



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
INSTITUTO BIOMÉDICO  
PÓS GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADAS

TESE DE DOUTORADO

CHARBELL MIGUEL HADDAD KURY

**PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO, DIVERSIDADE GENÔMICA E FATORES DE RISCO RELACIONADOS EM MULHERES QUE VIVEM COM HIV ANTES E APÓS A VACINAÇÃO CONTRA ESTE VÍRUS EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, INTERIOR DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.**

Niterói  
2020

CHARBELL MIGUEL HADDAD KURY

**PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO, DIVERSIDADE GENÔMICA E FATORES DE RISCO RELACIONADOS EM MULHERES QUE VIVEM COM HIV ANTES E APÓS A VACINAÇÃO CONTRA ESTE VÍRUS EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, INTERIOR DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal Fluminense, como parte dos requisitos necessários para obtenção título de Doutor em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas.

Área de concentração: virologia

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvia Maria Baeta Cavalcanti

Coorientador: Prof. Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz

Niterói

2020

CHARBELL MIGUEL HADDAD KURY

**PREVALÊNCIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO, DIVERSIDADE GENÔMICA E FATORES DE RISCO RELACIONADOS EM MULHERES QUE VIVEM COM HIV ANTES E APÓS A VACINAÇÃO CONTRA ESTE VÍRUS EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, INTERIOR DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal Fluminense, como parte dos requisitos necessários à obtenção título de Doutor em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas.

Área de concentração: virologia

Aprovado em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Silvia Maria Baeta Cavalcanti (Titular/Presidente)  
Instituto Biomédico – Universidade Federal Fluminense

---

Profa. Rita de Cássia Nasser Cubel Garcia (titular)  
Instituto Biomédico – Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Dr. Mauro Romero Leal Passos (titular)  
Instituto Biomédico – Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Dr. Marco Aurélio Palazzi Safadi (titular)  
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – SP

---

Profa. Dra. Solange Dourado Andrade (titular)  
Fundação de Medicina Tropical Dr. Hélio Vieira Dourado

## **AGRADECIMENTOS**

Dedico este manuscrito em primeiro lugar a Deus que me permitiu existir. Depois agradecer e honrar a minha amiga, treinadora e mãe Angela Haddad que me deixou a maior herança que é a minha educação e amor ágape. Agradecer ao amor e dedicação dos meus irmãos Marcus, Cheker e Paulo por me amarem incondicionalmente e me apoiarem em todos os momentos. E por fim a minha companheira e esposa Cinthia Guimarães que simboliza o afeto e o pertencimento em minha vida.

Devo também especial agradecimento à professora e Orientadora Silvia Baeta Cavalcanti, que mostrou o verdadeiro sentido e a definição do mestre que nos incentiva, apoia, tem paciência e muito carinho. Ao agradece-la estendo o cumprimento a todos os professores e corpo administrativo do Instituto Biomédico em especial a secretária da Pós-Graduação em MIP, Anna.

Não posso deixar de cumprimentar e dedicar minha total gratidão ao professor Oswaldo G. Cruz pela sensibilidade e amizade que construímos em todos estes anos e dizer o quanto eu cresci não apenas no tamanho, mas na sabedoria com suas palavras de incentivo e apoio incondicional.

Ao agradecer meus orientadores aproveito o ensejo e homenageio todos os professores de minha trajetória pois a docência é o caminho do saber fazer e do aprender e apreender. Neste sentido dedico especial respeito e gratidão aos membros da banca examinadora que generosamente doaram seu tempo a construção do conhecimento. Destaco o papel do Prof. Dr. Willker Menezes da Rocha pela excelente revisão e dedicação.

Dedico especial agradecimento ao CNPQ/CAPES pelo financiamento e apoio a pesquisa.

Por fim agradeço a todos os funcionários em especial a Profa. Auxiliadora e os funcionários Maycon e De Leon do Hospital Escola Álvaro Alvim, além do corpo administrativo da Secretaria Municipal de Saúde de Campos dos Goytacazes, neles inclusos seus gestores e servidores, bem como os diletos estudantes que apoiaram a realização desta pesquisa.

“Para ser grande, sê inteiro: nada  
Teu exagera ou exclui.  
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és  
No mínimo que fazes  
Assim em cada lago a lua toda  
Brilha, porque alta vive”  
**(Fernando Pessoa)**

## RESUMO

**Introdução:** Papilomavirus humanos (HPV) são vírus sexualmente transmissíveis que causam de verrugas genitais ao câncer do colo do útero. Esta infecção é considerada mais sintomática em mulheres que vivem com HIV (MVHA) dado à imunossupressão. Campos dos Goytacazes foi o primeiro município a disponibilizar em 2011 a vacina quadrivalente de HPV (4vHPV) para mulheres que vivem com HIV (MVHA) até os 45 anos. **Objetivos:** caracterizar a prevalência e diversidade genômica da infecção pelo HPV antes e após a vacinação contra este vírus em MVHA e relacionar variáveis de risco com esta infecção. **Métodos:** Estudo de coorte prospectivo com intervenção, prevenção, não randomizado, controlado e simples cego. Foi aplicado um questionário com variáveis socioeconômicas junto à análise de prontuários no Centro de Doenças Infecciosas e Parasitárias (CEDIP). Após aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, uma amostra de endocérvice foi colhida para realizar a reação em cadeia por Polimerase (PCR) detectando o DNA do HPV usando os iniciadores genéricos MY09/11. Na genotipagem usou-se o kit LCD-Array HPV 3.5<sup>®</sup> (CHIPRON GmbH, Berlin, DE). A vacinação foi administrada em três doses após a coleta das amostras. Foram criados dois momentos de intervenção: T1, momento inicial com coleta e vacinação; T2, momento para nova coleta que ocorreu ao menos dois anos após T. As análises univariada e multivariada foram realizadas. Dois grupos de MVHA foram formados: Grupo 1, com resultados de Papanicolau e PCR negativos ao HPV; Grupo 2, indivíduos com pelo menos um resultado positivo, seja para PCR ou Papanicolau. **Resultados:** A coorte foi composta de 156 mulheres, sendo divididas em 107 pacientes pertencentes ao grupo 1 (68,6%) e 49 ao grupo 2 (31,4%). O grupo 2 foi formado por 35 MVHA com vírus HPV caracterizados por PCR, sendo que 31 destes apresentaram genótipos virais incluídos na vacina 4vHPV, cobrindo 88% da coorte. A análise univariada realizada no momento T1 considerou as variáveis “idade maior ou igual a 50 anos”, estado civil “casada”, “número de filhos menor ou igual a 2”, “parcerias sexuais menores ou iguais a 3” e “contagem de Linfócitos T CD4 maior que 550” foram fatores de proteção contra a infecção pelo HPV. Entretanto, na análise multivariada a variável número de parcerias sexuais e de filhos perderam significância. Em relação ao momento T2, 42 pacientes foram acessadas para nova coleta, com três casos positivos (7% de prevalência), dois destes em MVHA não vacinadas e um caso por tipo não vacinal. **Conclusões:** A infecção pelo HPV trata-se de uma grande preocupação em saúde pública, em especial à MVHA, dado ao perfil de infecções múltiplas tipos virais incomuns, com maior prevalência entre os 30 e 50 anos de idade. A utilização da 4vHPV é benéfica para esta população e deveria ser recomendada com extensão de idade até 45 anos conforme bula em protocolo do Centro de Referência de Imunobiológicos especiais (CRIE) do Ministério da Saúde.

**Palavras-chave:** Papilomavírus Humano (HPV); vírus da imunodeficiência humana (HIV); vacina quadrivalente contra o HPV; tipagem molecular

## ABSTRACT

**Introduction:** Human papillomaviruses (HPVs) are sexually transmitted viruses that cause everything from genital warts to cervical cancer. This infection is considered more symptomatic in women living with HIV (WLHA) due to immunosuppression. Campos dos Goytacazes was the first municipality to make available in 2011 the quadrivalent HPV vaccine (4vHPV) for women living with HIV (MVHA) up to 45 years of age. **Objectives:** to characterize the prevalence and genomic diversity of HPV infection before and after vaccination against this virus in MVHA and to relate it to risk variables with this infection. **Methods:** Prospective cohort study with intervention, prevention, non-randomized, controlled and simple blind. A questionnaire with socioeconomic variables was applied to the analysis of medical records at the Center for Infectious and Parasitic Diseases (CEDIP). After applying the Free and Informed Consent Form, an endocervical sample was collected to perform the polymerase chain reaction (PCR) detecting the HPV DNA using the generic MY09 / 11 primers. For genotyping, the LCD-Array HPV 3.5® kit (CHIPRON GmbH, Berlin, DE) was used. Vaccination was administered in three doses after sample collection. Two intervention moments were created: T1, initial moment with collection and vaccination; T2, time for new collection that occurred at least two years after T1. Univariate and multivariate analyzes were performed. Two groups of MVHA were formed: Group 1, with HPV negative Pap smear and PCR results; Group 2, individuals with at least one positive result, either for PCR or Pap smear. **Results:** The cohort consisted of 156 women, divided into 107 patients belonging to group 1 (68.6%) and 49 to group 2 (31.4%). Group 2 consisted of 35 MVHA with HPV viruses characterized by PCR, and 31 of these had viral genotypes included in the 4vHPV vaccine, covering 88% of the cohort. The univariate analysis performed at the moment T1 considered the variables “age greater than or equal to 50 years”, marital status “married”, “number of children less than or equal to 2”, “sexual partnerships less than or equal to 3” and “count of CD4 T lymphocytes greater than 550” were protective factors against HPV infection. However, in the multivariate analysis, the variable number of sexual partnerships and children lost significance. In relation to time T2, 42 patients were accessed for new collection, with three positive cases (7% prevalence), two of these in unvaccinated WLHA and one case per non-vaccine type. **Conclusions:** HPV infection is a major public health concern, especially WLHA, given the profile of multiple infections, unusual viral types, with a higher prevalence between 30 and 50 years of age. The use of 4vHPV is beneficial for this population and should be recommended at an age of up to 45 years according to the package insert in a protocol from the Reference Center for Special Immunobiologicals (CRIE) of the Ministry of Health.

**Keywords:** Human Papillomavirus (HPV); human immunodeficiency virus (HIV); quadrivalent HPV vaccine; molecular typing

**LISTA DE ABREVIATURAS SIMBOLOS E SIGLAS**

2vHPV vacina bivalente recombinante contra o HPV

4vHPV vacina quadrivalente recombinante contra o HPV

9vHPV vacina nonavalente recombinante contra o HPV

µg micrograma

µg/ml micrograma por microlitro

µL microlitro

°C graus Celsius

A2t anexina A2 heterotetrâmero

AC1 e AC2 *primers* do gene da actina humana

AIC Critério de informação de Akaike (*Akaike information criterion*)

AIDS Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

APC Célula apresentadora de antígeno (*antigen presenter cell*)

APOBEC fator tecidual

ASCUS células escamosas atípicas de significância indeterminada (*atypical squamous cells of undetermined significance*)

AS04 Sistema de adjuvante AS04 (*Adjuvant System 04*)

BAX gene ativador de apoptose

bp base de pares

Ca Carcinoma

CCL5 quimiocina

cdKs quinases dependentes de ciclinas

CD4 linfócitos T CD4

CDC Centro de Controle e Prevenção de doenças (*Centers for disease control and prevention*)

CDK cinase ciclina dependentes

CEDIP Centro de doenças infecciosas

C-jun gene transdutor de sinal da mitose do HPV

C-myc gene transdutor de sinal da mitose do HPV

CyPB ciclofilina B

DNA ácido desoxirribonucleico (*Desoxyribonucleic acid*)

EDTA ácido etilenodiamino tetra-acético (*Ethylene diamino tetracetic acid*)

E Genes precoces (*early genes*)

E2F fator de transcrição

EGFR fator de crescimento da epiderme

*env* gene do HIV

*et al.* e colaboradores

FEBRASGO Federação Brasileira das associações de Ginecologia e obstetrícia

GADD45 gene ativador de apoptose

*gag* gene do HIV

gp glicoproteínas do HIV

HAART terapia antirretroviral altamente ativa (*highly active antiretroviral therapy*)

HIV Vírus da Imunodeficiência Humana

HPV Papilomavirus Humano

HSIL lesões intraepiteliais escamosas de alto grau

HSPG Glicosaminoglicana Heparan sulfato

IARC Agência Internacional de pesquisa do Câncer (*International agency for research on cancer*)

ICTV Comitê Internacional de Taxonomia de Virus (*International Committee on the Taxonomy of Viruses*)

IFI16 fator tecidual

IFIT1 fator tecidual

INCA Instituto Nacional do Câncer

IPC Instituto de prevenção do câncer

INF Interferon

IL interleucina

IST Infecção Sexualmente Transmissível

JEC Junção Escamo-Colunar

Kb kilobase

KGFR fator de crescimento dos queratinócitos

L Genes Tardios (*late genes*)

LCR região longa de controle (*long control region*)

LSIL lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau

M molar

mcg micrograma

MgCl<sub>2</sub> cloreto de magnésio

min minutos

mL mililitro

MHC complexo principal de histocompatibilidade

mM milimolar

MPL 3-O-desacil-4'-monofosforil lípido A

MY09/MY11 primers genéricos que amplificam uma sequência do DNA viral

nm nanômetros

nM nanomolar

mRNA RNA mensageiro

NIC Neoplasia intraepitelial cervical

ND10 fator tecidual

OMS Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)

ONU Organização das nações Unidas (United Nations)

OR razão de chances (*Odds ratio*)

ORF fases de abertura de leitura (*open reading frames*)

p proteínas / enzimas do HIV

p21 proteína inibidora de CDK

p16<sup>INK4</sup> proteína inibidora de CDK

p53 gene de indução de apoptose celular

bp *base pairs*

PCR Reação em cadeia da polimerase (*Polimerase chain reaction*)

PDC células dendríticas plasmocitóides

PI3K fosfatilinositol 3-fosfato

pM picomolar

p53 proteína regulatória do ciclo celular

P97 (ou P1) e P670 (ou P2): promotores

*pol* gene do HIV

pRb gene de controle do ciclo celular

PRRs receptores de recepção de patógeno

PTGI patologia de trato genital inferior

RFLP Polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição (*Restriction fragment length polymorphism*)

RNA ácido ribonucleico (*ribonucleic acid*)

rpm rotações por minuto

RR risco relativo (*relative risk*)

s segundos

S fase de síntese (ciclo celular)

SINAN Sistema de informações de Agravos de notificação

SI-PNI Sistema de informações do Programa Nacional de Imunizações

SisColo sistema de informações do câncer de cólo do útero

SNP polimorfismo de nucleotídeo único (*Single nucleotide polymorphisms*)

TCLE Termo de consentimento livre e esclarecido

TLR receptores do tipo *Toll-Like* (*toll-like receptors*)

TLR4 receptores *Toll-Like* do tipo 4 (*toll-like receptors 4*)

TNF Fator de necrose tumoral

UFF Universidade Federal Fluminense

VLP partículas semelhantes ao vírus (*virus-like particles*)

VPN valor preditivo negativo

VPP valor preditivo positivo

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS.....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xvi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
2.1 Histórico, Taxonomia e Morfologia.....	22
2.1.1 Papilomavirus Humano (HPV).....	22
2.1.2. Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) – taxonomia e genoma viral.....	27
2.2 A infecção pelo HPV – histologia, biologia, clínica, diagnóstico e prevenção.....	30
2.2.1 Características Anatômicas e Histológicas do colo Uterino.....	30
2.2.2 Ciclo celular e replicação viral.....	31
2.2.3 Mecanismo de agressão e resposta do hospedeiro ao HPV.....	38
2.3 Transmissão, manifestações clínicas e fatores de risco.....	42
2.4 Epidemiologia HIV e HPV.....	44
2.4.1 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo HIV no Brasil.....	44
2.4.2 Aspectos epidemiológicos da Infecção pelo Papilomavirus no mundo e Brasil .....	46

2.5 Métodos diagnósticos do HPV.....	50
2.5.1 Colpocitologia oncológica ou Papanicolau.....	50
2.5.2 Colposcopia.....	52
2.5.3 Métodos moleculares.....	55
2.5.3.1 Reação em cadeia de Polimerase (PCR) e suas variações.....	55
2.5.3.2 Técnica do Microarranjo (Microarray).....	57
2.5.3.3 Análise crítica sobre novo fluxograma proposto pela Febrasgo (2019).....	58
2.6 Vacinas para o HPV – Imunologia, indicação e posologia..	61
2.6.1 Vacinas contra o HPV – modelos baseados na resposta Imune ao vírus.....	61
2.6.2 Vacinas Contra o HPV – Vacinas licenciadas eficácia / efetividade e Programas de Vacinação no mundo.....	64
2.6.3 Vacinas contra o HPV – eficácia e efetividade Na População HIV Positiva .....	68

