



ESTRATÉGIA DA AUTOCOLETA PARA O AUMENTO DA DETECÇÃO PAPILOMAVÍRUS HUMANO

ANA PAULA MACHADO CUNHA; INÊS APARECIDA TOZETTI; ALDA MARIA
TEIXEIRA FERREIRA; CACILDA TEZELLI JUNQUEIRA PADOVANI; CARLOS
EURICO DOS SANTOS FERNANDES

RESUMO

O Papilomavírus humano (HPV) é responsável por aproximadamente 5% dos cânceres que acometem a população no mundo, estando presente em quase 100% dos casos de câncer de colo uterino. Este trabalho objetivou identificar a presença do DNA de HPV em amostras genitais obtidas pelo método de autocoleta, de pacientes atendidas no Hospital de Amor, Campo Grande/MS. Foram analisadas 491 amostras obtidas pela técnica de autocoleta. Para o diagnóstico molecular foram realizadas a extração de DNA por fenol-clorofórmio; a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para amplificação do gene da β -globina, como controle endógeno; a amplificação do DNA-HPV com os primers PGMY09/11 e a genotipagem dos tipos virais (PCR tipo específico -TS-PCR e Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP). O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS e pelo Hospital do Câncer de Barretos, Fundação Pio XII. Constatou-se que 96,4% das amostras foram viáveis para análise molecular, demonstrando que a técnica de autocoleta é uma excelente opção para o diagnóstico. DNA-HPV foi encontrado em 10,35% das pacientes analisadas. Na genotipagem por TS-PCR, encontrou-se positividade para HPV6/11 (16%), HPV16 (6,1%), HPV18 (8,1%), HPV31 (10,2%), HPV33 (2%) e HPV45 (40,8%), ressaltando a significância da detecção de genótipos de alto risco oncogênico. Na identificação dos genótipos por RFLP, foram caracterizados HPV52, 59, 89 e 91, todos do gênero Alphapapillomavirus, da família Papillomaviridae. A autocoleta de células cervicovaginais é uma técnica promissora para obtenção de amostras usadas no diagnóstico molecular do DNA-HPV, contribuindo para o acompanhamento das pacientes e prevenção do câncer de colo uterino, conforme preconizado pelo Sistema Único de Saúde em 2024, especialmente em populações de difícil acesso.

Palavras-chave: Diagnóstico; Preventivo; Triagem; Genotipagem; Câncer.

1 INTRODUÇÃO

Com uma estimativa aproximada de 17.010 (7,0%) casos a cada 100 mil mulheres, o câncer de colo de útero é o 3º mais prevalente no território brasileiro (Inca, 2022). O Papilomavírus humano (HPV) tem relação direta com praticamente todos os cânceres cervicais e muitos outros, em locais anatômicos distintos, tanto em homens quanto em mulheres, no entanto apenas 12 dos 448 tipos de HPV conhecidos são atualmente classificados como oncogênicos (Nelson, Mirabello, 2023), destacando-se principalmente o genótipo HPV16 (Inca, 2022).

O desenvolvimento do câncer cervical pode estar ligado a infecções persistentes por HPV de alto risco oncogênico, embora seja consenso que outros fatores podem estar associados no aparecimento do câncer de colo do útero, como genética, histologia e raça/etnia do hospedeiro (Nelson, Mirabello, 2023). A maioria das mulheres infectadas pelo HPV terão a remissão da infecção pelo controle da resposta imune e aquelas que persistirem infectadas

poderão desenvolver o câncer (Zur Hausen, 2002).

No Brasil para detecção do HPV-DNA, utiliza-se a coleta das células cervicovaginais por profissionais de saúde com auxílio do espécule vaginal (coleta clínica). Como estratégia alternativa, temos o uso da autocoleta de células da cérvix e canal vaginal para detecção do DNA viral em amostras cervicais, possibilitando maior cobertura para a detecção da infecção. Este método de coleta elimina a necessidade do uso do espelho vaginal (Kahn *et al.*, 2004) e a visita ao consultório médico também é dispensada. Além disso, economiza tempo, sendo menos constrangedor e mais confortável que a coleta convencional (Agorastos *et al.*, 2005).

