1.036 (1.001 – 1.070)		1.018 (0.987 – 1.049)	
Education	1.319 (0.558 – 3.118)		1.033 (0.474 – 2.249)	
Monthly income	1.388 (0.814 – 2.368)		0.888 (0.548 – 1.438)	
Multiple partners	0.525 (0.222 – 1.240)		4.834 (2.066 – 11.310)	4.834 (2.066 – 11.310)*
BMI	1.003 (0.934 – 1.077)		0.992 (0.929 – 1.061)	
<b>History of drugs</b>				
Alcohol Consumption	4.283 (1.753 – 10.464)		0.384 (0.161 – 0.916)	
Smoker	1.237 (0.353 – 4.335)	4.358 (1.688 – 11.249)*	0.526 (0.190 – 1.455)	
<b>Factors associated</b>				
Age of 1st intercourse	2.261 (0.992 – 5.503)		1.999 (0.900 – 1.153)	
Homosexual	-		0.206 (0.041 – 1.045)	
Condom use	0.919 (0.430 – 1.964)		0.706 (0.354 – 1.408)	
Contraceptive use	1.714 (0.714 – 4.113)		1.014 (0.433 – 2.377)	
Medication use	0.839 (0.321 – 2.192)		0.710 (0.316 – 1.593)	
No. of partners	0.953 (0.805 – 1.128)		1.075 (0.929 – 1.061)	
STD	1.236 (0.276 – 5.531)		0.951 (0.215 – 4.214)	
HIV	2.837 (0.334 – 24.126)		0.429 (0.051 – 3.616)	
HPV+	7.196 (2.554 – 20.274)	4.877 (1.544 – 15.404)*	-	
Cytological changes	-		7.196 (2.554 – 20.274)	
No. of children	1.494 (1.063 – 2.099)		0.964 (0.755 – 1.231)	
Normal birth	1.119 (0.844 – 1.484)		0.988 (0.788 – 1.238)	
Abortions	1.210 (0.552 – 2.651)		1.327 (0.786 – 2.241)	
Cesareans	1.623 (0.980 – 2.688)		0.979 (0.696 – 1.378)	
Gynecological surgery	0.812 (0.311 – 2.120)		0.534 (0.243 – 1.172)	
Last preventive (frequency/year)	1.309 (0.992 – 1.726)		1.019 (0.900 – 1.153)	

\* Adjusted for the significant range of the interaction between the variables (p = 0,01). Abbreviations: BMI – Body Mass Index, HPV- Human Papillomavirus, STD – Sexually Transmitted Disease, HIV - Human Immunodeficiency Virus.

**Table 1:** Frequency of viral subtypes in cytological changes

Viral subtypes	Cytology	
	Without cytological changes	With cytological changes
30	1	0
	3,70	0,00
	4,76	0,00
51	3	2
	11,11	7,41
	14,29	9,54
53	3	0
	11,11	0,00
	14,29	0,00
58	3	3
	11,11	11,11
	14,29	14,29
59	1	0
	3,70	0,00
	4,76	0,00
61	1	0
	3,70	0,00
	4,76	0,00
66	0	1
	0,00	3,70
	4,76	16,77
70	2	0
	7,41	0,00
	9,54	0,00
83	3	1
	11,11	3,70
	14,29	16,77
87	1	0
	3,70	0,00
	4,76	00,00
91	2	0
	7,41	0,00
	9,54	0,00
Total	20	6
	74,00	22,22



