

DETECÇÃO DE *PAPILLOMAVIRUS* HUMANO (HPV) DE ALTO RISCO EM AMOSTRAS OBTIDAS POR AUTOCOLETA

Adriana Tarlá Lorenzi, PhD¹
Adhemar Longatto-Filho, PhD²

RESUMO: O câncer cervical (CC) continua a ser um importante problema na saúde pública nos países em desenvolvimento que não possuem um sistema de rastreio adequado. Grande parte das regiões brasileiras tem altos índices de mortalidade, ocupando a terceira neoplasia mais frequente na população feminina e a quarta causa de morte em mulheres por câncer no Brasil. Os programas de rastreio do CC visam melhorar a identificação das lesões precursoras deste câncer. A associação entre um teste molecular para detecção *Papillomavirus* humano (careHPV™-Qiagen, Gaithersburg, MD, USA) e citologia em base líquida em um dos programas de rastreio foi proposta com intuito de melhorar a estratégia de proteção da mulher contra o câncer cervical. A infecção persistente por HPV de alto risco (hr-HPV) é condição essencial da carcinogênese cervical. Por isso, a detecção do hr-HPV é de grande importância na identificação destas mulheres em idade de risco de desenvolver lesões. Neste estudo, visamos avaliar uma nova metodologia de suporte para o programa de rastreio do câncer cervical em mulheres de várias regiões do Brasil, utilizando o teste molecular (careHPV™) em amostras cérvico-vaginais auto coletadas, além de comparar os resultados citopatológicos.

PALAVRAS-CHAVE: Autoexame. Câncer de Colo do Útero. Prevenção de Câncer de Colo Uterino. Testes de DNA para *Papilomavirus humano*. Rastreamento.

1 INTRODUÇÃO

A infecção pelo *Papillomavirus* humano de alto risco (hr-HPV) tem sido associada diretamente às neoplasias intraepiteliais cervicais de alto grau (NIC2+) e a progressão destas lesões ao câncer cervical invasivo (DOORBAR *et al*, 2012; FORMAN *et al*, 2012; ZHAO *et al*, 2012). Testes moleculares têm sido desenvolvidos (DNA ou RNA) para identificar HPV de alto risco devido à associação da infecção persistente do vírus e o desenvolvimento do câncer, principalmente porque estes testes são confiáveis, reprodutíveis e de fácil implementação quando comparados à citologia (QIAO *et al*, 2008; ARBYN *et al*, 2014; CASTLE *et al*, 2014). O uso do teste

¹ Faculdade Alfredo Nasser, UNIFAN, Aparecida de Goiânia - GO, Brasil. E-mail: adriana.lorenzi@gmail.com.

² Centro de Oncologia Molecular, Hospital de Câncer de Barretos, SP, Brasil. Faculdade de Medicina, USP, LIM14, São Paulo, SP, Brasil. Inst. de Pesquisa em Ciências da Saúde e Vida, UMinho, Braga, Portugal.

molecular para detecção de HPV tem estado cada vez mais presente nas rotinas de prevenção de câncer do colo uterino. Quando comparado com citologia convencional ou de base-líquida, a associação com o teste molecular tem demonstrado um aumento na sensibilidade para detectar lesões intraepiteliais em torno de 20-45% (QIAO *et al.*, 2008; LIN *et al.*, 2014). A caracterização da infecção pelo HPV de alto risco é importante para determinar a real importância do vírus em uma população específica, suportando estratégias apropriadas para introduzir e manter os programas de prevenção do câncer cervical (CASTLE *et al.*, 2012; JERONIMO *et al.*, 2014). Um novo teste qualitativo de HPV-DNA (careHPV™ - Qiagen, Gaithersburg, MD, USA) aprovado pelo FDA (*Food and Drugs Agency*) foi desenvolvido para regiões de limitada infraestrutura. O teste consiste na hibridização de ácidos nucleicos *in vitro* para detecção qualitativa de 14 tipos de HPV de alto risco (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) em amostras cervicais (QIAO *et al.*, 2008; LORENZI *et al.*, 2013).