### 3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral.....	72
3.2 Objetivos Específicos .....	72

### 4.0 MÉTODOS

4.1 Caracterização da população de estudo.....	73
4.2 Tipo de estudo .....	74
4.3 Riscos .....	74
4.4 Benefícios .....	74
4.5 Instrumentos e procedimentos para a coleta de dados.....	74
4.6 Características da vacina 4vHPV.....	75
4.7 Exames Laboratoriais.....	76
4.7.1 Contagem de linfócitos T CD4 e quantificação de RNA viral .....	76
4.7.2 Exame de Papanicolau (PAP) – “Preventivo”.....	76
4.7.3 Extração e precipitação do DNA viral.....	76

4.7.4 PCR com uso de primers genéricos MY09/MY11.....	77
4.7.5 PCR específico para tipagem do HPV.....	78
4.7.6 Técnica do Microarranjo: LCD-array kit HPV type 3.5 da Chipron®.....	79
4.8 Análise estatística .....	82
4.9 Questões éticas .....	83
<b>5.0 RESULTADOS</b>	
5.1 Fluxograma do estudo .....	84
5.2 Momento T1 – primeira coleta antes da vacinação.....	85
5.2.1 Demografia e prevalência.....	85
5.2.2 Análise univariada.....	87
5.2.3 Regressão logística.....	90
5.2 Momento T2 – coleta após 2 anos.....	91
5.2.1 Demografia e vacinação.....	92
5.2.2 Prevalência da infecção pelo HPV x vacinação.....	92
<b>6.DISSCUSSÃO.....</b>	<b>92</b>
<b>7. CONCLUSÕES .....</b>	<b>101</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>102</b>
<b>9. APÊNDICES.....</b>	<b>121</b>
9.1 Apêndice 1 - Protocolo de coleta de dados (questionário).....	121
9.2 Apêndice 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	122
<b>10. ANEXOS</b>	
10.1 Anexo 1 – Carta de Aprovação Comitê de Ética.....	123
10.2 Anexo 2 - Artigo 1.....	125
10.3 Anexo 3 – Artigo 2.....	126

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - (a)Microscopia eletrônica do HPV (b)Esquema da partícula viral (c)Modelo esquemático do Genoma viral. **p.22/23**

**Figura 2:** Árvore filogenética do HPV com 228 tipos disponíveis. Os tipos de HPV foram divididos de acordo com a família *Papillomaviridae* em gêneros, espécies e tipos. **p.25**

**Figura 3:** Genoma do HIV. **p.27**

**Figura 4:** Modelo esquemático do HIV. **p.29**

**Figura 5:** Ciclo replicativo do HIV-. **p.29**

**Figura 6:** Anatomia e histologia do útero e colo do útero. **p.30**

**Figura 7:** Modelo teórico para o HPV 16 de ligação a glicosaminoglicanos de superfície celular com posterior endocitose mediada por receptor. **p.32**

**Figura 8:** A arquitetura do tecido epitelial escamoso normal e a expressão das proteínas do HPV após a infecção. **p.34**

**Figura 9:** As proteínas virais e o ciclo celular **p.36**

**Figura 10:** moléculas produzidas por ação dos genes do HPV e sua ação sobre o sistema imune. **p.40**

**Figura 11:** Fatores de risco para a carcinogênese **p.43**

**Figura 12:** Taxa de detecção de aids (por 100.000 hab.) e percentual de declínio ou incremento, segundo UF de residência, por ano de diagnóstico. Brasil, 2008 e 2018. **p. 46**

**Figura 13:** Epidemiologia mundial do Câncer de colo de útero, 2018. **p.47**

**Figura 14:** Prevalência de HPV em pessoas com citologia cervical normal **p.48**

**Figura 15:** Prevalência Global dos principais tipos de HPV presentes no câncer cervical **p.49**

**Figura 16:** Sistema de Classificação da Colpocitologia Oncótica **p.51**

**Figura 17:** Indicações para o exame de Colposcopia a partir de resultados de citologia **p.52**

**Figura 18:** Exame de colposcopia. **p.54**

**Figura 19:** Achados na Colposcopia e confirmados em biópsia. **p.55**

**Figura 20** – aplicação de até 8 amostras simultâneas no chip microarray **p.57**

**Figura 21** – painel de controle dos tipos de HPV de riscos alto, baixo e intermediário **p.58**

**Figura 22:** Modelos de resposta imune humoral e celular após a infecção natural pelo HPV com e sem a vacinação **p.61**

**Figura 23:** Distribuição mundial dos programas de vacinação para HPV. **p.64**

**Figura 24:** Incidência cumulativa do câncer cervical invasivo de acordo com o status vacinal para o HPV. **p.68**

**Figura 25:** Mapa do município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. **p.73**

**Figura 26:** Etapas da técnica do Microarray ilustradas. Todas as etapas são realizadas em 45 minutos. **p.81**

**Figura 27:** Resultado obtido pela técnica do Microarray, indicando presença dos genótipos virais: HPV 6,11,53, 58 e 70. Fornece a identificação do tipo viral, a carga viral e o grau do risco do HPV. **p.82**

**Figura 28:** Fluxograma do estudo com o seguimento de 156 pacientes ao longo dos momentos de intervenção T1 e T2. **p.84**

**Figura 29:** Idade através da linha do tempo x Risco relativo da infecção por HPV na corte seguida. **p.89**

**Figura 30:** Gráfico tipo box plot de regressão logística evidenciando as variáveis que se correlacionam com risco ou proteção para a infecção pelo HPV. **p.91**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Genes do HPV com funções específicas. **p.24**
- Tabela 2:** Os principais tipos de HPV de baixo e alto risco. **p.26**
- Tabela 3:** Efeito do intervalo entre os exames de Papanicolau na redução da incidência cumulativa de Ca de colo de útero. **p.51**
- Tabela 4:** Comparativo entre as vacinas profiláticas para HPV licenciadas no Brasil. **p.66**
- Tabela 5:** Componentes da Mistura de Reação (Mix) utilizado na PCR. **p.77**
- Tabela 6:** Detalhes da ciclagem na PCR. **p.78**
- Tabela 7:** Genótipos mais prevalentes de HPV e o tamanho de seus fragmentos, de acordo com a PCR tipo-específica. **p.79**
- Tabela 8:** Composição do Mix utilizado na PCR do kit. **p.80**
- Tabela 9:** Detalhes da ciclagem na PCR tipo-específica para HPV. **p.80**
- Tabela 10:** Análise demográfica e de prevalência da população de mulheres HIV positivas. **p.85**
- Tabela 11:** Tipos de HPV encontrados em infecção única ou múltipla em mulheres com HIV (Grupo 2). **p.86**
- Tabela 12:** Distribuição dos genótipos por padrões de oncogenicidade na coorte. **p.87**
- Tabela 13 -** Análise univariada das variáveis associadas à positividade para o HPV por PCR e / ou Papanicolau em mulheres soropositivas para o HIV. **p.87**
- Tabela 14:** Modelo de regressão logística dos fatores associados à positividade para HPV nas mulheres soropositivas para o HIV. **p.90**
- Tabela 15:** Tipos virais encontrados no momento T2 de acordo com o status vacinal. **p. 92**

## 1 INTRODUÇÃO

Os Papilomavírus humanos (HPV) são vírus DNA ubíquos que agem infectando as células do epitélio basal da pele e das mucosas. (BERRY & PALEFSKY, 2003; DE VILLIERS *et al.*, 2004). As manifestações clínicas da infecção pelo vírus apresentam-se dicotômicas em relação ao gênero acometido. Se por um lado os homens se apresentam assintomáticos, as mulheres desenvolvem lesões no trato reprodutivo, sendo os principais desfechos desta infecção, as verrugas genitais e os cânceres relacionados ao HPV (CASTRO-VASQUEZ & ARELLANO-GALVEZ, 2010 SERRANO, 2018; BERRY & PALEFSKY, 2003; DE VILLIERS *et al.*, 2004; BANHSAL & SIGN, 2016).

Enquanto os condilomas genitais são causados por HPV de baixo risco, o câncer de colo de útero (Ca Cervical) é causado por tipos oncogênicos de HPV. Muitas infecções regridem espontaneamente em até 90% dos casos, mas as infecções persistentes podem levar ao câncer dada a multiplicação desordenada do epitélio de revestimento do útero, podendo evoluir para a replicação no tecido adjacente do estroma ou mesmo invadir outros órgãos e tecidos de forma metastática. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) em documento publicado em associação com a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC) em 2019, este considerou até o momento a existência de 14 tipos de HPV sabidamente oncogênicos (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82), bem como outros 12 tipos possivelmente oncogênicos (26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85, 97) (COUPÉ *et al.*, 2008; BRUNI *et al.*, 2019; BURD, 2016; DOORBAR *et al.*, 2012).

O HPV, agente da infecção genital, é transmitido pelo contato genital pele a pele, e não necessariamente durante a penetração (KJAER *et al.*, 2001). Sabe-se que o preservativo não oferece uma eficácia de 100% contra o HPV (CARTER *et al.*, 2000). Em estudo de coorte com seguimento de 82 mulheres sexualmente ativas em relação ao uso do preservativo com seus parceiros sexuais, a incidência da infecção pelo HPV foi medida durante cinco anos e foi verificado que o uso do preservativo em todos os momentos nos intercursos vaginais permitiu reduziu em 70% a incidência de infecção por HPV (WINER *et al.*, 2006). Diversos fatores foram

apontados como sendo de risco para a infecção, sendo os mais importantes: o número de parceiros sexuais, baixo nível educacional, baixa idade e renda, bem como presença de outras infecções sexualmente transmissíveis (IST). Sabe-se que o epitélio imaturo (epitélio cervicais, metaplásico e colônico) associa-se a maior ocorrência de infecções em mulheres mais jovens, e que o somatório da natureza autolimitante das infecções, associada à redução de parceiros sexuais e a uma possível resistência às reinfecções, possa ser relacionada a uma redução de casos com o aumento da idade. Porém, não está bem estabelecido o ponto de corte da idade em que a infecção pelo HPV começa a recrudescer (RIBEIRO & ALVES, 2015; BRYER, 2010; HUGHES *et al.*, 2009; ROBERTS *et al.*, 2011; STAMATAKI *et al.*, 2010).

Neste sentido, a infecção pelo HPV pode ser considerada a IST viral mais prevalente no mundo. Acredita-se que 80% das mulheres vão ter contato e adquirir o HPV em algum momento da vida, acarretando uma taxa de prevalência de cerca de 11 a 12% da população mundial, e em mulheres com taxas de 16 a 24% (FORMAN, DE MARTEL & LACEY, 2012). Em relação à população brasileira, dados obtidos de uma revisão sistemática com 14 artigos de todas as regiões do Brasil, os quais utilizaram exame citológico cervical e detecção do genoma viral por PCR, mostraram prevalência geral de infecção do colo do útero pelo HPV variando de 13,7 a 54,3%. Em relação à prevalência do HPV em mulheres com citologia cervical normal, mas identificados pelo PCR esta variou de 10 a 24,5% (AYRES & AZEVEDO SILVA, 2010).

Outro estudo de base nacional recém conduzido em 5.812 mulheres permitiram estimar a prevalência nacional da infecção pelo HPV da ordem de 54,6%, não muito diferente do resultado encontrado na amostra do estado do Rio de Janeiro (54,5%). Vale ressaltar que o percentual de tipos de HPV de alto risco foi de 38,4% dos casos analisados (ASSOCIAÇÃO MOINHOS DE VENTO, 2019).

Os tumores relacionados ao HPV representam 5,2% de todos os casos de câncer no mundo. O câncer de colo de útero, o segundo mais comum entre as mulheres em todo mundo, ocorre anualmente em cerca de 569.847 casos, com 311.365 óbitos relacionados (BRUNI *et al.*, 2019). Dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimam cerca de 16.7120 novos casos carcinoma de colo do útero com 6.526 vítimas fatais (INCA, 2020), estando este câncer em terceiro lugar no Brasil como mais comum na população feminina, atrás de câncer de mama e

intestino. Estes números concluem um fato inequívoco: o câncer cervical é um expressivo problema de saúde pública. Esta preocupação levou a Organização das Nações Unidas (ONU) a trabalhar para a conscientização mundial das necessidades de implementação de políticas de prevenção contra o câncer de colo de útero. Entretanto, a despeito da menor incidência de câncer nos países em desenvolvimento ao longo dos últimos anos, o dado de elevada mortalidade ainda preocupa as autoridades e não permite alcançar a meta de desenvolvimento sustentável da saúde da mulher e das meninas (BRUNI *et al.*, 2019; INCA, 2020; OPAS, 2016)

Quando relacionamos a presença de HPV nas mulheres que convivem com a imunodeficiência gerada pela coinfeção com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), o HPV se manifesta por um mosaico de consequências em que pesa não apenas o maior risco de infecção, mas também a persistência da infecção pelo HPV, aos diferentes genótipos e a chance de desenvolver lesões malignas invasivas (DREYER, 2018).

O HIV é adaptado a infectar linfócitos CD4<sup>+</sup> e neles se replica com uma alta velocidade. Este “linfotropismo” provoca uma profunda imunossupressão no hospedeiro devido tanto à destruição dos linfócitos CD4<sup>+</sup> quanto a diversos mecanismos que interferem no sistema imunitário. Um dos exemplos trata-se dos elevados níveis de Interleucina 10 (IL-10) em pacientes soropositivos para o HIV, acarretando a supressão da imunidade celular que é a principal defesa contra infecção pelo HPV, além de ser um fator de controle de progressão tumoral (ALCAMI & CORIAS, 2011; GUIMARÃES *et al.*, 2011; LUCENA *et al.*, 2011)

Estudos quantificam que as pacientes HIV positivas possuem maior prevalência de infecções cervicais do que as pacientes HIV negativas, em taxas de prevalência de 60 e 33%, respectivamente. Além disso, indivíduos HIV positivos são mais suscetíveis aos tipos de HPV de alto risco oncogênico, se comparadas com pacientes HIV negativos. (AHDIEH *et al.*, 2011; FEDRIZZI *et al.*, 2011).

Sabe-se que a combinação de estratégias de educação em saúde, uso do preservativo e a detecção precoce de lesões pré neoplásicas de colo de útero por meio do exame do Papanicolau (preventivo) são estratégias já sedimentadas na sociedade e com relativo sucesso na prevenção de tumores relacionados ao HPV. Adicionalmente, as vacinas profiláticas para HPV vieram a se somar a este arsenal, sendo cada vez mais disseminadas e implantadas em programas públicos de

vacinação em todo o mundo (STANLEY, 2007; DERMATEAU, 2012)

Campos dos Goytacazes foi a primeira cidade do Brasil a implantar gratuitamente a vacina quadrivalente recombinante (4vHPV), em setembro de 2010. O Programa Nacional de Imunizações do Ministério da Saúde do Brasil somente veio a implantar esta vacina em 2014 para meninas, de maneira que a cidade de Campos criou expertise na implantação de um calendário de vacinas complementar, inclusive com extensão, desde 2011, da vacina 4vHPV para mulheres HIV positivas. Pessoas portadoras do HIV são imunocomprometidas, em maior ou menor grau. Entretanto a literatura possui poucos estudos acompanhando não apenas a vacinação desta população, mas também a diversidade genômica ao longo do tempo que poderia comprometer a efetividade do programa.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

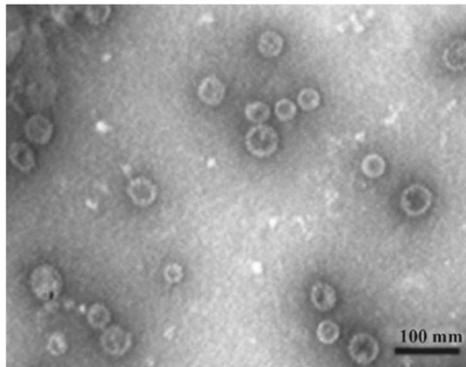
### 2.1 Histórico, Taxonomia e Morfologia

#### 2.1.1 Papilomavirus Humano (HPV)

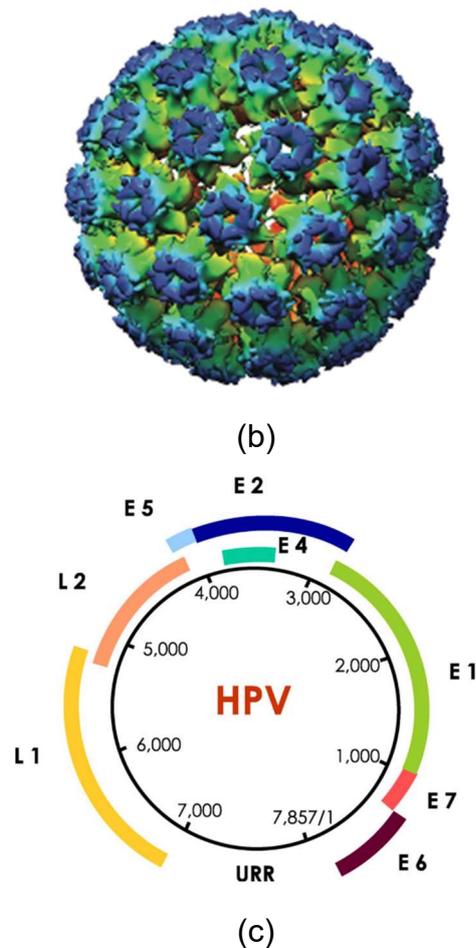
A história da infecção pelo HPV é descrita desde a Grécia antiga, por meio dos achados de lesões verrucosas e papilomatosas. Entretanto somente a partir do século XX que este vírus foi descoberto, através da observação microscópica de partículas de HPV em verrugas na primeira metade do século. Posteriormente em 1963 a estrutura viral foi descrita por Crawford & Crawford, porém somente na década de 1970 através das pesquisas de Zur Hausen foi proposta a teoria da relação entre os HPVs e a etiologia dos cânceres de colo de útero. Assim sendo, na década seguinte, estas teorias são confirmadas e os HPV 16 e 18 são descritos em sua relação com o Ca cervical (LETO *et al*, 2011; ZUR HAUSEN, 1977)

O HPV é membro da família *Papillomaviridae*, classificado ainda em cinco gêneros: *Alpha-*, *Beta-*, *Gama-*, *Mu-* e *Nu-Papillomavirus*. Possui capsídeo de simetria icosaédrica, não é envelopado, e tem cerca de 55 nanômetros (nm). O seu núcleo é composto de DNA de dupla fita circular e 8.000 bases (b), contendo oito genes (BERNARD *et al*, 2010; DE VILLIERS *et al*, 2004; LETO *et al.*, 2011).