**Figure 1:** Distribution of Basic Units of Family Health in the urban perimeter of the city of Dourados, MS.

## 6. ANEXOS

### 6.1 Anexo 1: Divisão da família Papilomaviridae em gêneros e espécies.

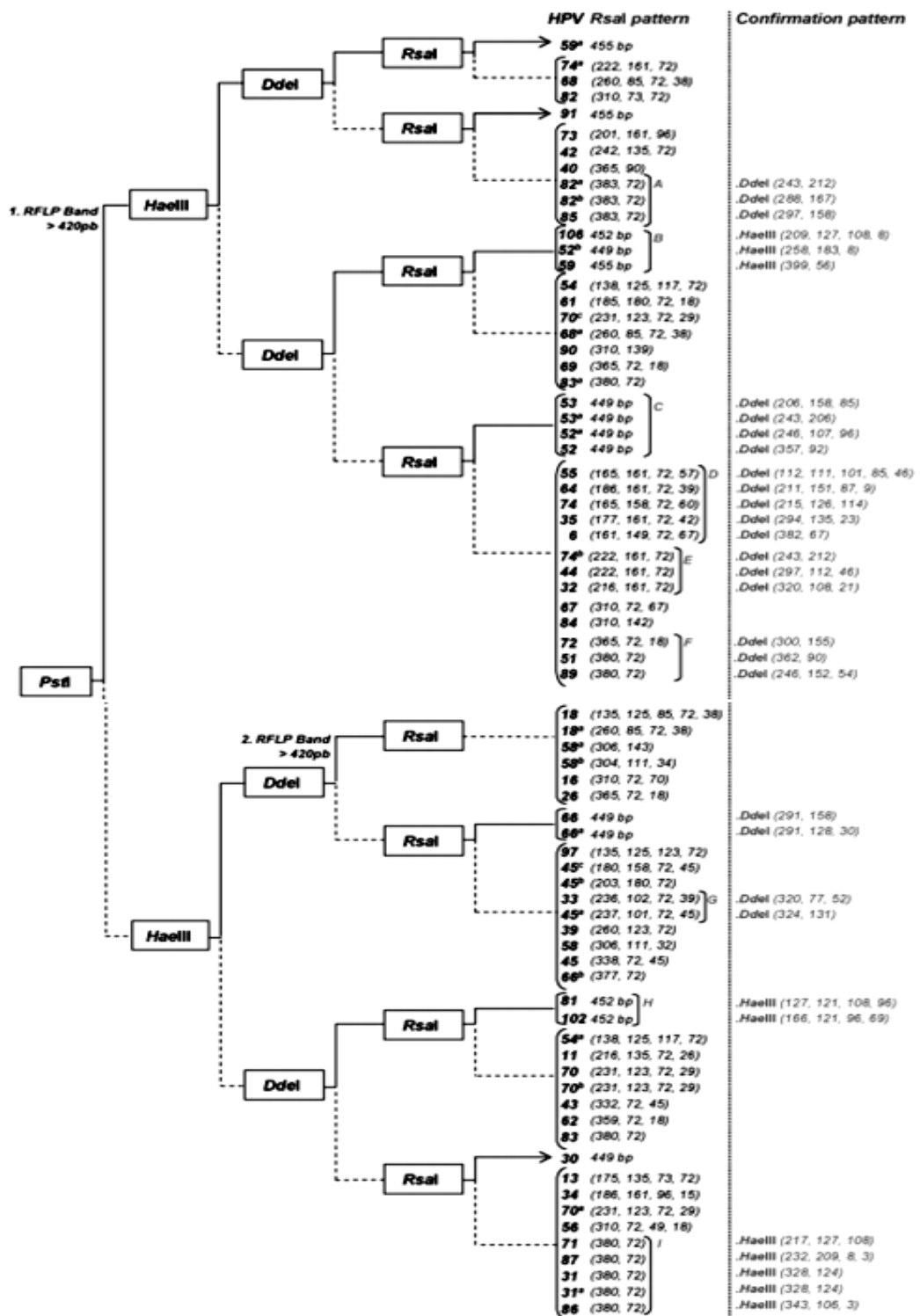
Gênero	Espécie	Principais tipos	Outros tipos	Risco oncogênico e sítio de lesões
Alpha-papillomavirus	1	HPV 32	HPV 42	Baixo risco. Mucosa oral ou genital.
	2	HPV 10	HPV 3	Baixo risco. Lesões cutâneas nas mucosas.
			HPV 28	
			HPV 29	
			HPV 78	
	3	HPV 61	HPV 94	Baixo risco. Lesões mucosas.
			HPV 72	
			HPV 81	
			HPV 83	
			HPV 84	
			*candHPV 62	
			candHPV 86	
	4	HPV 2	HPV 27	Baixo risco. Verrugas cutâneas e lesões genitais em crianças.
			HPV 57	
	5	HPV 26	HPV 51	Alto risco. Lesões mucosas.
			HPV 69	
			HPV 82	
	6	HPV 53	HPV 30	Alto risco. Lesões mucosas.
			HPV 56	
			HPV 66	
7	HPV 18	HPV 39	Alto risco. Lesões mucosas.	
		HPV 45		
		HPV 59		
		HPV 68		
		HPV 70		
8	HPV 7	candHPV85	Baixo risco. Lesões cutâneas e mucosas. Lesões cutâneas e mucosas em HIV positivo.	
		HPV 40		
		HPV 43		
9	HPV 16	candHPV 91	Alto risco. Lesões mucosas.	
		HPV 31		
		HPV 33		
		HPV 35		
		HPV 52		
		HPV 58		
10	HPV 6	HPV 67	Baixo risco. Lesões mucosas. Relatos do HPV 6 em carcinoma verrucoso.	
		HPV 11		
		HPV 13		
		HPV 44		