A autocoleta tem mostrado boa concordância quando comparada à coleta convencional, com alta aceitabilidade e custo-benefício (Sowjanya *et al.*, 2009; Campos *et al.*, 2014).

Diante do exposto este trabalho objetivou identificar a presença do DNA de Papilomavírus humano em amostras cervicais e cérvico vaginal obtidas autocoleta, de pacientes atendidas no Hospital de Amor, unidade de Campo Grande – Mato Grosso do Sul.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo se pauta em uma pesquisa de caráter transversal, com amostra do tipo não probabilística por conveniência. Foram utilizados dados laboratoriais e socio-epidemiológicos obtidos da coleta de amostras cervicais e cérvico vaginais, por autocoleta de 491 participantes, durante a execução do projeto “Presença da infecção por HPV, co-infecções por outros micro-organismos e o perfil de resposta imunológica em pacientes atendidas no Hospital de Câncer de Barretos, unidade de Campo Grande – MS” Edital Chamada Universal MCTI/CNPq Nº 01/2016.

As pacientes foram convidadas a participarem do estudo, através de explicação verbal e as que mostraram interesse assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

As amostras de autocoleta foram obtidas segundo protocolo descrito por Campos *et al.*, 2014, realizado pela própria paciente, após orientação verbal e escrita. As amostras foram acondicionadas em tubo cônico do tipo Falcon de 15mL, mantidos sob refrigeração a -20°C, até o processamento, o que não excedeu 72 horas.

A extração do DNA foi realizada segundo a técnica de fenol-clorofórmio, compreendendo etapas de lise celular e nuclear, precipitação de proteínas e DNA, seguida da etapa de lavagem e eluição do DNA.

As amostras foram triadas inicialmente por PCR *end point* com a utilização dos *primers* GH20/PC04, como controle endógeno, para detecção do gene da β -globina, cujo produto amplifica uma região de 286pb (Bauer *et al.*, 1991), e com o *pool* de 18 *primers* PGMY09/11 para detecção do DNA-HPV (Gravitt *et al.*, 2000) que amplificam uma sequência conservada de aproximadamente 450pb da região L1 do genoma do HPV. As amostras que apresentaram positividade para DNA-HPV foram submetidas a técnica de genotipagem por PCR tipo específico/TS-PCR (Walboomers *et al.*, 1999) e à técnica de *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) segundo o algoritmo de identificação (Nobre *et al.*, 2008).

Este projeto faz parte do estudo “Presença da infecção por HPV, coinfeções por outros micro-organismos e o perfil de resposta imunológica em pacientes atendidas no Hospital de Câncer de Barretos, unidade de Campo Grande – MS”, tendo sua aprovação concedida pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS, sob o protocolo CAAE 54205916.4.1001.0021 de 24 de março de 2016, juntamente com a aprovação concedida pelo Hospital do Câncer de Barretos, Fundação Pio XII, sob o protocolo CAAE 54205916.4.2001.5437 de 14 de junho de 2016.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se determinar que 96,4% das amostras foram viáveis para análise molecular, demonstrando que a técnica de autocoleta é uma opção eficaz para rastreamento e diagnóstico. O DNA-HPV foi encontrado em 10,35% das participantes analisadas,

corroborando a eficiência da técnica para a detecção do DNA de HPV.