A Figura 1 abaixo resume aspectos do vírus.



(a)



**Figura 1:** (a) Microscopia eletrônica do HPV; (b) Esquema da partícula viral; (c) Modelo esquemático do Genoma viral.

Fontes: MUÑOZ *et al.*, 2006; PATEL *et al.*, 2009; VAN DOORSLAER & MCBRIDE, 2016; CHAKRAVORTY & SUGDEN, 2018;

O genoma viral (Figura 1c) é dividido em três regiões, sendo que as regiões E e L são conhecidas como ORF (*Open Reading Frames* ou unidades de tradução): (DOORBAR *et al.*, 2015; VAN DOORSLAER & MCBRIDE, 2016; CHIN, BROKER & CHOW, 1989)

1. "Early region" ou região precoce (E): É formado por genes *E1* a *E7* expressos no início da infecção, e que são responsáveis pelo processo de regulação, transcrição e replicação do DNA viral. Além disso podem estar associadas ao processo de evasão imune, desregulação do ciclo celular e recrutamento de fatores de risco para replicação.

2. "Late region" ou região tardia (*L*): Trata-se da região formada pelos genes *L1* e *L2*, codifica a proteína principal e secundária do capsídeo viral, sendo expresso mais tardiamente.
3. "Long control region" ou região não codificadora (LCR): esta região pela sua própria nomenclatura não codifica proteínas. Está localizada entre as regiões *L1* e *E6* e corresponde a 10% do genoma viral. Esta região comporta a origem da replicação e os elementos para o controle da transcrição.

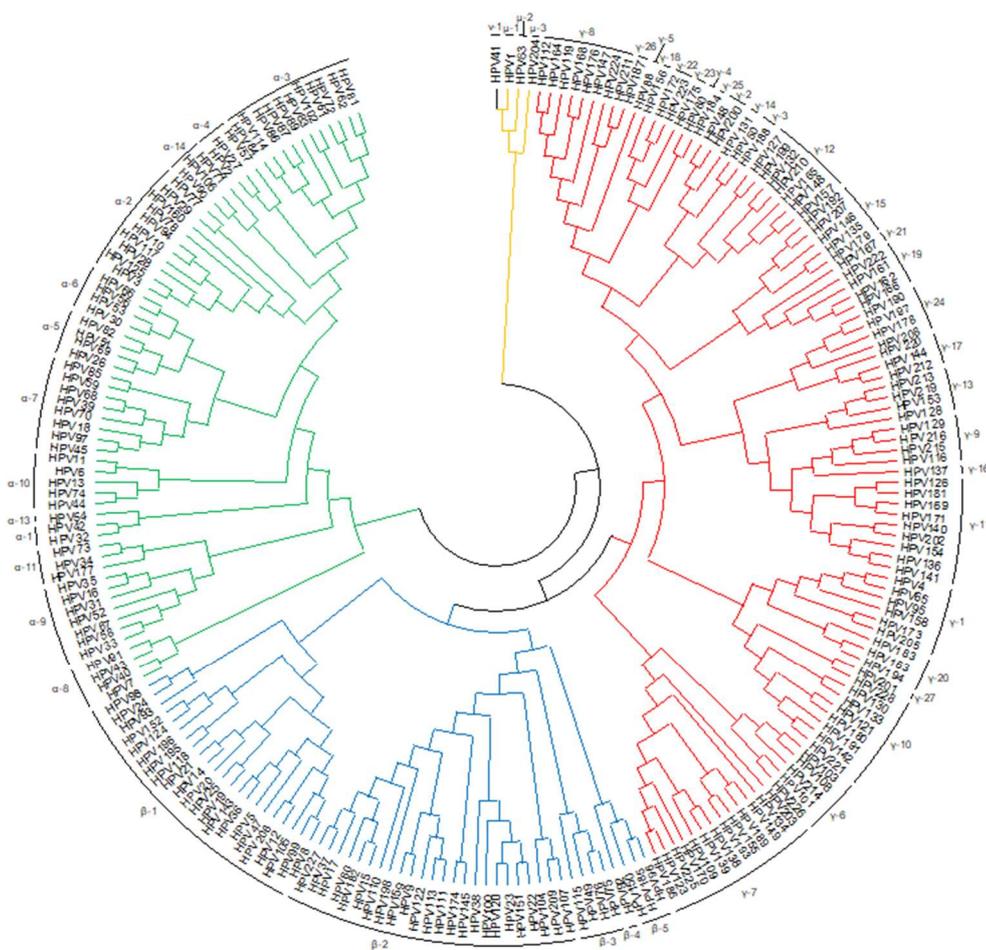
As funções de cada gene estão descritas na tabela 1:

**Tabela 3:** Genes do HPV e suas respectivas funções

<b>GENES</b>	<b>FUNÇÃO</b>
<i>E1</i>	Responsável pela DNA helicase – replicação e amplificação do genoma viral
<i>E2</i>	Regulador principal do ciclo de vida viral – função essencial na transcrição
<i>E3</i>	Replicação
<i>E4</i>	Maturação viral e liberação das novas partículas virais
<i>E5</i>	Transformação celular
<i>E6</i>	Transformação celular / Imortalização
<i>E7</i>	Transformação celular / Imortalização
<i>L1</i>	Codificam proteínas do capsídeo viral
<i>L2</i>	Incorporação do DNA viral no vírion

Fontes: VAN DOORSLAER *et al.*, 2018; LETO, 2011; MUÑOZ *et al.*, 2006;  
SYRJANEN & SYRJANEN, 1999

Em relação à classificação filogenética dos tipos humanos de HPV, a última atualização disponível no site do *HPV Center* ([www.já](http://www.já) enumera a marca de 228 tipos virais, conforme a árvore filogenética abaixo:



**Figura 2:** Árvore filogenética do HPV com 228 tipos disponíveis. Os tipos de HPV foram divididos de acordo com a família *Papillomaviridae* em gêneros, espécies e tipos.

Fonte: ARROYO, 2020

A Figura 2 ilustra a árvore filogenética do HPV com os mais de 228 tipos disponíveis até o momento\*. Sabe-se que do ponto de vista taxonômico este vírus é dividido em 2 subfamílias: *Firstpapillomavirinae*, que inclui mais de 50 gêneros e 130 espécies; e *Secondpapillomavirinae*, com apenas um gênero e espécie. Em relação a primeira subfamília, esta contém 2 gêneros: os *Alphapapillomavirus* e *Betapapillomavirus* (respectivamente nas cores verde e azul da figura 3), ambos contendo tipos virais associados às infecções de pele e mucosas com possibilidade de evolução oncogênica ou não. No entanto, são de interesse para a espécie humana também os gêneros *Gama*, *Mu* e *Nu*, representados na mesma figura com as cores vermelho, amarelo e preto, respectivamente.

Os HPV em especial aqueles do gênero *Alphapapillomavirus* possuem capacidade oncogênica diretamente relacionada ao comportamento do genoma viral de tipos específicos de vírus. Logo, tem-se que os vírus de baixo potencial oncogênico não integram seu DNA ao genoma da célula hospedeira, diferente dos vírus de alto risco oncogênico. Neste caso seu genoma é linearizado, se integra ao material genético hospedeiro usando a maquinaria deste (MUÑOZ, 2006; SCHEURER TORTOLERO-LUNA & ADLER-STORTHZ, 2005).

Assim podemos ver na Tabela 2, abaixo os principais tipos de baixo e de alto risco de HPV.

**Tabela 4:** Os principais tipos de HPV de baixo e alto risco

Classificação dos tipos de HPV pela sua capacidade oncogênica	
Genótipos oncogênicos (de alto risco)	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82
Genótipos benignos (baixo risco)	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81, 83, 90
Genótipos provavelmente oncogênicos	26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85, 97

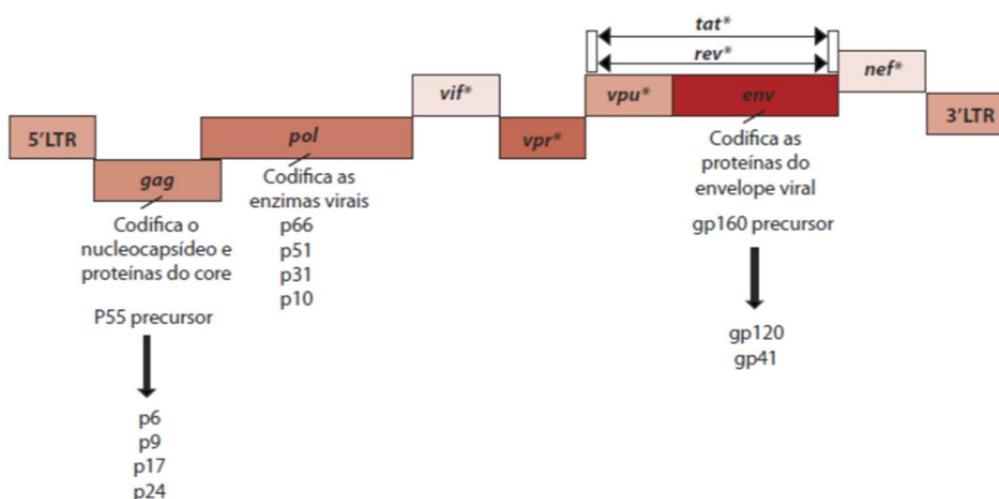
Fonte: COUPÉ *et al.*, 2008; MUÑOZ *et al.*, 2003; BURD, 2016; WAKABAYASHI *et al.*, 2019

Entende-se por genótipos provavelmente oncogênicos aqueles que possuem comportamento epidemiológico e filogenético diversificado, ou seja, eles possuem marcadores de carcinogênese mas na maioria das vezes são encontrados em quadros benignos. Exemplos destes estão relacionados na tabela acima. Tipos como o HPV 70, HPV 73, entre outros possuem marcadores celulares de carcinogênese, tais como o E6 mRNA, maior expressão de p16, e menores expressões de ciclina e p53. Entretanto, quando estes tipos aparecem em mulheres infectadas pelo HPV levam mais comumente a quadros de patologias cervicais em comparação a mulheres não infectadas. (BURD, 2016)

### 2.1.2 Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) – taxonomia e genoma viral

Do ponto de vista taxonômico, o HIV pertence ao gênero *Lentivirus* e à família *Retroviridae*. Trata-se de uma partícula esférica de 80-100nm de diâmetro com projeções de glicoproteínas em sua superfície que podem chegar a 8nm em sua extensão. Este vírus possui um dímero composto por dois monômeros com cópias de RNA de fita simples. A este núcleo tem-se uma estrutura proteica e vão ser reconhecidos como o nucleocapsídeo, um capsídeo e um envelope externo (ICTV, 2019).

A figura 3 abaixo contém o genoma do HIV:



**Figura 3:** Genoma do HIV

Fonte: MULLER, 2010

Três genes são responsáveis por codificar as proteínas e as enzimas virais: *gag*, *pol* e *env*. O gene *env* codifica as duas proteínas de envelope: a proteína de superfície e a transmembrana. A proteína gp160 é uma proteína precursora que vai ser clivada para se tornar as gp120 e gp41. Ambas estão ligadas ao processo de adesão aos receptores de HIV nas células do hospedeiro e na fusão do envelope viral com a membrana celular. (ICTV, 2019; MILLER, 2010; WATTS *et al.*, 2009)

O gene *gag* codifica as proteínas do nucleocapsídeo e as proteínas do *core*. O precursor deste gene trata-se da p55 que vai conseqüentemente levar à produção das seguintes proteínas: p6, p9, p17 e p24. O capsídeo que circunda o ácido nucleico viral contém p24, p6 e p9, enquanto a p17 se encontra em uma camada entre o núcleo proteico e o invólucro, denominada matriz proteica, a qual reveste a superfície interna da membrana viral (ICTV, 2019; MILLER, 2010; WATTS *et al.*, 2009).

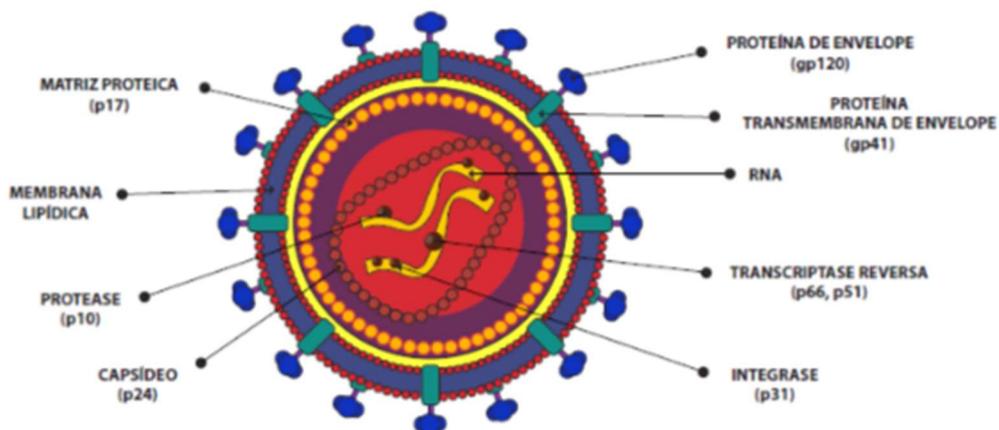
O gene estrutural, *pol*, codifica as enzimas p66, p51, p31 e p10. As duas primeiras são componentes da Transcriptase Reversa (RT); a p31 exerce o papel de Integrase (integra o DNA do vírus ao genoma do hospedeiro); a p10 ou protease, faz a clivagem de pequenos precursores proteicos em unidades menores após a liberação da partícula viral (MILLER, 2010; ENGELMAN & CHEREPANOV, 2012; FANALES-BELASIO *et al.*, 2010; WATTS *et al.*, 2009).

Há ainda a participação de outros genes necessários à função viral com ação reguladora e acessória (MILLER, 2010; ENGELMAN & CHEREPANOV, 2012; FANALES-BELASIO *et al.*, 2010; WATTS *et al.*, 2009):

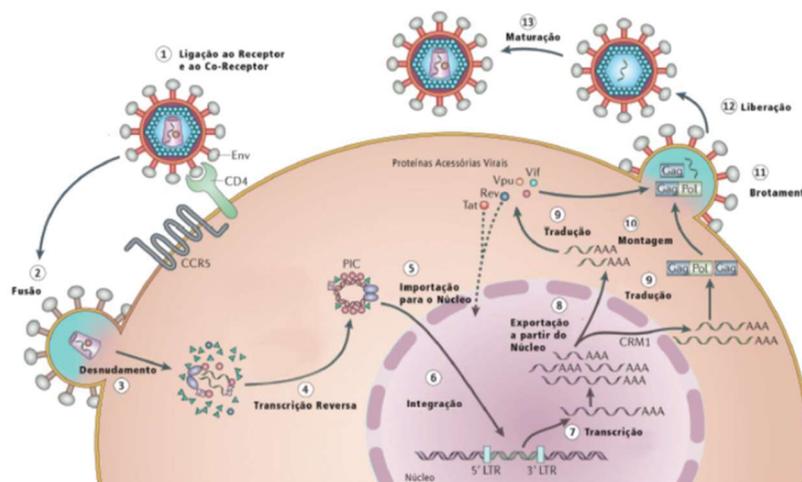
- Gene *tat* – codifica a formação da p14, responsável pela transcrição de genes provirais.
- Gene *rev* – codifica a p19, transporta o RNA viral para a tradução no plasma
- Gene *nef* – codifica a p27, que possui diversas ações, como modificação da célula hospedeira para aumentar o fitness viral e reduzir a ação do sistema imune.
- Gene *vpu* – colabora para montagem eficiente dos virions, facilidade para brotamento fora da célula, promoção de morte celular.
- Gene *vpr* – favorece a integração do DNA do HIV ao núcleo celular e codifica a p15, auxiliando na integração do DNA do HIV ao núcleo da célula.

- Gene *vif* – Gene que codifica a p23, melhorando a estabilidade nuclear do recém-criado DNA viral e aumentando a infecciosidade do mesmo e facilitando o seu transporte para o núcleo.