			HPV 74		
			**PcPV		
	11	HPV 34	HPV 73	Alto risco. Lesões mucosas.	
	12	***RhPV 1	–	Macaco Rhesus. Lesão mucosa genital.	
	13	HPV 54	–	Baixo risco. Lesões mucosas.	
	14	candHPV 90	–	Baixo risco. Lesões mucosas.	
	15	HPV 71	–	Baixo risco. Lesões mucosas.	
Beta-papillomavirus	1	HPV 5	HPV 8	Mais frequente em lesões cutâneas. Comumente associado a lesões em EV (Epidermodisplasia verruciforme) ou pacientes imunodeprimidos.	
			HPV 12		
			HPV 14		
			HPV 19		
			HPV 20		
			HPV 21		
			HPV 25		
			HPV 36		
			HPV 47		
	2	HPV 9	HPV 15	Mais frequente em lesões cutâneas. Comumente associado a lesões em EV ou pacientes imunodeprimidos	
			HPV 17		
			HPV 22		
			HPV 23		
			HPV 37		
HPV 38					
3	HPV 49	HPV 75	Lesões cutâneas benignas		
		HPV 76			
4	candHPV92	–	Lesões cutâneas malignas		
5	candHPV96		Lesões cutâneas pré- malignas e malignas.		
Gamma-papillomavirus	1	HPV 4	HPV 65	Lesões cutâneas. Corpos de inclusão intracitoplasmáticos homogêneos histologicamente distintos	
			HPV 95		
	2	HPV 48	–	Lesões cutâneas	
	3	HPV 50	–	Lesões cutâneas	
	4	HPV 60	–	Lesões cutâneas	
5	HPV 88	–	Lesões cutâneas		

\* HPVs clonados e caracterizados a partir de produtos de PCR são denominados "Candidatus HPVs" (cand HPVs) por convenção e de acordo com as diretrizes do Comitê Internacional em relação a taxonomia (16).\*\* Papilomavírus chimpanzé pigmeu (PCPV - pygmy chimpanzee papillomavirus-).\*\*\* Papilomavírus Macaco Rhesus (RhPV - rhesus papillomavirus type - ). A tabela mostra a divisão da família *Papillomaviridae* em gêneros e espécies, apresentando somente os gêneros de maior importância. Estão representados nesta tabela um tipo de cada espécie, outros tipos de papilomavírus pertencentes a estas espécies, e propriedades biológicas e patológicas de cada espécie de acordo como apresentado por de Villers et al. (2004) (36). Os representantes da espécie foram escolhidos quer porque eles são o tipo mais abrangente investigados, ou porque representam melhor as espécies, ou porque há apenas um tipo de que táxon para cada espécie.