A autocoleta proposta neste estudo é uma promissora técnica de coleta de amostras, pois dispensa agendamento e pode alcançar populações geograficamente isoladas, sem acesso a serviços de saúde. Nosso grupo vem estudando há muito e com sucesso a utilização da autocoleta no diagnóstico do HPV (Campos *et al.*, 2014; Lugo *et al.*, 2018). Estudos em grandes hospitais como o Moinho de Vento em Porto Alegre e Sírio Libanes em São Paulo recentemente ofereceram a autocoleta de amostras cérvico-vaginais como método de obtenção de amostra. No entanto, o Ministério da Saúde afirma que ainda não há pedido de avaliação para a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (Conitec), tornando essencial a realização de estudos que validem essa proposta (Inca, 2011; Brasil, 2016). Novas opções de rastreamento com material cervical autocoletado têm sido testadas em diversos países, incluindo o Brasil, demonstrando ser uma solução viável para garantir a cobertura de rastreamento e acesso das mulheres ao serviço (Polman *et al.*, 2019). Além disso, estudos indicam a aceitação das mulheres de diferentes regiões e culturas quanto à autocoleta, com preferência por dispositivos mais confortáveis, reduzindo o constrangimento e aumentando a adesão aos programas de rastreamento cervical (Adcock *et al.*, 2019; Campos *et al.*, 2014).

Na genotipagem por TS-PCR, encontrou-se positividade para HPV6/11 (16%), HPV16 (6,1%), HPV18 (8,1%), HPV31 (10,2%), HPV33 (2%) e HPV45 (40,8%), ressaltando a importância da detecção de genótipos de alto risco oncogênico. A identificação dos genótipos por RFLP caracterizou a presença dos tipos HPV52, 59, 89 e 91, todos do gênero Alphapapillomavirus, da família Papillomaviridae.

A investigação da presença do DNA-HPV, tipos e carga viral para genótipos de alto risco possibilitará aos serviços de saúde a implantação de métodos ainda não disponível em serviço em público em todo o país. Conforme as diretrizes do SUS desde 2015, reforçadas em 2023 com a introdução de testes moleculares mais precisos é urgente a implantação do diagnóstico de infecção por HPV no serviço público. Estudo realizado por pesquisadores do Hospital de Amor demonstra que o método já é realidade em países da América Latina e poderia ser utilizado de forma custo-efetiva no Brasil, o país mais economicamente estável da região (Godoy *et al.*, 2022).

4 CONCLUSÃO

A autocoleta de células cérvicovaginais é uma técnica promissora para obtenção de amostras no diagnóstico molecular do DNA-HPV. Ela oferece material satisfatório para diferentes técnicas de genotipagem, contribuindo para a prevenção do câncer de colo uterino, conforme preconizado pelo Sistema Único de Saúde em 2024, especialmente em regiões de difícil acesso cultural ou geográfico.

REFERÊNCIAS

- ADCOCK, A.; CRAM, F.; LAWTON, B.; GELLER, S.; HIBMA, M.; SYKES, P.; MACDONALD, E. J.; DALLAS-KATOA, W.; RENDLE, B.; CORNELL, T.; MATAKI, T.; RANGIWHETU, T.; GIFKINS, N.; HAR, S. Acceptability of self-taken vaginal HPV sample for cervical screening among na under-screened Indigenous population. **The Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 59, n. 2, p. 1-7, 2019.
- AGORASTOS, T; DINAS, K; LLOVERAS, B; FONT, R; KORNEGAY, J.R.; BONTIS, J; DE SANJOSE, S; Self-sampling versus physician-sampling for Human papillomavirus testing. **International Journal of STD & AIDS**. v. 16, n. 11, p. 7272-729, 2005.
- BAUER, H. M.; TING, Y.; GREER, C. E.; CHAMBERS, J. C.; TASHIRO, C. J.;

CHIMERA, J.; REINGOLD, A.; MANOS, M. M. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a pcr-based method. **Jama**, v. 265, n. 4, p. 472-477, jan. 1991.

BRASIL. **Entendendo a Incorporação de Tecnologias em Saúde no SUS: como se envolver**. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde. Brasília, 2016.