As figuras 4 e 5 contém o modelo esquemático do vírus HIV e seu ciclo replicativo, respectivamente:



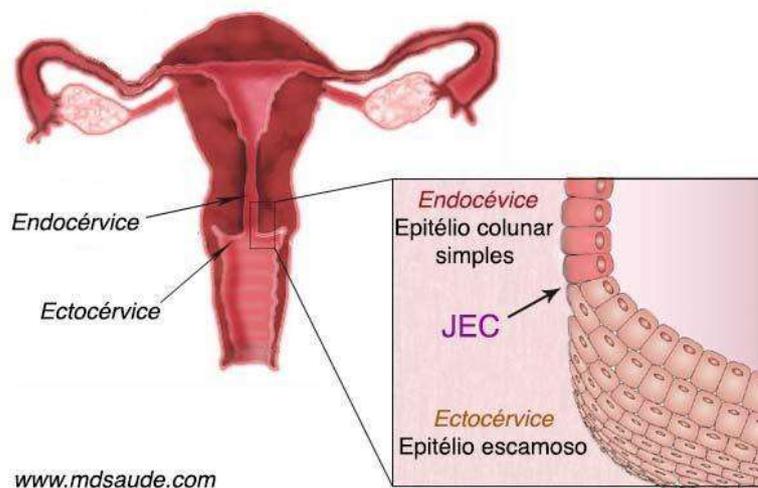
**Figura 4:** Modelo esquemático do HIV  
Fonte: MANUAL TÉCNICO HIV/AIDS, BRASIL, 2018



**Figura 5:** Ciclo replicativo do HIV-1  
Fonte: ENGELMAN & CHEREPANOV, 2012

## 2.2 A infecção pelo HPV – histologia, biologia, clínica, diagnóstico e prevenção

### 2.2.1 Características Anatômicas e Histológicas do colo uterino



**Figura 6:** Anatomia e histologia do útero e colo do útero  
**Fonte:** PINHEIRO, 2018

O sistema genital feminino possui diversos órgãos envolvidos na reprodução humana, sendo formado pelos ovários, tubas uterinas, útero, colo de útero e vagina conforme a figura 6 (NCI, 2019).

Quando delimitamos o aspecto histológico do colo do útero, verificamos que este órgão possui características semelhantes àsquelas encontradas em tecidos que revestem óstios corporais, tais como revestimentos de tecidos de laringe, seios nasais, entre outros. Neste sentido sabe-se estas aberturas contém características histológicas dicotômicas que se encaixam especificamente com um tecido epitelial escamoso estratificado não queratinizado em transição com uma área de epitélio simples colunar.

Entre os epitélios acima descritos existe uma área de transição composta por queratinócitos de rápida multiplicação, denominada zona metaplásica ou de transformação. Esta zona metaplásica ou de transformação constitui-se como uma área de junção escamo-colunar, ou JEC, de localização variável a depender do uso de anticoncepcionais orais, início da atividade sexual, entre outros fatores. Assim, a porção interna do colo do útero é conhecida como “endocérvice” e a porção exterior conhecida como “ectocérvice”. (CHOW *et al.*, 2010; NCI, 2019; INCA, 2020)

Assim, zona metaplásica ou de transformação é particularmente susceptível à infecção por HPV, através de microtraumas. Além disso, deve-se fazer especial consideração aos tipos de alto risco que podem causar a progressão lenta neoplásica com a incorporação do genoma viral ao genoma hospedeiro. Vale ressaltar que esta infecção depende de diversos fatores de risco, tais como idade precoce de início de relação sexual; uso de anticoncepcionais orais, uso de cigarros, imunossupressão, entre outros (FEBRASGO, 2016).

### 2.2.2 Ciclo celular e replicação viral

O ciclo replicação viral na célula infectada pelo HPV constitui-se de cinco etapas consecutivas, descritas abaixo: (DOORBAR, 2005)

1ª Infecção

2ª Manutenção do Genoma

3ª Fase proliferativa

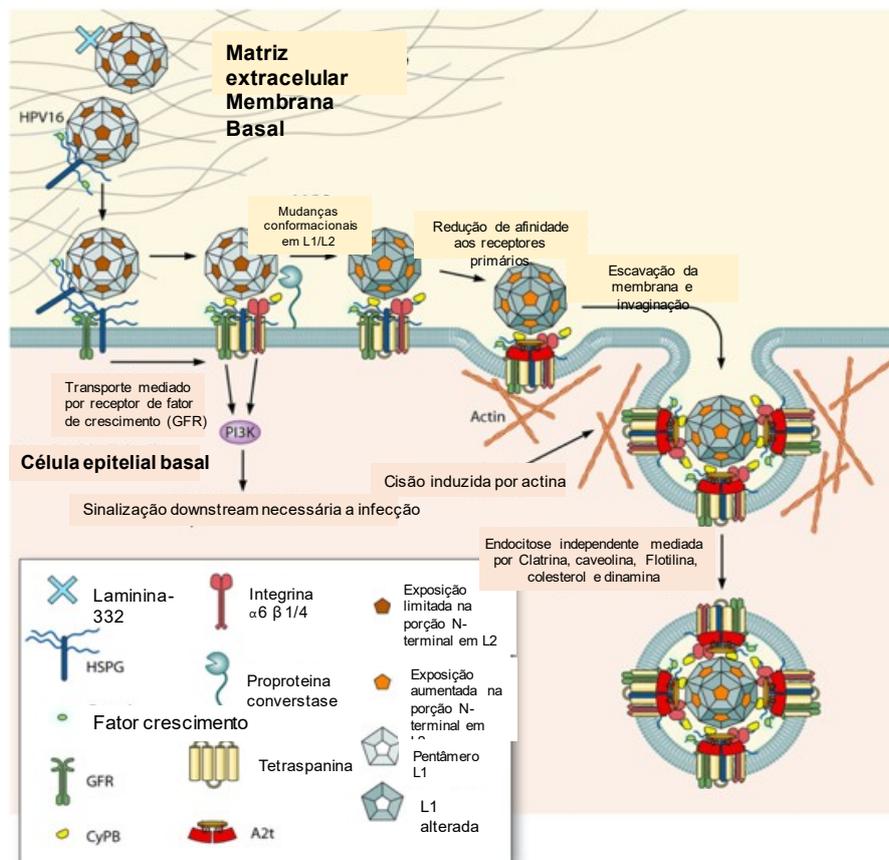
4ª Amplificação genômica

5ª Síntese e liberação de novos virions

Os passos iniciais para a multiplicação viral são os mesmos a despeito da via de infecção. Para que o vírus penetre na célula, é preciso que existam microtraumas no epitélio, expondo as células basais primitivas. Logo após os vírus se ligam ao receptor glicosaminoglicana Heparan Sulfato das células da membrana basal, e expõem um sítio de ligação chamado furina/proteína convertase, que se localiza em região aminoterminal em L2, conforme detalhado à frente. (EGAWA *et al.*, 2015; RAFF *et al.*, 2013).

Sobre este tema, foram implementados diversos modelos em murinos com utilização do HPV 16 quimérico como um modelo de desafio ao epitélio cervicovaginal. Nesta hipótese, propuseram a hipótese de uma microabrasão na mucosa e isto iria requerer a presença de uma camada indiferenciada de células próximas a camada basal que permitiria a invasão viral (ROBERTS, 2007). Neste modelo também há evidências da ligação do vírus à membrana basal e, posteriormente, progressão do vírus até o limite da base epitelial, e de lá até o limite da ferida, onde encontrará os receptores celulares. É possível que a teoria de exposição de um epitélio tão sujeito a progressão carcinogênica não seja devido à

natureza do epitélio ser susceptível à infecção *per se*, mas devido a presença de uma camada basal fina e imatura nas adolescentes e jovens mulheres, sujeita à progressão metaplásica. Estes modelos animais também propuseram a teoria de que as glicoproteínas lamininas em especial do tipo 5 teriam um papel na adesão do HPV na matriz extracelular, podendo então interagir com integrinas da superfície celular (CULP, 2006). A figura 7 abaixo traz um modelo esquemático que resume o processo de adesão do HPV 16 na mucosa e o papel da laminina 5 (também conhecida como laminina 332).



**Figura 7:** Modelo teórico para o HPV 16 de ligação a glicosaminoglicanos de superfície celular com posterior endocitose mediada por receptor. Neste modelo o vírus utiliza a laminina 5 além de outros dois eixos de ancoramento. Diversos fatores são ativados tais como fator de crescimento da epiderme (EGFR), fator de crescimento dos queratinócitos (KGFR) além de cascatas de sinalização celular com fosfatidilinositol-3-P (PI3K) entre outros sinalizadores.

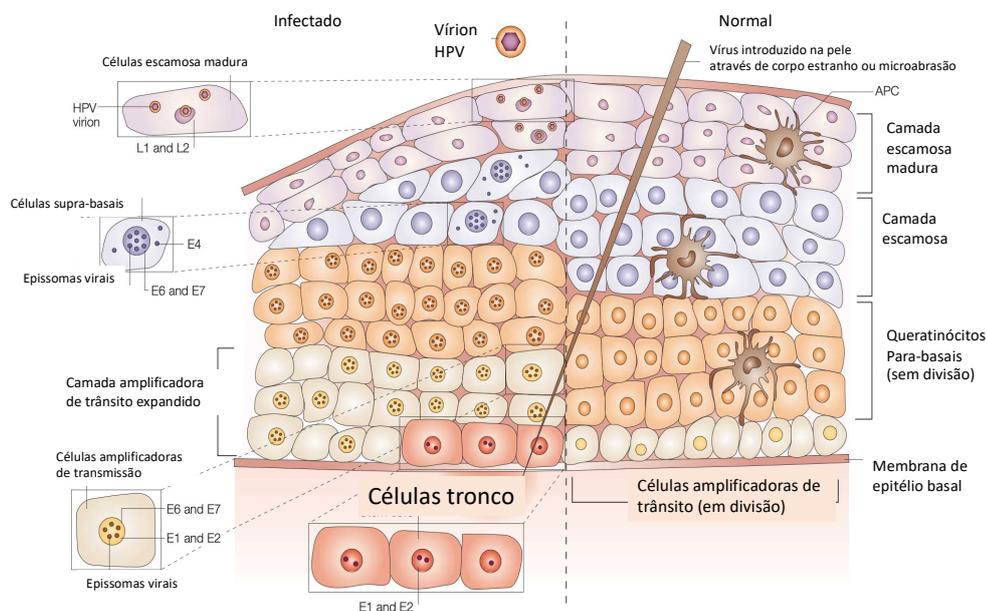
Fonte: RAFF *et al.*, 2013

Nesta figura utilizou-se como modelo o HPV 16, que se liga aos glicosaminoglicanos Heparan sulfato (HSPG), sendo que esta ligação pode ser até

mesmo em três eixos: na membrana basal, na matriz extracelular e na superfície do epitélio, usando a laminina 5. Nesta fase podemos ter a ativação de fatores tais como o fator de crescimento da epiderme (EGFR) e/ou o fator de crescimento dos queratinócitos (KGFR). Na sequência temos os fatores de crescimento em associação com o Heparan sulfato ativando a cascata de sinalização celular através da ativação de segundos mensageiros Fosfatidilinositol-3-P (PI3K). Também ocorre após a ativação pelo HSPG a uma mudança na conformação nos vírus, e isso é facilitado pela ciclofilina B (CyPB), o que permitirá a exposição de aminoácidos ao resíduo N-terminal de L2; na evolução da infecção deve-se destacar o papel da a-6 integrina que se liga ao HPV 16, o que vai desencadear uma segunda cascata de sinalização com ligação à anexina A2 heterotetrâmetro (A2t). Neste momento, há o gatilho para a endocitose dinâmica do HPV mediada por clatrina, caveolina, domínios de ligação lipídicos, flotilinas e colesterol. A própria ativação do PI3K pode estar associada ao fechamento das vesículas endocitóticas e cisão da actina. Uma hipótese ainda a ser provada trata-se do papel das tetraspaninas na formação de um domínio de membrana que enriquece a ligação de moléculas associadas ao HPV. Além disso, nesta teoria proposta, todos os receptores formam complexos únicos e estão unidos para uma ação integrada (RAFF *et al.*, 2013)

Foi proposto que a resposta de anticorpos anti-L1, caso sejam neutralizantes, pode parar o processo ainda em sua fase inicial da infecção. Se os anticorpos não forem eficazes, o processo de invasão continuará (STANLEY, 2010). Sobre este aspecto, devemos destacar o papel dos anticorpos protetores produzidos em resposta à vacina profilática para o HPV. Sabe-se que a vacina terá como mecanismo de ação a geração de anticorpos restritos ao tipo de HPV e, teoricamente, neutralizantes contra a proteína L1. Quando comparamos a produção de anticorpos pela infecção natural e via vacinação, ambas produzem anticorpos via Linfócitos B. Estudo conduzido por Sherer e colaboradores (2016) permitiu comparar a produção de anticorpos contra o HPV pela infecção natural comparados à vacinação. O estudo mostrou que a vacinação eleva a produção de anticorpos de 24 até 930 vezes (média de 77 vezes) quando comparada com a infecção natural.

A figura abaixo contém o ciclo de vida celular usando como modelo um tipo de HPV de alto risco



**Figura 8:** A arquitetura do tecido epitelial escamoso normal e a expressão das proteínas do HPV após a infecção. No tecido normal (a direita), as células filhas se dividem através da célula tronco na membrana de base e se amadurece verticalmente sem outras divisões; com a introdução do vírus HPV nas células tronco (a esquerda) da camada basal ocorre a expressão de proteínas virais não estruturais que passam a atrasar a diferenciação celular, que se torna incompleta. A produção dos vírions ocorre nas camadas mais superficiais. Além disso há supressão do sistema de defesa através da depleção do sistema de apresentação de antígeno

**Fonte:** adaptado de FRAZER, 2004

No entanto, caso a ação dos anticorpos não obtenha êxito, o processo infeccioso vai continuar ocorrendo junto com a endocitose do vírus. Posteriormente o genoma viral vai ser transportado ao interior do núcleo da célula hospedeira, e terá o auxílio da proteína do capsídeo menor L2. Neste momento ocorre um ciclo inicial de replicação do DNA, com amplificação do mesmo, atingindo 100 cópias do epissoma nuclear. Trata-se de um processo lento de replicação que demora até 24 horas para início da transcrição do genoma do vírus que se dá por uma fita de DNA. Além disso, o *fitness* viral se mantém em baixa taxa replicativa com pequena expressão das proteínas E1 e E2, até que os queratinócitos do paciente infectado iniciem a divisão celular. Vale lembrar que a amplificação de DNA viral limitada inicial é sustentada

pelas proteínas de replicação viral E1 e E2. A proteína E2 viral liga-se aos seus locais de ligação na origem de replicação viral, recrutando a helicase E1 viral permitindo a replicação. Este início de replicação é explosivo, sendo depois seguido por replicação de manutenção, durante a qual o genoma viral é mantido em um número de cópias baixo e constante de células em proliferação de uma população de células infectadas expandida inicialmente. (McBRIDE, 2008; STANLEY, 2010; RAFF *et al.*, 2013)

Após esta fase de produção de partículas virais, os genes *E1*, *E2*, *E3* e *E4* vão continuar a amplificação do genoma viral com montagem das partículas e empacotamento viral das partículas infecciosas ocorrendo nas camadas superiores e médias do epitélio cervical. Deve-se ressaltar que a liberação de novas partículas virais completas na superfície ocorre sem a lise das células parasitadas. O HPV pode persistir no ambiente e permanecer infeccioso por pelo menos vários dias sem um hospedeiro (MORGAN *et al.*, 2017). Com a infecção mais produtiva, a expressão dos genes virais necessários para a replicação é controlada, com a replicação do genoma viral ocorrendo aproximadamente uma vez por ciclo celular. No entanto, no momento em que a proteína E2 se eleva, a expressão dos genes *E6* e *E7* é desativada e ocorre uma leitura na região tardia do genoma, resultando na expressão dos genes tardios do HPV, *L1* e *L2*. Além de regular a replicação, a proteína E2 viral desempenha um papel fundamental durante a manutenção, garantindo que os genomas virais sejam fielmente particionados nas células-filhas. Nas camadas superiores dos epitélios diferenciados, o DNA viral é amplificado para um alto número de cópias (Mc BRIDE, 2008; DORBAR, 2005).