## 6.2 Anexo 2: Algoritmo para a genotipagem do HPV segundo Nobre et al., 2008.



No algoritmo, cada caixa representa uma reação de restrição usando uma enzima específica. As linhas contínuas representam os possíveis resultados quando a digestão não ocorre, enquanto as linhas pontilhadas (- - -) representam os possíveis resultados quando ocorre a digestão. Em duas situações específicas (designadas por 1 e 2), as linhas também representam o possível resultado quando a digestão origina um fragmento de RFLP maior

do que 420 pb. O tipo de HPV é identificado em dois passos: (1) análise sequencial de ocorrência / não ocorrência de *PstI*, *HaeIII*, *DdeI* e reacções de restrição *RsaI* e (2) posterior comparação dos fragmentos de restrição obtidos por digestão com *RsaI* com os tamanhos esperados (entre parênteses) definidos para cada tipo de HPV. Nos casos em que a digestão *RsaI* não ocorre (grupos B, C e H), ou quando dois ou mais padrões de HPV apresentam *RsaI*-RFLP semelhantes (os grupos A, D, E, F, G, I), o tipo de HPV pode ser identificado por comparação dos tamanhos dos fragmentos de restrição obtidos por *DdeI* ou a digestão por *HaeIII* ("padrão de confirmação") R.J. Nobre et al. / Journal of Clinical Virology 42 (2008) 13–21 (88).

6.3 Anexo 3: Tabela 2. Prevalência da infecção por HPV em Regiões do Brasil

<b>Estudo</b>	<b>Cidade/Estado</b>	<b>N</b>	<b>Faixa etária</b>	<b>Fatores de risco associados</b>	<b>Metodologia de diagnóstico</b>	<b>Tipo Viral</b>	<b>Característica da população</b>
Vieira et al., 2015 (92).	Belém, PA	265	18 a 55	Múltiplos parceiros	PCR MY09/11	61/82	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Silva & Ribas-Silva, 2013 (93).	Ubiratã, PR	2.604	14 aos 70	Uso de anticoncepcional, multiparidade	Prontuários/ Banco de dados	Não identificado	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Figueiredo et al., 2013 (94).	Goiânia, GO	432	15 a 19	Múltiplos parceiros	PCR PC24/27	16/18/31/51	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Oliveira et al., 2013 (95).	Rio Grande, RS	302	> de 14	Idade	PCR MY09/11	16/58	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Rama et al., 2008 (11).	São Paulo e Campinas, SP	2.300	15 a 65	Múltiplos parceiros	Captura Híbrida	Não identificado	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Entiauspe et al., 2014 (96).	Pelotas, RS	251	18 a 45	Fumante	Nested – PCR	16/18/33	Ambulatório de ginecologia
Augusto et al., 2014 (97).	Niterói, RJ	351	17 a 79	Não identificado	PCR MY09/11	16	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas

Miranda et al., 2012 (98).	Ouro Preto, MG	569	18-75	Múltiplos parceiros	PCR MY09/11	16	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Girianelli et al., 2010(99).	Duque de Caxias e Nova Iguaçu, RJ	2.056	25 a 59	Não identificado	Captura Híbrida	Não identificado	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Coser et al., 2013(15).	Alta Cruz, RS	337	13 a 82	Menores de 40 anos	PCR SB01/02	16/33/61/62	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas
Camara et al., 2003 (100).	Distrito Federal, DF	159	17 a 73	-	PCR MY09/11	58/31	Ambulatório de ginecologia
Noronha et al, 2011(101).	Belém, PA	1.021	30 a 45	Alterações citológicas	-	16/58	Avaliação de rotina Pacientes assintomáticas

---

#### 6.4 Anexo 4: Normas de publicação do periódico.

##### The Journal of Infectious Diseases

*JID* publishes research results on microbiology, immunology, epidemiology, and related disciplines; on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of infectious diseases; on the microbes that cause them; and on disorders of host immune responses.

##### **Scope**

Published continuously since 1904, *The Journal of Infectious Diseases (JID)* is the premier global journal for original research on infectious diseases. The editors welcome Major Articles and Brief Reports describing research results on microbiology, immunology, epidemiology, and related disciplines, on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of infectious diseases; on the microbes that cause them; and on disorders of host immune responses. *JID* is an official publication of the Infectious Diseases Society of America.