2 METODOLOGIA

Este é um estudo de intervenção, prospectivo, realizado no período de Março a Dezembro de 2012, oferecido a 2.000 mulheres, voluntárias, maiores de 18 anos, atendidas no consultório do Departamento de Prevenção do Hospital de Câncer de Barretos. Todas as mulheres participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) específico para esta pesquisa e aceito pelo comitê de ética da Instituição. O mesmo foi registrado no *Clinical Trials* (no. NCT01539668). As participantes foram encaminhadas ao consultório para a coleta do material. Foram criados dois grupos de coleta: autocoleta vs. coleta profissional, igualmente randomizados. No momento antecedente à coleta, a participante retirou um envelope em sequência numerada, que a direcionou para o grupo de coleta. Aquelas selecionadas para o grupo de autocoleta foram instruídas, individualmente, pela, com material ilustrativo, para adequada realização da coleta vaginal. Foi utilizado meio líquido careHPV™ (*Qiagen*), com escova cônica. Lembrando que, neste caso, a profissional de saúde não permaneceu no local em que a mulher realizaria o procedimento. No caso do grupo cuja amostra foi coletada por profissional de saúde, a participante foi informada de como seria realizada a coleta, semelhante ao exame

Papanicolaou (endo e ectocérvice). Estas amostras foram coletadas para citologia em base líquida, em meio *SurePath®* (BD, USA), e escova *Rover's*, de acordo com o protocolo seguido pelo Hospital de Câncer de Barretos, e posteriormente analisadas no Departamento de Patologia da Instituição. O teste molecular (*careHPV™*) foi realizado no Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos, de acordo com o protocolo do fabricante. A análise estatística foi realizada pelo programa *IBM® SPSS® Statistics (Statistical Package for Social Sciences)*. Teste de Qui-quadrado (X^2) foi utilizado para comparar frequências entre grupos. Teste t-Student foi utilizado para comparar médias e Teste Exato de Fisher quando X^2 não foi suficiente para comparação dos grupos. Todos os testes com valor de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 2.000 mulheres entre 18 e 77 anos foram testadas para hr-HPV utilizando o teste *careHPV™* através de suas amostras obtidas por auto coleta ou coleta por profissional. A infecção por HPV em mulheres jovens em sua maioria é transitória. Por outro lado, a persistência do HPV de alto risco em mulheres acima dos 40 anos de idade está associada ao desenvolvimento do câncer cervical, uma das principais causas de mortes por câncer entre mulheres brasileiras. Nesse contexto, o teste de HPV DNA serviria para otimizar o rastreio primário de lesões precursoras do carcinoma invasor de colo uterino em populações de mulheres acima dos 30 anos, e também em áreas de poucos recursos, conforme preconizado por estudos anteriores (SANKARANARAYANAN *et al*, 2009; MEIJER *et al*, 2011; RONCO *et al*, 2014). Os resultados observados neste estudo mostram claramente que o teste *careHPV™* é factível de ser executado em condições adversas de comodidade e grandes complexidades laboratoriais. Dados consistentes com outros estudos brasileiros que demonstraram positividade de 9,7% a 10,5% de prevalência. Entretanto, nossos achados foram ligeiramente inferiores aos encontrados em estudos prévios, com uma prevalência de 13 a 15%. Porém, nosso grupo de mulheres, não representa necessariamente, a população rural e remota do País (NONNENMACHER *et al*, 2002; DE AGUIAR *et al*, 2014; LEVI *et al*, 2014). Os resultados foram estatisticamente significativos ($p = 0,044$, teste Qui-quadrado e

0,05 de significância). Entretanto, os dados sugerem que os grupos de coletas são semelhantes, apesar da diferença estatística apresentada. Em relação aos resultados citológicos, 10,5% das amostras sem alterações foram positivas para hr-HPV no teste molecular. Em 75% daquelas amostras com alteração de alto grau foram positivas para hr-HPV. Nos casos de lesão de baixo grau tivemos 78.8% dos casos positivos para hr-HPV. As mulheres com resultado do teste molecular positivo para HPV de alto risco e/ou citologia ASC-H+ foram encaminhadas para colposcopia e biópsia, se necessário. Dentre as participantes, 65,3% compareceram para realização dos exames complementares e destas, 49,2% foram biopsiadas, das quais foram comprovados nove casos de carcinoma *in situ* ou invasor. Quanto à tipagem das amostras coletadas, 81,5% foram identificadas com hr-HPV, 1,9% apenas de baixo risco e 17,45% infectadas com HPV de alto e baixo risco. Considerando as amostras positivas no teste molecular, os tipos mais comuns detectados, em ordem decrescente, foram HPV-56, HPV-51, HPV-53, HPV-18, HPV-58, HPV-52 e HPV-16. Os testes de HPV baseados em DNA (como o careHPV™) ou RNA tem apresentado alta sensibilidade, baixa subjetividade, simplicidade e melhor reprodutibilidade, exercendo vantagens significativas quando comparados à citologia. A autoamostragem é importante ferramenta para testar as mulheres para a infecção por HPV, particularmente em países em desenvolvimento ou áreas remotas, principalmente por ser de baixo custo. Independente do teste de HPV utilizado, geralmente, amostras autocoletadas têm frequências de DNA de HPV similares às amostras coletadas por um profissional de saúde. Nossos resultados endossam esta premissa porque nenhuma diferença foi observada entre os procedimentos de coleta. O teste CareHPV™ apresentou maior sensibilidade, mas uma menor especificidade quando comparado com citologia líquida e inspeção visual com ácido acético (VIA) para detectar CIN2+, Esta menor especificidade do teste pode ser explicada pelo fato que a presença de hr-HPV não está necessariamente associada a uma lesão de alto grau. Os resultados indicam que o teste de HPV é apropriado como uma abordagem de rastreio primário em cenários de baixos recursos. Além disso, várias linhas de evidências confirmaram que o teste HPV é superior à citologia como um método para rastreio primário.