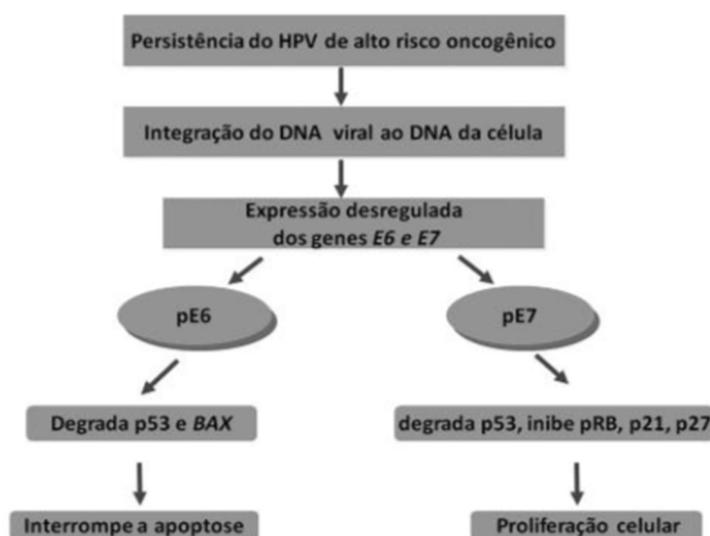
Todo o processo descrito acima vai ser semelhante a todos os tipos de HPV, com o mesmo padrão de redução de expressão de genes *E1*, *E2*, *E6* e *E7* de forma ao genoma estar sendo produzido em uma forma episossomal e mais lenta. Entretanto, quando se delimitam os tipos virais relacionados ao desenvolvimento de neoplasias, verifica-se que a ocorrência dos cânceres relacionados ao HPV trata-se de um evento singular específico de alguns tipos oncogênicos e cujo desenvolvimento está relacionado à perda do ciclo de vida do HPV. Neste sentido, o próximo passo é a integração do genoma viral à célula hospedeira (WENTZENSEN *et al.*, 2004; DOORBAR, 2005, SNIJDERS *et al.*, 2006).

Durante o processo de integração o primeiro evento observado é a perda do gene *E4* e uma parte do gene *E2*. Com esta perda de função, de forma consequente

haverá uma maior expressão dos genes *E6* e *E7* e logo não ocorrerá o amadurecimento das células hospedeiras com produção de vírus (SCHEURER TORTOLERO-LUNA & ADLER-STORTHZ, 2005; WENTZENSEN *et al.*, 2004).

Logo, diferenciam-se as lesões de baixo grau (neoplasia intraepitelial Grau I) das lesões de alto grau (neoplasia intraepitelial graus II e III) através dos aspectos relacionados a fatores tais como perda de polaridade, maturação das células e perturbação da arquitetura tecidual, associando-se à perda da capacidade de se completar o ciclo reprodutivo do vírus. No ciclo transformador (ou não produtivo), não acontece a expressão ordenada dos genes e o ciclo de vida normal do HPV não pode ser completado, resultando em infecção não produtiva ou abortiva. O maior risco de integração e consequente desenvolvimento de câncer ocorre como resultado de infecção persistente prolongada por muitos anos (RAFF, 2013).

Ou seja, para um potencial oncogênico se manifestar há necessidade de ativação dos genes *E6* e *E7*, os quais vão ativar uma série de proteínas reguladoras do ciclo celular e genes supressores de tumor (BURD, 2016; DOORBAR, 2005). O papel das proteínas virais que atuam sobre o ciclo celular é resumido na figura 9 abaixo:



**Figura 9:** As proteínas virais e o ciclo celular  
Fonte: FERRAZ *et al.*, 2012.

De acordo com a figura, verifica-se uma intrínseca relação entre os genes *E6* e *E7* e genes relacionados ao ciclo celular. Um dos exemplos trata-se do gene

supressor de tumor *p53*, que possui como uma de suas funções atuar nas principais vias de controle do ciclo celular, reparo do DNA e indução da morte celular por apoptose, ao ativar a transcrição dos genes *p16*, *GADD45* e *BAX* (ELEUTÉRIO JUNIOR, 2006). Assim sendo o gene *p53* trata-se de um “guardião” do genoma, pois ele impede a transformação neoplásica usando basicamente três mecanismos:

1º Interrompe o ciclo de vida celular com células de DNA alterados;

2º Promove o reparo do DNA;

3º Instala a apoptose em células quando da não possibilidade de reparo de DNA.

A divisão celular possui intrínseca relação com a ação deletéria dos oncogenes do HPV e precisa ser estudada de forma mais aprofundada. Neste sentido, sabe-se que em todas as fases da mitose ocorre uma cadeia de eventos sequencial e dependente de fatores de crescimento, receptores celulares, ativação de diversos mecanismos de transdução de sinal e de transcrição de genes tais como c-JUN e c-MYC. A fase G1 do ciclo celular possui regulação por meio das ciclinas, que se associam aos complexos cinases-ciclina dependentes (CDKs) (GRAHAM, 2017).

Um papel importante na regulação o ciclo celular trata-se do gene *pRB* e sua proteína *pRB* são essenciais na progressão da fase de transição G1 para a fase S do ciclo celular. Esta proteína possui relação intrínseca com a proteína de regulação gênica E2F que quando está ligada à *pRB* permanece com sua ação bloqueada, e portanto, o ciclo celular parado em G1. Entretanto com a ligação dos complexos CDK ocorre hiperfosforilação da *pRB* com desligamento da E2F e continuidade do ciclo celular (SINGH *et al.*, 2010).

Nas células sem anormalidades, diversas proteínas fazem este papel de controlar o ciclo celular. Trata-se dos inibidores de CDK (CKIs), São exemplos destes inibidores a *p21* e a *p16<sup>INK4</sup>*, que bloqueiam a atividade dos complexos CDK sobre a proteína *pRB* e assim ocorre parada do ciclo celular em G1, permitindo que o DNA seja reparado antes de ser replicado (KLAES *et al.*, 2001). Um outro gene que possui estreita relação com *p53* trata-se do gene *BAX* que é responsável pela indução de apoptose nas células de DNA lesado (WENTZENSEN *et al.*, 2004).

A ação deletéria oncogênica dos genes *E6* e *E7* do HPV trazem consequências danosas à JEC do hospedeiro. Por um lado, a proteína E6 está relacionada à degradação da *p53* levando à desregulação de apoptose, evento também guiado pela proteína promotora *BAX* que sofre degradação pela mesma E6. Este processo vai comprometer a integridade do DNA replicado, gerando

instabilidade cromossomal, imortalização, proliferação das células anormais com progressão do tumor. Soma-se a isso a ação da E7, que inibirá a atividade da pRB que possui estabilidade de ligação com a proteína de transcrição E2F. Entretanto a inativação da pRB levará à liberdade de ação de E2F, que por conseguinte resultará em aumento de replicação do genoma infectado e transformado permitindo a progressão da doença maligna. (GANGULY, 2009; KLAES *et al.*, 2001). Vale ressaltar que, nos últimos anos, mecanismos adicionais de transformação vêm sendo descritos, onde a metilação de genes supressores de tumores do hospedeiro poderá gerar efeito equivalente ao do evento de integração (CARESTIATO *et al.*, 2018)

### 2.2.3 Mecanismo de agressão e resposta do hospedeiro ao HPV

O mecanismo de agressão celular e resposta do hospedeiro ao HPV estão intrinsicamente ligados à engenharia do genoma e a resposta imune, em especial a fatores bioquímicos, histológicos, imunológicos, entre outros que vão mediar o balanço de agressão do vírus em detrimento da capacidade de o sistema imune em resistir. Entretanto há ainda muitas questões sobre este tema a serem respondidas e que, à luz da imunologia, ainda dependem de comprovações, dada a dificuldade de se trabalhar com a infecção pelo HPV em modelos animais e *in vitro*, mesmo com os avanços destas técnicas nos últimos anos (EINSTEIN, 2009).

Quanto às teorias a respeito do processo infeccioso e a consequente resposta imune do indivíduo, ainda permanecem diversas controvérsias, dentre as quais podemos destacar (STRICKLER *et al.*, 2005):

- A real proporção de infectados pelo HPV que se curam por regressão espontânea e a real carga da doença;
- A quantidade de células infectadas que são o gatilho para a progressão (ou não) da infecção viral;
- A proporção real de casos de infecção cervical por HPV feminina que na verdade são reativação de infecções latentes ou são novas infecções;
- O conhecimento dos mecanismos imunes associados à infecção pelo HPV na mulher imunocomprometida e imunocompetente.

Independente das questões teóricas relacionadas à resposta do hospedeiro à infecção pelo HPV, sabe-se que devido ao fato de o vírus infectar camadas basais

do epitélio cervical e isso não gerar viremia, os HPV escapam do sistema imune circulante tornando a infecção estável. Um exemplo é a replicação não lítica, impedindo a resposta imune inata em resposta à morte celular. Além disso, as proteínas virais não são expressas em níveis detectáveis até que ocorram fases finais do ciclo biológico do vírus. Todas estas dificuldades, quais sejam a limitada resposta imune inata e a menor expressão gênica no epitélio basal, vão claramente afetar a resposta imune adaptativa (EINSTEIN, 2009).

Neste sentido, o estudo Wakabayashi e colaboradores (2019) relacionou fatores como a interação entre o hospedeiro e a virulência do HPV na carcinogênese e suas relações com o microbioma.

Neste estudo são descritos aspectos virológicos e genéticos, bem como mecanismos de agressão viral durante o processo de carcinogênese. Este não é um fenômeno comum, depende do tipo do HPV (baixo ou alto risco) bem como dos mecanismos de resposta do hospedeiro. Neste caso, fatores inerentes a menor resposta imune ao HPV, tais como a falta e liberação de citocinas pró-inflamatórias, podem limitar a ativação dos macrófagos teciduais (WAKABAYASHI *et al.*, 2019)

O sistema imune inato é a primeira linha de defesa e envolve barreiras físicas tais como a pele, e fatores solúveis tais como citocinas e fatores inflamatórios bem como componentes celulares como células *natural killer* (NK), monócitos, macrófagos e células dendríticas. As células com invasão tecidual pelo HPV podem expressar fatores teciduais, tais como os fatores ND10, IFIT1, IFI16, APOBEC, entre outros, que são responsáveis por inibir diretamente a replicação do HPV. Infelizmente o vírus HPV consegue evadir destes mecanismos (PORTER, 2017).

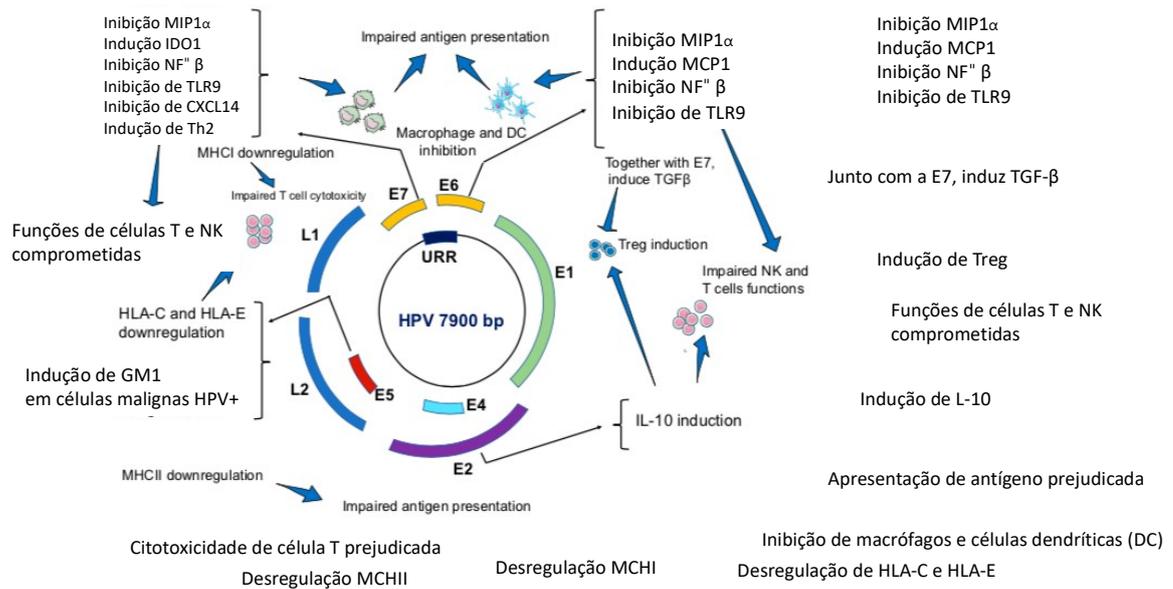
Na mesma linha da resposta inata, as células também produzem alguns receptores de recepção de patógenos (PRRs), bem como a família dos *Toll-like receptors* (TLR). Um exemplo trata-se do TLR9 que é implicado no reconhecimento de motivos de DNA ligados ao genoma do HPV, com ação pró inflamatória de INF-1 (ZAUNER *et al.*, 2010).

Entretanto, o HPV desenvolveu estratégias para evadir o sistema imune, e o faz através dos genes *E7* e *E6*, que reduzem a ativação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B. Este último tem a função de ativar as citocinas IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\alpha$  e INF- $\beta$ . Os HPV 16 e 18 inibem, ainda, a transcrição de citocinas e quimiocinas, tais como CCL5 e IL-1 $\beta$ . Vale ressaltar também os mecanismos de evasão do HPV 16 através dos produtos dos oncogenes *E6* e *E7* que diretamente realizam *downregulation* nos

TLR9 (RICHARDS *et al.*, 2015; YU *et al.*, 2017; KARIM *et al.*, 2011; HASAN *et al.*, 2007).

Do ponto de vista da resposta imune adaptativa, diversas células apresentadoras de antígenos (APC) tais como os macrófagos, células dendríticas ou algumas amostras de células de linfócitos B, podem expressar o MHC tipo II e assim proceder à apresentação para os linfócitos T CD4 e desempenhando papel importante na imunidade celular por meio de ativação de linfócitos CD3 e CD8 (Bashaw *et al.*, 2017). A figura abaixo contém um resumo de todas as funções e citocinas produzidas pelos genes do HPV.

É importante destacar o papel do HLA tipo C e HLA tipo E, os quais sofrem downregulation pelo oncogene E5. A falta da expressão do HLA de classe I acarretará em prejuízo da expressão das células NK e linfócitos T CD8 (ESPINOZA & MINAMI, 2018)



**Figura 10:** moléculas produzidas por ação dos genes do HPV e sua ação sobre o sistema imune. As citocinas pró e anti-inflamatória produzidas pelo hospedeiro em resposta ao vírus podem inibir ou induzir o sistema imune a um mosaico de mecanismos que poderão refletir em cura ou escape viral com evolução para o processo de infecção persistente.

Fonte: WAKABAYASHI *et al.*, 2019

Entretanto, da mesma forma que ocorre em diversas doenças infecciosas, o fenômeno dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP - *single nucleotide polymorphisms*) também já foi descrito na infecção pelo HPV e pode estar relacionado tanto a fator de proteção como fator de risco para a ocorrência de maior gravidade. Um exemplo trata-se da variante DRB1\*1301 que está associada a menor risco de câncer de colo de útero; por outro lado, o alelo DRB1\*1302 está ligado à maior progressão de NIC I para NIC II/III (CUZICK *et al.*, 2000; SASTRE-GARAU *et al.*, 2004; MATSUMOTO *et al.*, 2015).

Uma outra frente de estudos sobre o HPV e imunidade, trata da relação entre este vírus e o microbioma local. Há forte evidência de que a infecção pelo HPV e o HIV podem se relacionar no contexto da redução da imunidade causada pelo HIV, levando a mulher a desenvolver lesões pré-malignas e lesões precursoras de câncer. Entretanto o uso de terapia antirretroviral de alta potência para o HIV (HAART) não melhorou a capacidade de clareamento do HPV e a redução da lesões pré-malignas (PALEFSKY, 2006; KELLER *et al.*, 2006). Neste sentido, já se sabe que a infecção pelo HPV reduz a frequência da bactéria simbiote *Lactobacillus sp.* Além disso, diversos estudos comprovam que a presença da fusobactéria *Sneathia spp.* está mais aumentada em mulheres com HPV e pode funcionar como biomarcador da infecção. Logo, já existem provas de que a microbiota intestinal pode influenciar os desfechos do HPV podendo levar ao quadro de disbiose e este para a displasia cervicovaginal e o desenvolvimento do câncer cervical (BRUSSELAERS *et al.*, 2018).

### 2.3 Transmissão, manifestações clínicas e fatores de risco

A infecção pelo HPV é universal, podendo acometer homens e mulheres. O vírus pode se instalar em qualquer região do corpo, desde que haja uma porta de entrada, como microlesões na pele ou mucosas. Portanto este vírus tem como mecanismo de transmissão primário qualquer tipo de intercurso sexual, e logo, as mulheres sexualmente ativas, em especial as mais jovens, possuem no início da vida sexual altas taxas de infecção. Assim, após dois anos da sexarca, 50% das mulheres já apresentam teste positivo para a presença do DNA de HPV (FEBRASGO, 2016; BRASIL, 2018). Deve-se atentar que a transmissão raramente ocorre por fômites. Entretanto, o HPV pode ser transmitido no canal de parto com posterior ativação de lesões cutâneomucosas em recém-nascidos, bem como a evolução futura para papilomatose laríngea recorrente. (BRASIL, 2018).