##### **Normas para elaboração do Manuscrito**

O guia com informações e normas para elaboração do manuscrito para publicação encontra-se disponível em:  
[https://academic.oup.com/jid/pages/General\\_Instructions](https://academic.oup.com/jid/pages/General_Instructions)



## 6.5 Anexo 5: Autorização para realização da pesquisa





**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**RESOLUÇÃO Nº 193, DE 02 DE SETEMBRO DE 2013**

O Presidente do Conselho Diretor da Faculdade de Ciências da Saúde, da Fundação Universidade Federal da Grande Dourados, no uso de suas atribuições legais, RESOLVE:

Manifestar-se favorável aos pareceres emitidos da Comissão de Pesquisa Faculdade de Ciências da Saúde/FCS, abaixo relacionados:

- Parecer nº 72/213 – projeto inicial: "Caracterização da Infecção pelo Papilomavírus Humano em mulheres em idade reprodutiva na cidade de Dourados", coordenado pela prof. Fábio Juliano Negrão;
- Parecer nº 74/2013 – projeto inicial: "Efeitos do consumo da farinha de banana verde por adultos saudáveis", coordenado pela prof<sup>a</sup>. Lívia Gussoni Basile;
- Parecer nº 76/2013 – projeto inicial: "Avaliação da toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade do óleo da acrocomia aculeata (jacq.) Lodd. Ex.mart em ratos através dos testes de toxicidade aguda, toxicidade sabaguda, toxicidade reprodutiva, ensaio do cometa, teste do micronúcleo e sistema teste alluim cepa , coordenado pelo Prof.<sup>a</sup> Sílvia Aparecida Oesterreich;

Prof. Dr. Julio Henrique Rosa Croda  
Presidente do Conselho Diretor da Faculdade de Ciências da Saúde



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Caracterização da Infecção pelo Papilomavírus Humano em mulheres em idade reprodutiva, atendidas nas unidades de estratégia de saúde da família, no município de Dourados - MS

**Pesquisador:** Fábio Juliano Negrão

**Área Temática:** Genética Humana:  
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

**Versão:** 4

**CAAE:** 00931113.4.0000.5160

**Instituição Proponente:** Fundação Unid. Qual DST?

**Patrocinador Principal:** Faculdade Conf. Realizou tratamento?

6.6 Anexo 6: Aprovação do comitê de ética em pesquisa

6.7 Anexo 7: Questionário utilizado na pesquisa

Confidential

Faz uso de anticoncepcional?

- Sim
- Não

Page 3

1  
0

Qual?

Se sim, há quanto tempo?

(anos)

1  
0

Bloco D - Resultados

1  
0  
vezes

Citologia

- Células escamosas atípicas (ASC)
- Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US)
- Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL)
- Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL)
- Atipia das células glandulares (AGC)
- Adenocarcinoma in situ (AIS)
- Normal

1  
0

PCR - HPV

- Positivo
- Negativo

RFLP - sorotipo

Ultim

Número de abortos

## 6.8 Anexo 8: Termo de consentimento livre e esclarecido

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título do Projeto: **Caracterização da Infecção pelo Papilomavírus Humano em mulheres em idade reprodutiva, atendidas nas unidades de estratégia de saúde da família, no município de Dourados - MS.**

A Sra. está sendo convidada a participar do projeto ,mnde pesquisa “**Caracterização da Infecção pelo Papilomavírus Humano em mulheres em idade reprodutiva, atendidas nas unidades de estratégia de saúde da família, no município de Dourados - MS.**”

Esta pesquisa é de responsabilidade do Prof. Dr. Fábio Juliano Negrão pertencente a Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD e foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFGD com o número de protocolo - 00931113.4.0000.5160.

Esta pesquisa será realizada para descobrir se a senhora tem alterações pré-cancerígenas e possui a contaminação pelo vírus do câncer do colo do útero, determinar qual é o tipo desse vírus e avaliar como certos hábitos de vida podem influenciar em ter a doença. Também vamos testar qual é o método mais eficaz para dar o diagnóstico das alterações e do HPV. Essa pesquisa será realizada somente com as pacientes atendidas pelas Unidades de Estratégia da Saúde da Família.