CAMPOS, K. L. M.; MACHADO, A. P.; ALMEIDA, F. G.; BONIN, C. M.; PRATA, T. T. M.; ALMEIDA, L. Z.; PADOVANI, C. T. J.; FERREIRA, A. M. T.; FERNANDES, C. E. S.; TOZETTI, I. A. Good agreements between self and clinician-collected specimens for the detection of human papillomavirus in Brazilian patients. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 3, p. 352-355, apr. 2014.

GRAVITT, P. E.; PEYTON, C. I.; ALESSI, T. Q.; WHEELER, C. M.; COUTLÉE, F.; HILDSHEIM, A.; SCHIFFMAN, M. H.; SCOTT, D. R.; APPLE, R. J. Improved amplification of genital human papillomaviruses. **Journal Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 357-361, Jan. 2000.

GODOY, K. R.; POSSATI-RESENDE, J. C.; GUIMARAES, Y. M.; PEDRÃO, P. G.; REIS, R. LONGATTO-FILHO, A. Implementation of HPV tests in Latin America: What we Learned; what should we have learned, and what can we do better? **Cancers**, v. 14, n. 11, p. 2612, 2022.

INCA. **Diretrizes para o Rastreamento do Câncer de Colo de Útero**. Instituto Nacional de Câncer/Ministério da Saúde. Rio de Janeiro, 2011.

INCA. **Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva**. Estimativa 2023: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2022.

KAHN, J. A.; SLAP, G. B.; HUANG, B.; ROSENTHAL, S. L.; WANCHICK, A. M.; KOLLAR, L. M.; HILLARD, P. A.; WITTE, D.; GROEN, P.; BERNSTEIN, D. I. Comparison of adolescent and young adult self-collected and clinician-collected samples for human papillomavirus. **Obstetrics and gynecology**, v. 103, n. 5 pt1, p. 952-959, May. 2004.

LUGO, L. Z. A.; JACOB, C. B.; MACHADO, A. P.; ALMEIDA, F.; ÁVILA, L. S.; PRATA, T.T. M.; PADOVANI, C. T. J.; FERREIRA, A. M. T.; FERNANDES, C. E. S.; TOZETTI, I. A. Human papillomavirus and coinfections with Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis, and Trichomonas vaginalis in self-collected samples from female sex workers in the Central-Western region of Brazil. **Brazilian Journal of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 54, n. 1, p. 46-51, Jan.-Feb. 2018.

NELSON, C. W.; MIRABELLO, L. Human papillomavirus genomics: Understanding carcinogenicity. **Tumor vírus research**, v. 15, Jun, 2023.

NOBRE, R. J.; DE ALMEIDA, L. P.; MARTINS, T. C. Complete genotyping of mucosal human papillomavirus using a restriction fragment length polymorphism analysis and an original typing algorithm. **Journal of Clinical Virology**, v. 42, n. 1, p. 13-21, May. 2008.

POLMAN, N. J.; HAAN, Y.; VELDHUIJZEN, N. J.; HEIDEMAN, D. A. M.; VET, H. C.W.;

MEIJER, C. J. L. M.; MASSUGER, L. F. A. G.; KEMENADE, F. K. V.; BERKHOF, J. Experience with HPV self-sampling and clinician-based sampling in women attending routine cervical screening in the Netherlands. **Preventive medicine**, v. 125, p. 5-11, 2019

SOWJANYA, A. P.; PAUL, P.; VEDANTHAM, H.; RAMAKRISHNA, G.; VIDYADHARI, D.; VIJAYARAGHAVAN, K.; LAKSMI, S.; SUDULA, M.; RONNETT, B. M.; DAS, M.; SHAH, K. V.; GRAVITT, P. E. Suitability of self-collected vaginal samples for cervical cancer screening in peri-urban villages in Andhra Pradesh, India. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, V. 18, N. 5, P. 1373-1378, May. 2009.

ZUR HAUSEN, H. Papillomavírus and cancer: from basic studies to clinical application. **Nature Reviews. Cancer**, v. 2, n. 5, p. 342-450, May. 2002.