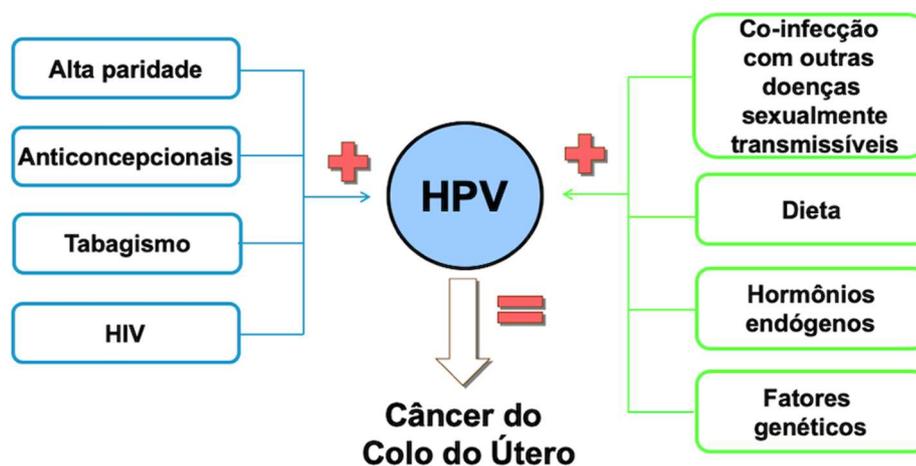
Da mesma maneira que o início da sua vida sexual é marcado pela maior prevalência da infecção pelo HPV, à medida que a idade se eleva há uma gradativa redução da infecção por este vírus com a idade, apresentando novo pico em mulheres com cerca de acima de 50 anos, em especial com tipos oncogênicos tais como o tipo 18 (GILLISON *et al.*, 2014).

Após instalada a infecção, esta pode permanecer assintomática ou manifestar lesões sintomáticas, relacionadas a desfechos associados tanto aos tipos de baixo como de alto risco do vírus. As lesões de baixo grau são associadas a infecções benignas, tais como as verrugas e papilomas na pele e nos epitélios das mucosas do hospedeiro humano, gerando os condilomas e papilomatoses. Por outro lado, os genótipos de alto risco estão associados aos tumores relacionados ao HPV (câncer de pênis, câncer anal, câncer de vulva, câncer cervical, entre outros) (BURD, 2016; DE VILLIERS *et al.*, 2004; LETO *et al.*, 2011)

Quando se delimita o tempo de contato com o vírus para o desenvolvimento da infecção pelo HPV, sabe-se que o período de incubação médio pode variar de acordo com o tipo viral, variando de dois a oito meses (tempo médio para desenvolvimento de lesões de verrugas genitais), mas pode demorar até 20 anos entre a infecção pelo HPV de alto risco e o estabelecimento do câncer cervical. Estudos apontam também a relação com a capacidade de persistência e o estado imunológico do hospedeiro (FEBRASGO, 2016; MANUAL DE INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, MS, 2018)

A infecção natural pelo HPV com a produção de anticorpos não neutralizantes não impede a futura infecção múltipla por outros tipos de HPV. Tabagismo e deficiências imunológicas, incluindo as causadas pela infecção pelo HIV, alterações na nutrição, cânceres e drogas imunossupressoras, além de o uso de anticoncepcionais orais e outras infecções sexualmente transmissíveis (IST) também são fatores predisponentes, entre outros. A figura 11 abaixo contém um resumo dos principais fatores de risco para a infecção pelo HPV (CASTELLSAGUÉ & MUÑOZ, 2003; MANUAL DE INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS, MS, 2018).

### Fatores Associados Estabelecidos e Potenciais Envolvidos na Carcinogênese cervical ALÉM do HPV



**Figura 11:** Fatores de risco para a carcinogênese  
Fonte: CASTELLSAGUÉ & MUÑOZ, 2003

## 2.4 Epidemiologia HIV e HPV

### 2.4.1 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo HIV no Brasil

A chegada do vírus HIV no Brasil data do início da década de 1980, e sua epidemiologia possui algumas diferenças importantes no que se refere à lógica da notificação de casos da doença AIDS instalada, em comparação a simples notificação da pessoa que vive com o HIV. Assim sendo, devemos reconhecer que a série histórica de casos de AIDS vem sendo monitorada em seus aspectos epidemiológicos desde 1986, ano em que se iniciou a notificação compulsória desta doença. Por outro lado, a simples comprovação laboratorial da infecção pelo HIV já faz parte da Lista nacional de doenças de notificação compulsória desde 2014 (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HIV/AIDS, MS 2018; BENZAKEN *et al.*, 2019)

De acordo com os dados da linha temporal, desde 1980 observa-se uma tendência de queda dos números absolutos de AIDS, em especial nos últimos cinco anos. Do início da série histórica até a divulgação do último boletim em 2019, já foram notificados cerca de 966.058 casos de AIDS, sendo a média anual de 39.000 casos notificada de 2013 a 2018. Em 2018 foram notificados 43.941 casos de infecção pelo HIV, sendo que região sudeste respondeu por 37,7% dos casos notificados da doença. No entanto tem sido verificada uma redução de casos de AIDS desde 2013. Esta redução também se observa nos indicadores de incidência em que pese a redução de 17,6%, com achado de incidência 21,6/100.000 habitantes em 2008 em comparação a 17,8/100.000 habitantes em 2018. No entanto devemos ressaltar que alguns estados apresentaram grande elevação de incidência em comparação a 2008: trata-se do exemplo do Acre, com 33% a mais de incidência de casos em 2018 em comparação a 2008, conforme a figura 12 (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HIV/AIDS, MS 2019; MONITORAMENTO CLÍNICO HIV/AIDS, MS 2018).

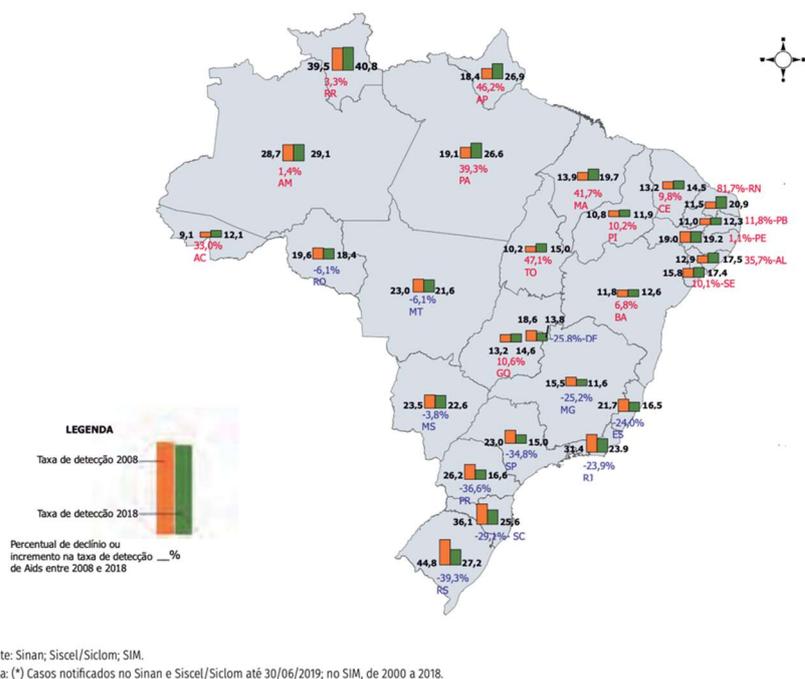
Um dado epidemiológico importante que deve ser visto de forma mais amíúde trata-se do elevado percentual de casos em indivíduos de 25 a 39 anos sendo que de cerca de 53% de todos os indivíduos do sexo masculino estão nesta faixa etária, apesar de nos últimos 10 anos diversas outras faixas etárias masculinas terem obtido elevação de casos. Há destacada tendência a elevação de casos em homens

em comparação as mulheres nos últimos 10 anos, sendo a razão de 26 casos em homens para cada 10 casos em mulheres.

Outro dado epidemiológico que vem reiterar esta maior tendência vista anteriormente reporta o perfil de comportamento de risco dos indivíduos soropositivos. Neste sentido o último boletim de 2018 trata do percentual em 78,9% de transmissão sexual, sendo 40% a categoria predominante de exposição homo/bissexual, em comparação à exposição heterossexual (38,7%). Entretanto verifica-se uma acentuada redução de casos de transmissão por via drogas injetáveis nos últimos 10 anos (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HIV/AIDS, MS 2019).

A despeito dos casos de infecção pelo HIV ainda sem manifestação da doença, os dados se elevaram desde sua obrigatoriedade em 2014 e hoje se situam na média entre 40 e 45.000 casos anuais, tendo já sido identificados cerca de 866.000 casos. Este número pode se elevar devido a maiores instrumentos de vigilância para otimizar a sensibilidade do diagnóstico com instrumentos tais como: distribuição de kits de testes rápidos para gestantes com a Rede Cegonha; implantação do protocolo “tratamento para todos”, iniciada em dezembro de 2013 (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HIV/AIDS, MS 2019; BENZAKEN *et al.*, 2019).

Deve-se reconhecer também outros marcos importantes na luta contra a AIDS no Brasil: a implementação gratuita dos HAART (sigla em inglês *highly active antiretroviral therapy*), quais sejam os antirretrovirais de elevada potência aos pacientes com AIDS em 1996 e a formalização do uso de antirretrovirais em todas as pessoas vivendo com AIDS independente de sua contagem de títulos de CD4, em 2013. Por último dentro da política de “tratamento para todos”, destacamos a combinação de estratégias tais como: oferta de preservativos masculino e feminino; oferta regular de testes rápidos de HIV e outras IST; e também a oferta de profilaxia pré e pós exposição, todos com impacto na redução de casos de HIV (BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HIV/AIDS, MS 2019; BENZAKEN *et al.*, 2019)



**Figura 12:** Taxa de detecção de aids (por 100.000 hab.) e percentual de declínio ou incremento, segundo UF de residência, por ano de diagnóstico. Brasil, 2008 e 2018  
Fonte: BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO HIV/AIDS, MS 2019

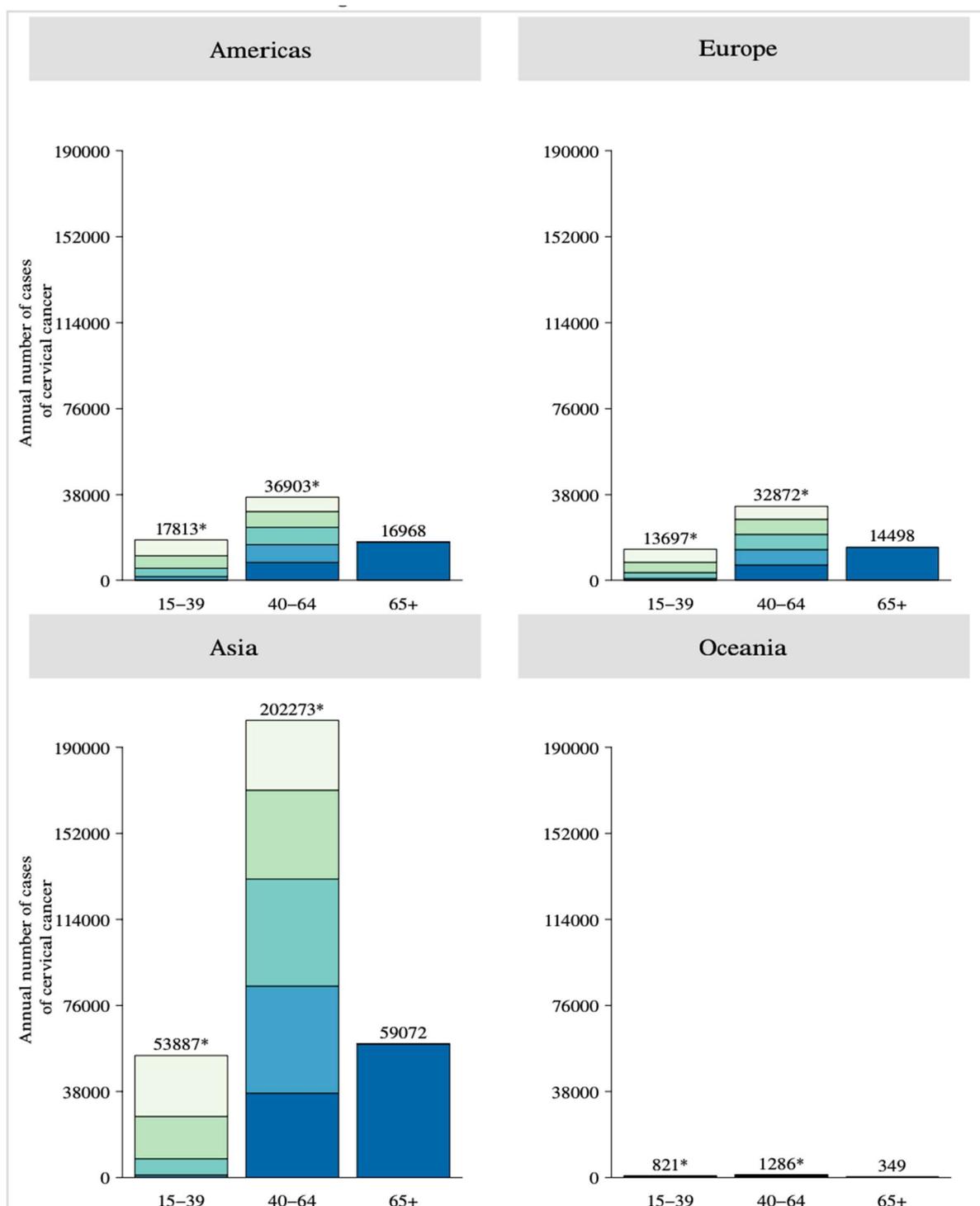
#### 2.4.2 Aspectos epidemiológicos da Infecção pelo Papilomavirus no mundo e Brasil

Em relação as IST, a infecção pelo HPV é a doença viral mais prevalente no mundo. Estimativas de risco colocam a chance de um indivíduo adquirir HPV em 15 a 25% em cada nova parceria sexual e que 80% das mulheres vão ter contato e adquirir o HPV em algum momento da vida, acarretando uma taxa de prevalência de cerca de 11 a 12% da população mundial, e em mulheres, taxas de 16 a 24% (FORMAN, DE MARTEL & LACEY, 2012).

Em termos de prevalência de doenças sabe-se que 0,15 a 2% da população apresentam verrugas genitais e 2% a 5% das mulheres apresentam alterações do Papanicolau provocadas por infecção pelo HPV.

De acordo com o último boletim epidemiológico sobre HPV e seus desfechos em todo mundo, publicado em 2019, estima-se que a população mundial feminina a partir de 15 anos seja da ordem de 2,784 bilhões. Destes, sabe-se que existem em todo mundo 569.847 casos anuais de câncer de colo do útero e 311.365 casos de óbitos, taxa de incidência média de 13,1 casos/100.000 habitantes. (BRUNI *et al.*, 2019; WHO, 2017; Manual ISTs Brasil, 2018)

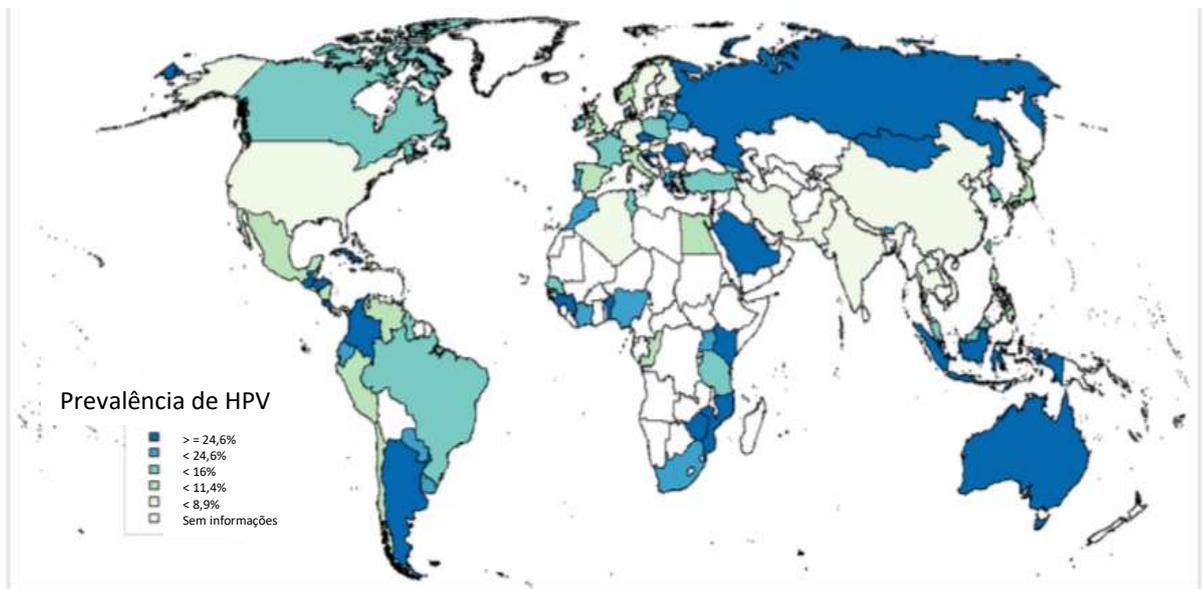
A distribuição mundial de casos de câncer de colo de útero por faixas etárias é vista na Figura 13 abaixo:



**Figura 13:** Epidemiologia mundial do Câncer de colo de útero por faixas etárias, 2018.

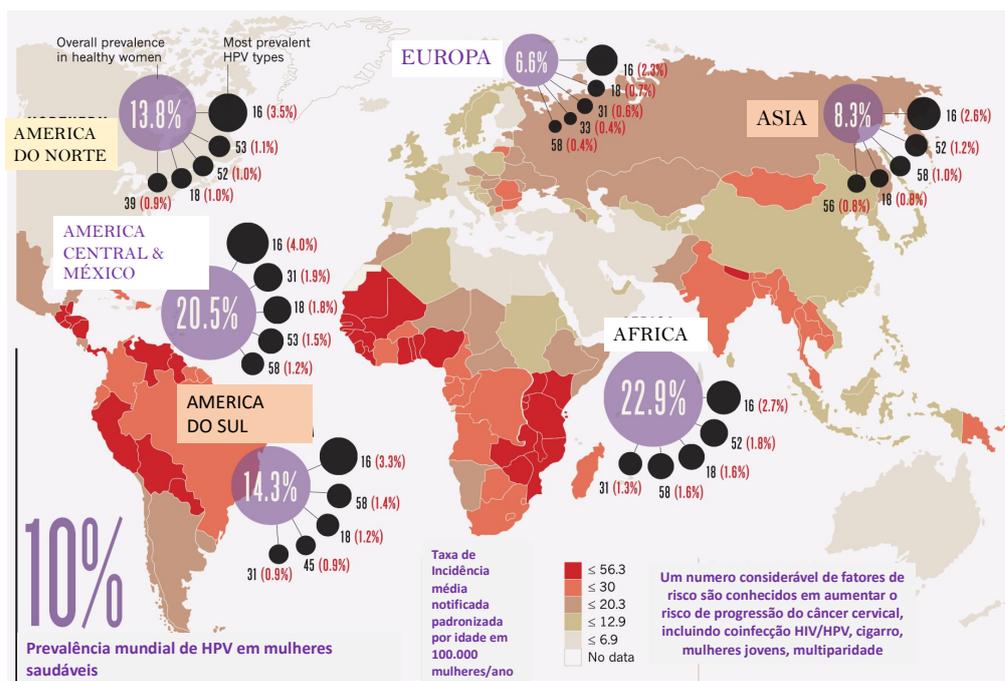
Fonte: BRUNI *et al.*, 2019.