A descoberta inicial das alterações no papanicolaou e da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), doença sexualmente transmissível, impede de se transmitir o vírus e o desenvolvimento do câncer de colo de útero (o HPV é responsável por aproximadamente 90% dos casos de câncer de colo de útero). Espera-se que 25 a 50% da população mundial estejam contaminadas. As pesquisas sobre HPV são a chave para compreender sobre as amplas variações na existência de câncer cervical no mundo, importantes para mapear o verdadeiro cenário em nosso país; novos estudos em outras regiões do Brasil serão indispensáveis para se avaliar em que regiões é mais urgente desenvolver formas de prevenção da infecção por HPV.

Seu nome não será revelado e os resultados dos exames serão utilizados apenas para a realização da pesquisa, que será divulgada em revistas científicas para auxiliar em outras pesquisas da mesma categoria.

Se a senhora aceitar participar da pesquisa, irá responder a um questionário que será aplicado por pesquisadores treinados e identificados, podendo haver desconforto em relação às perguntas e ao tempo para responder. Em seguida a Senhora irá realizar o exame de Papanicolaou que consiste na coleta de células do colo do útero por meio de uma pequena escova para verificar se há alterações nestas células. Também será feito o teste do ácido acético; durante o exame ginecológico, para este teste aplica-se ácido acético diluído no colo do útero, permitindo que células alteradas se apresentem com uma coloração esbranquiçada, podendo ser observadas a olho nu. Se encontradas alterações no exame de Papanicolaou será feita a conização que é um procedimento cirúrgico que possibilita a retirada de lesões do colo do útero. Utilizaremos outra escova endocervical para coletar a secreção vaginal e analisar a contaminação pelo vírus do HPV. Toda a coleta será feita por uma médica ginecologista.

Os riscos da sua participação são o constrangimento de realizar o exame e também um abalo emocional caso seu diagnóstico seja positivo. O exame será no posto de saúde, com todos os cuidados higiênicos, utilização de materiais descartáveis para coleta e realizado por profissionais experientes, haverá o acompanhamento de um psicólogo caso seja necessário.

Se a senhora não se sentir a vontade para responder a alguma pergunta do questionário, poderá informar isso para a pesquisadora, que irá interromper os questionamentos ou então passar para a próxima pergunta.

Os benefícios para a senhora são o encaminhamento pelo SUS para o tratamento adequado caso o seu diagnóstico seja positivo. Isso irá colaborar para a melhoria da sua qualidade de vida, e também para a assistência médica realizada no posto de saúde.

A senhora não terá nenhuma despesa e não receberá nenhum pagamento para participar desta pesquisa, e pode se retirar dela a qualquer momento. Isso não irá prejudicar o andamento de seu tratamento nem atendimentos posteriores realizados nos postos de saúde. Caso ocorra algum dano relacionado à sua participação na pesquisa, está garantido seu direito legal a indenização. Sempre que julgar necessário você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável pelo estudo.

Este termo será feito em duas vias, e uma delas ficará com a senhora.

**Contatos:**

**Pesquisadores Responsáveis:** Prof. Fábio Juliano Negrão. Endereço: Universidade Federal da Grande Dourados: Rodovia Dourados - Itahum, km 12, Dourados/MS. Telefones: (67) 8128-0615. Médico Responsável Prof. Dr. Luis Augusto Freire Lopes Endereço: Universidade Federal da Grande Dourados: Rodovia Dourados - Itahum, km 12, Dourados/MS. Telefones: (67) 9119-5205.

**Comitê de Ética em Pesquisa da UFGD:** Endereço: Universidade Federal da Grande Dourados: Rodovia Dourados - Itahum, km 12, Dourados/MS. Telefone: (67) 3410-2328.

**Dados Pessoais da Participante:**

Eu, \_\_\_\_\_, RG nº \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

( ) Eu quero receber o resultado do exame para HPV

( ) Eu **NÃO** quero receber o resultado do exame para HPV.

( ) Permito o armazenamento do material coletado para pesquisas futuras

Dourados, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante Voluntário

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador Responsável