4 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados demonstram que o desempenho do teste CareHPV™ foi bastante significativo, pois a maioria das mulheres sem infecção por hr-HPV foram classificadas como livres de lesão cervical pela citologia (NILM). As amostras obtidas por autocoleta são equivalentes à amostra cervical realizada por profissionais da saúde para a detecção de HPV de alto risco e o teste molecular mostrou ser uma potencial ferramenta de rastreio primário para o câncer cervical.

REFERÊNCIAS

- ARBYN, M. *et al.* Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis. **Lancet Oncol**, v. 15, n. 2, p. 172-83, 2014.
- CASTLE, P. E. *et al.* Introduction of human papillomavirus DNA screening in the world: 15 years of experience. **Vaccine**, v. 30 Suppl 5, p. F117-22, 2012.
- DE AGUIAR, S. R. *et al.* Human papillomavirus: prevalence and factors associated in women prisoners population from the Eastern Brazilian Amazon. **J Med Virol**, v. 86, n. 9, p. 1528-33, 2014.
- DOORBAR, J. *et al.* The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30 Suppl 5, p. F55-70, 2012.
- FORMAN, D. *et al.* Global burden of human papillomavirus and related diseases. **Vaccine**, v. 30 Suppl 5, p. F12-23, 2012.
- JERONIMO, J. *et al.* A multicountry evaluation of careHPV testing, visual inspection with acetic acid, and papanicolaou testing for the detection of cervical cancer. **Int J Gynecol Cancer**, v. 24, n. 3, p. 576-85, 2014.
- LEVI, J. E. *et al.* Evaluation of HPV Molecular Tests in Primary Screening for Cervical Cancer in Brazil. **Open Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 4, n. 8, p. 470-78, 2014. ISSN 2160-8792/2160-8806.

LIN, C. Q. *et al.* A parallel study of careHPV and Hybrid Capture 2 human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in rural China. **J Virol Methods**, v. 202, p. 73-8, 2014.

LORENZI, A. T. *et al.* Self-collection for high-risk HPV detection in Brazilian women using the careHPV™ test. **Gynecol Oncol**, v. 131, n. 1, p. 131-4, 2013.

MEIJER, C. J. *et al.* HPV-Based Cervical Cancer Screening. In: ESGO (Ed.). **TextBook of Gynaecological Oncology**. 2nd, 2011. cap. 21,

NONNENMACHER, B. *et al.* Genital human papillomavirus infection identification by molecular biology among asymptomatic women. **Rev Saúde Pública**, v. 36, n. 1, p. 95-100, 2002.

QIAO, Y. L. *et al.* A new HPV-DNA test for cervical-cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China. **Lancet Oncol**, v. 9, n. 10, p. 929-36, 2008.

RONCO, G. *et al.* Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. **Lancet**, v. 383, n. 9916, p. 524-32, Feb 8 2014. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking).

SANKARANARAYANAN, R. *et al.* HPV screening for cervical cancer in rural India. **N Engl J Med**, v. 360, n. 14, p. 1385-94, 2009.

ZHAO, F. H. *et al.* Pooled analysis of a self-sampling HPV DNA Test as a cervical cancer primary screening method. **J Natl Cancer Inst**, v. 104, n. 3, p. 178-88, 2012.