Um aspecto importante a ser relacionado trata-se do relatório da OMS que analisou a presença do HPV e seu impacto em mulheres com citologia cervical normal. Dados mundiais em 453.184 citologias testadas em que se pesquisou os tipos 16 e 18 (que representam mais de 70% dos tipos responsáveis por doenças) concluíram que as lesões de HPV de alto grau correspondiam a mais de 50% das amostras genotipadas, enquanto lesões pelos HPV de baixo grau corresponderam a não mais que 30% das amostras (BRUNI *et al.*, 2019). A figura 14 abaixo contém um mapa epidemiológico das maiores prevalências de HPV em mulheres com citologia normal.



**Figura 14:** Prevalência de HPV em pessoas com citologia cervical normal  
Fonte: BRUNI *et al.*, 2019.

Quando delimitamos aspectos em relação à maior expressão de um determinado tipo viral em relação a um outro, devemos ficar atentos que esta epidemiologia molecular possui variações por países e continentes. A figura 15 abaixo contém um resumo dos principais tipos virais encontrados nos continentes:



**Figura 15:** Prevalência Global dos principais tipos de HPV presentes no câncer cervical

**Fonte:** CROW JM, 2012

Em relação aos tipos menos comuns do HPV, há estudos que correlacionam a maior prevalência do tipo 45 na parte oeste da África. Por outro lado, os tipos 39 e 59 foram mais encontrados nas Américas Central e do Sul. (Bosch *et al.*, 1995).

Quando delimitamos a população brasileira, a mesma publicação da OMS em seu relatório de 2019 traz diversos resultados compilados obtidos de diversas publicações nacionais e, neste sentido, cabem as seguintes reflexões sobre os nossos dados (BRUNI, 2019):

- A taxa de incidência de câncer cervical por 100.000 mulheres é da ordem de 12,2 casos em 2018;
- Uma revisão sistemática com 28 estudos brasileiros conduzidos entre 1995 e 2014 em todas as regiões brasileiras demonstrou prevalência média da infecção por HPV da ordem de 2,3 a 35% em mulheres com citologia normal;
- Quando delimitada a prevalência do HPV 16 em citologias normais nos estudos brasileiros, foram selecionados 10 estudos de 1996 a 2014 e estes apresentaram prevalência que variou de 0,5 a 14,5%;

Entre os estudos contidos no relatório da OMS destaca-se o estudo conduzido por Carestiato e colaboradores (2006). Trata-se de um estudo de

prevalência conduzido por 2 anos na cidade do Rio de Janeiro com 7.314 participantes homens e mulheres, sendo 5.833 mulheres que tiveram amostras de esfregaço vaginal obtidas para fins de estudo de captura híbrida de DNA e Papanicolau. Os resultados obtidos mostraram que a Positividade do HPV em 44,9% da amostra feminina pela captura híbrida. Deste grupo a infecção por tipos de HPV de alto risco foi na ordem de 25,5% e baixo risco em 5,1%. Os tipos múltiplos de alto e baixo risco em corresponderam a 14,3% da amostra.

## **2.5 Métodos diagnósticos do HPV**

### **2.5.1 Colpocitologia oncológica ou Papanicolau**

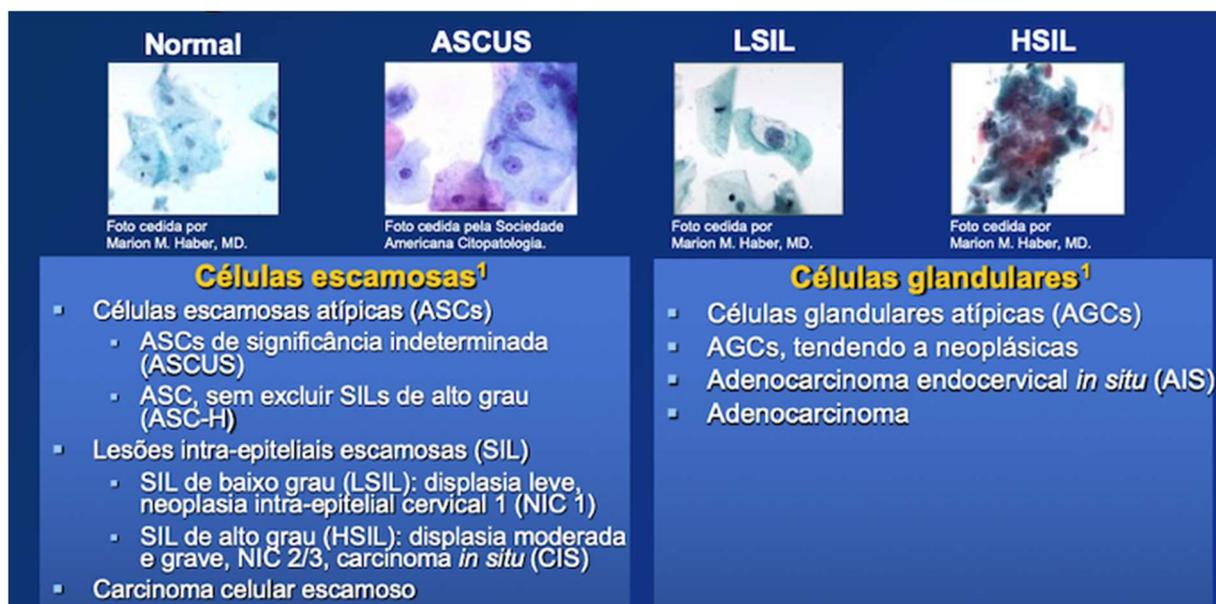
Consiste na coleta de uma amostra da parte externa (ectocérvice) e outra da parte interna (endocérvice) da cérvice uterina. Trata-se de um método simples, que permite identificar desde células alteradas sugestivas de infecção por HPV até lesões malignas, através de coloração multicrômica de lâminas contendo células cervicais esfoliadas. (CAD. BASICA, MS, 2013; FEBRASGO, 2016)

Para a coleta do material, é introduzido um espéculo vaginal e procede-se à escamação ou esfoliação da superfície externa e interna do colo por meio de uma espátula de madeira (de Ayre). Caso a junção escamo colunar não seja atingível pela espátula, utiliza-se também a escova endocervical.

A coleta deverá ser feita pelo médico, durante avaliação clínico-ginecológica completa. Entretanto, o enfermeiro treinado realizará coletas regularmente, quando esta ação contribuir para uma maior abrangência da prevenção.

Em um estudo desenvolvido no Instituto de Prevenção do Câncer (IPC), em 2009, no município de Fortaleza, foram aplicados a sensibilidade, a especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) para citologia. Os resultados obtidos foram: sensibilidade de 89,8%, uma especificidade de 35,7%, VPP de 90,7% e VPN de 33,3% (LIMA *et al.*, 2012).

Devemos sempre nos atentar para a classificação referente a citologia cervical disponível pela nomenclatura do sistema de Bethesda, de 2001, e resumida na figura 16 abaixo:



**Figura 16:** Sistema de Classificação da Colpocitologia Oncótica.

Fonte: FEBRASGO, 2016; SOLOMON *et al.*, 2002

Quanto à periodicidade entre os exames de Papanicolau, diversos estudos recomendam que, na presença de um exame de colpocitologia oncótica negativa em mulheres de 35 a 64 anos, o intervalo para o próximo exame possa ser realizado em três anos. Esta premissa se baseia em estudos que avaliaram o efeito protetor do Papanicolau na redução da incidência cumulativa de câncer de colo do útero após um exame negativo, sendo os próximos realizados com 1, 2, 3, 5 e 10 anos. Assim, tem-se a tabela 3 abaixo que correlaciona o tempo entre o exame de Papanicolau negativo e o percentual de incidência cumulativa de Ca de colo do útero.

**Tabela 3:** Efeito do intervalo entre os exames de Papanicolau na redução da incidência cumulativa de Ca de colo de útero

Intervalo entre os preventivos	Redução na incidência cumulativa
1 ano	93%
2 anos	93%
3 anos	91%
5 anos	84%
10 anos	64%

Fonte: VAN OORTMARSSSEN *et al.*, 1992.

Em relação aos estudos que embasaram a relação entre a descoberta da lesão pré neoplásica e o desenvolvimento de carcinoma *in situ*, tem-se que o

primeiro relato neste sentido tratou-se do estudo de Barron & Richart (1968). Estes autores especularam que na ausência de tratamento, o tempo médio entre a detecção de uma displasia leve (ou NIC I) e o desenvolvimento de carcinoma *in situ* é de 58 meses. Entretanto, no caso de displasias moderadas a severas (NIC II/III) este tempo pode variar de 12 a 38 meses. (SAWAYA *et al.*, 2001, NCI 2019).

### 2.5.2 Colposcopia

Os exames de Papanicolau com resultados alterados seguem o fluxo de serem investigados de forma mais aprofundada no sentido de se delimitar a margem da lesão na zona de transformação. Logo usa-se o método da Colposcopia, exame que detecta microcarcinoma de colo uterino, permitindo a avaliação histológica por meio de biópsia (CAD. BASICA, MS, 2013; MANUAL FEBRASGO, 2010)

Na rotina diária de uma unidade de Saúde, considera-se o seguinte fluxo de encaminhamento para a colposcopia conforme figura 17 abaixo que relaciona as principais indicações da Colposcopia:

Resultados			Grau de suspeição	Conduta
Atipias de significado indeterminado	Em células escamosas	Provavelmente não neoplásica	Menor	Repetição da citologia em 6 meses ( $\geq 30$ anos) ou 12 meses ( $< 30$ anos)
		Não se pode afastar lesão de alto grau	Maior	Encaminhamento para colposcopia
	Em células glandulares	Provavelmente não neoplásica	Maior	Encaminhamento para colposcopia
		Não se pode afastar lesão de alto grau	Maior	Encaminhamento para colposcopia
	De origem indefinida	Provavelmente não neoplásica	Maior	Encaminhamento para colposcopia
		Não se pode afastar lesão de alto grau	Maior	Encaminhamento para colposcopia
Atipias em células escamosas	Lesão intraepitelial de baixo grau		Menor	Repetição da citologia em seis meses
	Lesão intraepitelial de alto grau		Maior	Encaminhamento para colposcopia
	Lesão intraepitelial de alto grau, não podendo excluir microinvasão		Maior	Encaminhamento para colposcopia
	Carcinoma epidermoide invasor		Maior	Encaminhamento para colposcopia
Atipias em células glandulares	Adenocarcinoma <i>in situ</i>		Maior	Encaminhamento para colposcopia
	Adenocarcinoma invasor		Maior	Encaminhamento para colposcopia

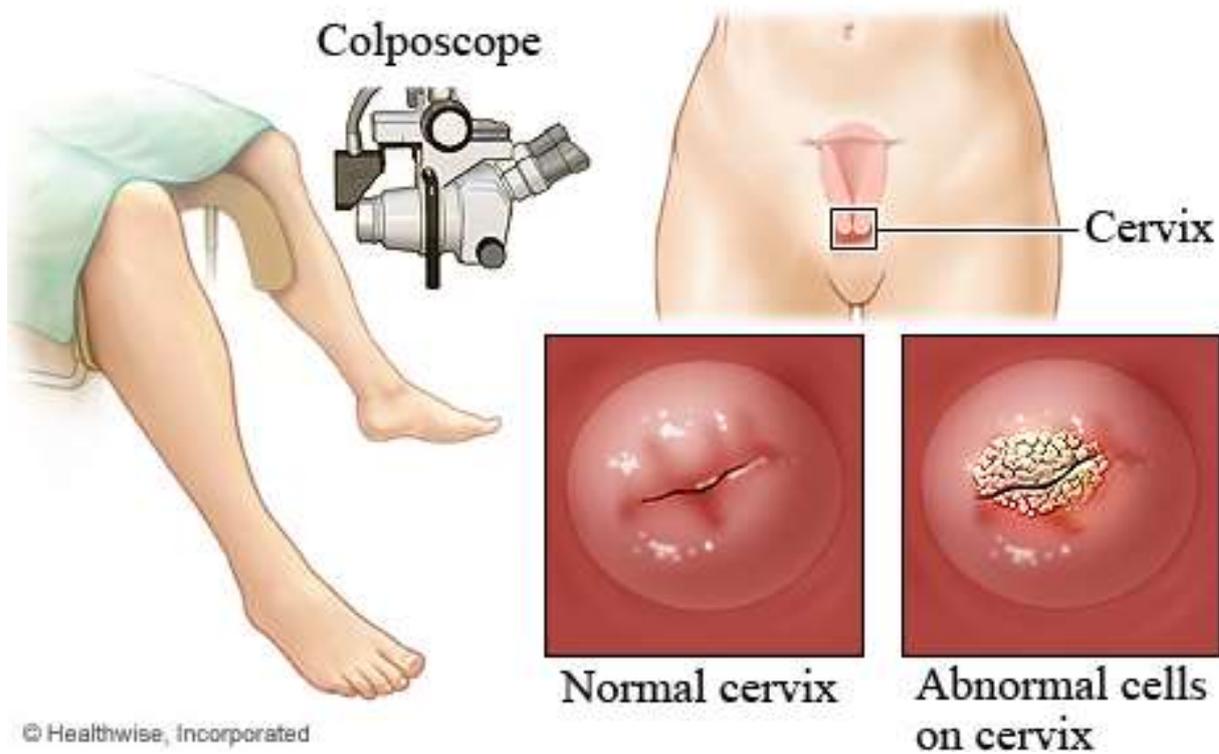
**Figura 17:** Indicações para o exame de Colposcopia a partir de resultados de citologia

Fonte: CAD. AT. BASICA, MS, 2013

A OPAS, em seu último documento da agência internacional de pesquisa sobre o câncer, elaborou um manual de seu grupo de rastreamento em que resume as principais indicações para a colposcopia (SELLORS & SANKARANARAYANAN, 2020):

1. Colo uterino de aspecto suspeito
2. Ca uterino suspeito
3. Carcinoma invasivo na citologia
4. NIC 2 ou NIC 3 na citologia
5. NIC 1 que persiste por mais de 12 a 18 meses na citologia
6. NIC 1 a depender do protocolo local – conduta variável
7. Qualidade insatisfatória persistente na citologia
8. Infecção por HPV oncogênico
9. Acetopositividade na inspeção com ácido acético (IVA)
10. Acetopositividade na inspeção com ácido acético e lente de aumento (IVA)
11. Resultado positivo na inspeção visual com solução de lugol (IVL)

A técnica de colposcopia se aplica através de uma solução de ácido acético a 3% no colo do útero, sendo este posteriormente examinado com uma luz filtrada brilhante que, através do colposcópico, há uma ampliação de 10 a 15 vezes, podendo detectar displasia de baixo grau e alto grau, porém não detecta doenças microinvasivas. Caso não seja encontrada nenhuma anormalidade ou se a JEC inteira não puder ser visualizada, uma biópsia de cone cervical é feita. (BURD, 2003; FEBRASGO, 2010). A Figura 18 abaixo resume este exame:



**Figura 18:** Exame de colposcopia.

Fonte: <https://www.healthlinkbc.ca/health-topics/zm6105>

Os principais achados da colposcopia e são posteriormente confirmados na biópsia estão descritos na figura 19 abaixo:



**Figura 19:** Achados na Colposcopia e confirmados em biópsia

Fonte: WRIGHT *et al.*, 2002 Jr

### 2.5.3 Métodos moleculares

Devido à grande associação do HPV com os casos de Ca de colo de útero, deve-se salientar que as técnicas que busquem a pesquisa do genoma por meio da identificação do tipo são bastante relevantes. Com os avanços da biotecnologia, a biologia molecular se torna uma grande aliada na identificação eficiente, rápida e precisa do genoma viral (FEBRASGO, 2016; ASSUNÇÃO & CORREA, 2014).

#### 2.5.3.1 Reação em cadeia por Polimerase (PCR) e suas variações

A Reação em Cadeia por Polimerase (PCR) é uma técnica molecular tradicional empregada na identificação e genotipagem viral (ASSUNÇÃO & CORREA, 2014). O objetivo desta técnica é de amplificar sequências específicas do material genético disponível. A PCR pode buscar a detecção do HPV bem como a identificação do genótipo infectante e para isso, diferentes alvos moleculares são empregados:

a)PCR Genérica – usada para detecção de HPV. Neste modelo são empregados *primers* (iniciadores) que buscam amplificar a região conservada do vírus que no HPV é a região L1 (ASSUNÇÃO & CORREA, 2014)

b)PCR específica – nesta PCR, o objetivo é amplificar sequencias específicas, usando primers específicos e complementares a regiões variáveis, que caracterizam cada genótipo viral. Quando falamos do vírus HPV a região usada está compreendida em E6 e E7. (FEBRASGO, 2016; ASSUNÇÃO & CORREA, 2014)

Existem outras técnicas que se constituem como variações do PCR e podem ser empregadas, a critério, para a tipificação do HPV também, e estão descritas abaixo:

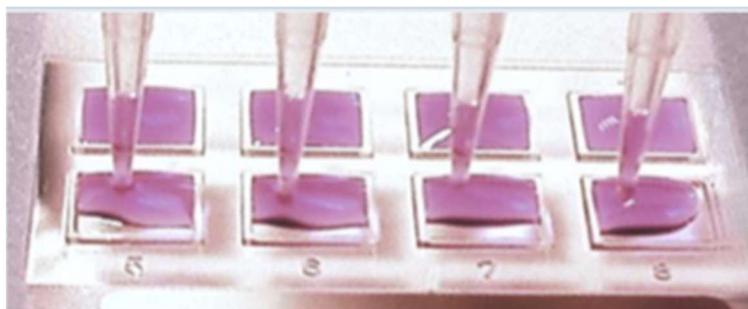
1) RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) – o uso desta técnica em conjunto com o PCR tradicional permite o emprego de um painel de enzimas de restrição para a genotipagem viral, identificando cerca de 40 tipos de HPV. Após a amplificação do DNA por uma PCR convencional, ocorre o processo de digestão enzimática. As enzimas são capazes de reconhecer sítios de restrição específicos e clivados. O polimorfismo ocorre pelas diferenças individuais ao longo do material genético viral, com diferentes pontos de corte, para as diferentes enzimas. Ao clivar as moléculas, as endonucleases formam fragmentos com diferentes pesos moleculares, evidenciados em gel de eletroforese (KANESHIMA *et al.*,2001)

2) *Nested-PCR* – Trata-se de uma técnica bastante sensível pois se baseia na premissa de se utilizar dois “rounds” de PCR, ou seja, pretende-se amplificar uma sequência que já fora amplificada anteriormente. Logo ao invés de um, o executor utilizar-se-á de dois pares de primers diferentes. Na sua primeira etapa, utilizar-se-á do par de primers consensuais preconizado (MY09/MY11), que se anela na região L1 do HPV, produzindo um fragmento de 450pb. Esta região então será alvo da amplificação, pois é considerada a mais conservada do vírus HPV. O produto obtido (*amplicon*) é submetido a uma nova PCR, entretanto, esta se utiliza do par de primers interno à região L1: GP5+/GP6+ que gera um fragmento de 150pb aumentando, assim, o grau de especificidade da técnica. O produto final é exposto a uma eletroforese em gel de agarose a 1,5% (SIRIAUNKGUL *et al.*, 2008).

### 2.5.3.2 Técnica do Microarranjo (Microarray)

A técnica de hibridização por Microarranjo (*microarray*) também conhecido como *biochip* é frequentemente utilizado nas análises de epidemiologia molecular e de genoma funcional. Trata-se de uma técnica em que se baseia na utilização em uma lâmina de vidro (ou *chip* plástico) em que estão dispostas em sua superfície, de forma organizada e fixa, sequências de sondas que possuem a capacidade de se hibridizar com a amostra, sendo esse fato oriundo do princípio da complementaridade (homologia do DNA) (GUINDALINI & TUFIK, 2007; AFONSO *et al*, 2017).

Diversos laboratórios dispõem de vários protocolos de *microarray*, alguns contendo 24 sondas, outros com a capacidade de identificação de até 32 genótipos. Os sistemas fornecem, de modo geral, dois conjuntos de iniciadores para amplificação por PCR. Um baseado no sistema MY11/09 comumente usado e um segundo, produzindo amplicons mais curtos de aproximadamente 150 pares de base de comprimento. A combinação de ambas as reações de PCR garante elevada sensibilidade e torna o ensaio adequado para a análise de tipos de HPV (GUINDALINI & TUFIK, 2007; AFONSO *et al*, 2017). As análises podem mostrar infecção única ou múltipla por tipos de baixo ou alto risco de HPV e isso será mostrado por esquema de cores conforme figuras 20 e 21 abaixo:



**Figura 20** – aplicação de até 8 amostras simultâneas no chip microarray

**Fonte:** AFONSO *et al*, 2017



**Figura 21** – painel de controle dos tipos de HPV de riscos alto, baixo e intermediário

Fonte: AFONSO *et al*, 2017

### 2.5.3.3 Análise crítica sobre novo fluxograma proposto pela Febrasgo (2019)

No que se refere à importância dos métodos moleculares frente ao diagnóstico da infecção pelo HPV, as Comissões Nacionais Especializadas de Patologia do Trato Genital Inferior (PTGI) e Ginecologia Oncológica da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO) entregaram documento para a coordenação de Saúde das Mulheres do Ministério da Saúde em 2019.

Tratava-se de um manual de procedimentos e de orientações estruturadas com o sentido de se propor uma mudança em relação ao atual sistema de rastreamento do câncer de colo uterino através da inserção do teste de DNA –HPV como primário, seguido da citologia oncológica, e encaminhando mulheres positivas no teste primário diretamente à colposcopia. A ideia partiu das seguintes premissas:

- 1) Apesar de o câncer de colo de útero ser o terceiro mais recorrente entre as brasileiras, a despeito de discreta redução no número de incidência e de óbitos na última década tem-se apenas 20% dos casos são diagnosticados no estágio inicial e por meio do rastreamento;
- 2) 80% das mulheres não participam do rastreamento, significando que existe baixa cobertura na população alvo ou baixa eficiência do programa vigente de rastreamento;
- 3) Além disso muitas mulheres deixam para fazer os exames regulares em intervalos muito longos;

Logo a proposta da FEBRASGO para mulheres de 30 a 64 anos deveria ser realizada primariamente a genotipagem para HPV. Quando negativa, a repetição deveria acontecer em cinco anos. Se positiva, a paciente deve ser encaminhada para a colposcopia e outros tipos de citologia. Quando este grupo tiver teste de HPV de alto risco negativado, o exame pode ser repetido em cinco anos. Ao contrário, deve ser realizada a citologia. Se o resultado for negativo, ela repete o processo em um ano. Já em caso positivo, será encaminhada para a colposcopia

Vale ressaltar que as informações estatísticas sobre a cobertura de rastreamento acima foram passadas pela FEBRASGO mas não representam os dados oficiais obtidos pelo Sistema de Informações do câncer de colo de útero (SisColo), do Ministério da Saúde, uma vez que publicações sobre o tema refutam esta ideia de coberturas tão baixas de rastreamento.

Um exemplo trata-se do estudo de Kneipp Dias e colaboradores (2010), da divisão de atenção oncológica do Ministério da Saúde, em que pese a avaliação de base nacional da qualidade e abrangência além de periodicidade dos exames de Papanicolau como sistema de rastreio para a população. Os resultados indicam uma oferta razoável em nível nacional dos exames de rastreio, porém há uma relativa ocorrência de repetições desnecessárias de exames normais com forte intervalo anual (43%); além disso, verificou-se a elevada ocorrência de achados de atipia de significado indeterminado. Sabendo-se que destes pacientes com atipias, 20 a 40% apresentarão lesão de baixo grau e de cinco a 15% lesão de alto grau o que pode carregar de vieses a análise e condutas clínicas posteriores.

Um achado positivo trata-se dos resultados positivos da implantação do SisColo. Houve positiva melhora no diagnóstico de lesões NIC pré neoplásicas e redução significativa de lesões invasivas.

Logo, do ponto de vista da análise crítica, o fortalecimento e ampliação dos instrumentos para oferta de exames de rastreio, treinamento da coleta e processamento do Papanicolau, bem como as informações corretamente realizadas pelo SiSColo poderiam fazer o diagnóstico precoce e reduzir a incidência de casos de carcinoma invasor. Assim, se utilizarmos as premissas da OMS no que tange ao estímulo do rastreamento precoce por meio do Papanicolau poder-se-ia evitar até 90% dos casos de carcinoma uterino invasor, desde que tenhamos cerca de 80% de cobertura do preventivo naquela população (KNEIPP DIAS 2010; GUSTAFSSON *et al.*, 1997).

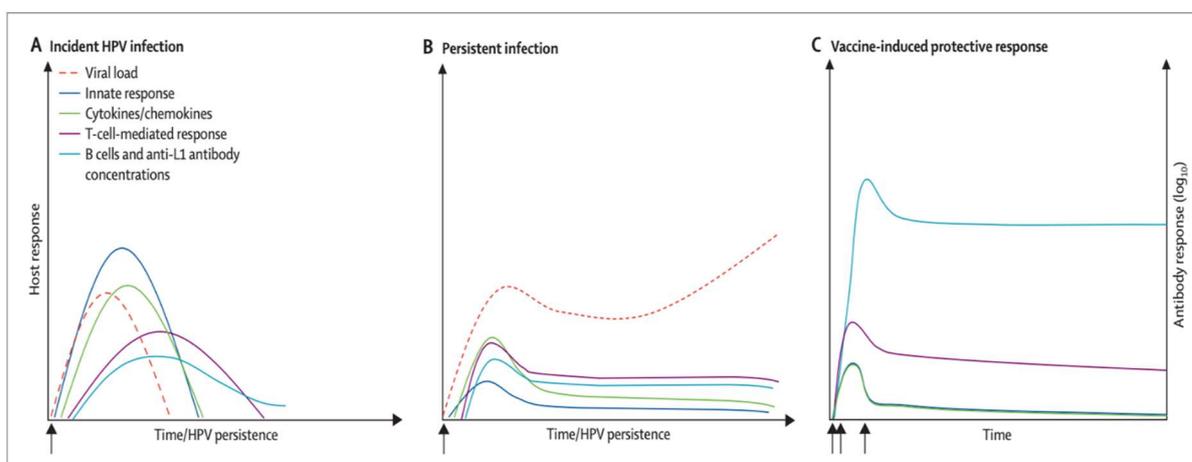
A título de controvérsia, o estudo de Monson e colaboradores (2015) traz à luz uma proposta diferente. Trata-se de um estudo de prevalência de lesões precursoras de câncer de colo de útero em mulheres de idade maior ou igual a 25 anos nos EUA. Neste artigo, a proposta dos autores era avaliar o poder de elevação da sensibilidade que a combinação de citologia e métodos moleculares poderiam fazer na detecção precoce das lesões de colo de útero. Desta forma, em 40.901 mulheres triadas, a idade média foi 41,8 anos; somente 1,2% das mulheres eram vacinadas para o HPV e a maioria das mulheres (90,9%) tinham feito citologia há mais de cinco anos. Uma curiosidade do estudo é a decisão de se procurar a análise genotípica nas mulheres negativas para a citologia e positivas ao HPV, estas amostras eram encaminhadas à colposcopia e biópsia; cerca de 10,2% dos HPV encontrados eram de alto risco, em especial os tipos 16, 52 e 18 em ordem decrescente. Os autores recomendam o uso da combinação da citologia com o teste molecular para mulheres acima de 30 anos com intervalo de cinco anos da última citologia cervical.

## 2.6 Vacinas para o HPV – Imunologia, indicação e posologia

### 2.6.1 Vacinas Contra HPV – Modelos baseados na Resposta imune ao Vírus

O conhecimento sobre os mecanismos de resposta imune inata e adaptativa ao HPV no organismo humano, mais amiúde no epitélio cervical trata-se do grande alvo de estudo para o desenvolvimento de vacinas contra o HPV, em que se destacam dois mecanismos de ação dos imunobiológicos: as vacinas profiláticas e terapêuticas. Apenas as vacinas profiláticas estão licenciadas para uso atualmente (ZARDO *et al*, 2014).

Neste sentido, é válido acrescentar informações sobre o quanto a eficácia da vacina profilática contra o HPV possui relação direta com a imunogenicidade. Neste aspecto, a figura abaixo retirada de um artigo de revisão sobre o tema retrata fielmente os três momentos da infecção pelo HPV e o papel a ser desempenhado pelas vacinas no sentido de “bloquear” as tentativas virais de invasão (EINSTEIN, 2009).



**Figura 22:** Modelos da resposta imune ao HPV e mecanismo de proteção vacinal (a) Gráfico que relaciona a resposta imune no eixo y através da forte mediação da imunidade inata, com clareamento viral, que reduz a carga viral e pode acontecer mesmo sem a resposta adaptativa conforme linha do tempo da resposta imune no eixo x. (b) modelo de resposta imune que culmina com infecção persistente pelo HPV quando a replicação do DNA do HPV sobrepõe-se sobre a capacidade imune de fazer o clareamento viral. (c) mulheres vacinadas para HPV apresentam resposta imune elevada e sustentada de anticorpos.

Fonte: EINSTEIN, 2009

De acordo com a figura 22, que representa uma hipótese do mecanismo imune geral de resposta ao HPV na mulher, o gráfico A vai refletir as ações do sistema imune frente à uma primo-infecção pelo HPV, em que pese a resposta imune inata inicial que poderá conseguir (ou não) limitar a carga viral e participará do *clearance* viral sem ativar a resposta adaptativa. Entretanto, parte do ciclo de vida do HPV está relacionada à sua capacidade de evadir o sistema imune, mais notadamente a evasão das células dendríticas e de Langherans, em uma habilidade de se replicar sem induzir apoptose, ou seja, em um ciclo não lítico, e resultando em sinais inflamatórios locais, mas que terão limitada capacidade de eficácia frente ao vírus, o que inevitavelmente resultará persistência viral (STANLEY, 2010).

Ora, em caso de persistência da infecção oncogênica, representada na figura pelo gráfico B, temos a resposta imune do hospedeiro já incapaz de controlar a infecção e a carga viral sobe além do controle, e a concentração do vírus se sobrepõe à capacidade de o sistema imune de se fazer atuar na carga viral. Entretanto neste momento já temos a desregulação de diversos mecanismos imunes que facilitam a replicação e a transformação oncogênica viral. Felizmente conforme o gráfico C nos mostra, quando ocorre a vacinação contra o HPV, ocorre resposta imune adaptativa com aumento rápido e sustentado de anticorpos a partir de um mês após a primeira dose, em especial quando a vacina possui adjuvantes (EINSTEIN, 2009).

Em suma, a função das vacinas profiláticas é o de estimular a resposta humoral, baseada no contato com “partículas semelhantes ao vírus” ou *virus-like particles* (VLP), os quais são estruturas semelhantes a “conchas” vazias sem o DNA do vírus que carregam consigo a proteína L1. A expressão da proteína L1 do capsídeo viral gera essas VLP, que são utilizadas como principal fonte de antígenos para vacinas profiláticas e são produzidos no sistema de expressão da *Saccharomyces cerevisiae* em conjunto com o adjuvante escolhido. As vacinas impedem a infecção pelo HPV de forma precoce, através da liberação dos anticorpos, induzidos pela vacinação, na mucosa genital (VILLA et al, 2005). Os anticorpos que se ligam à proteína L1 se dividem em duas classes distintas: Os anticorpos monoclonais L1 que podem prevenir a ligação do vírus à matriz extracelular ou à célula epitelial. Além disso, a vacinação permite que os VLP gerem anticorpos (ao menos 10 vezes maior que os gerados pela infecção natural) que fazem a interação entre os vírions e a célula. Essa é a função deste anticorpo, que

vai impedir que o vírion se ligue a receptores celulares e faça o processo de invasão (HARPER et al, 2008, OLSSON et al, 2007; PAAVONEN et al, 2007; STANLEY, 2006)

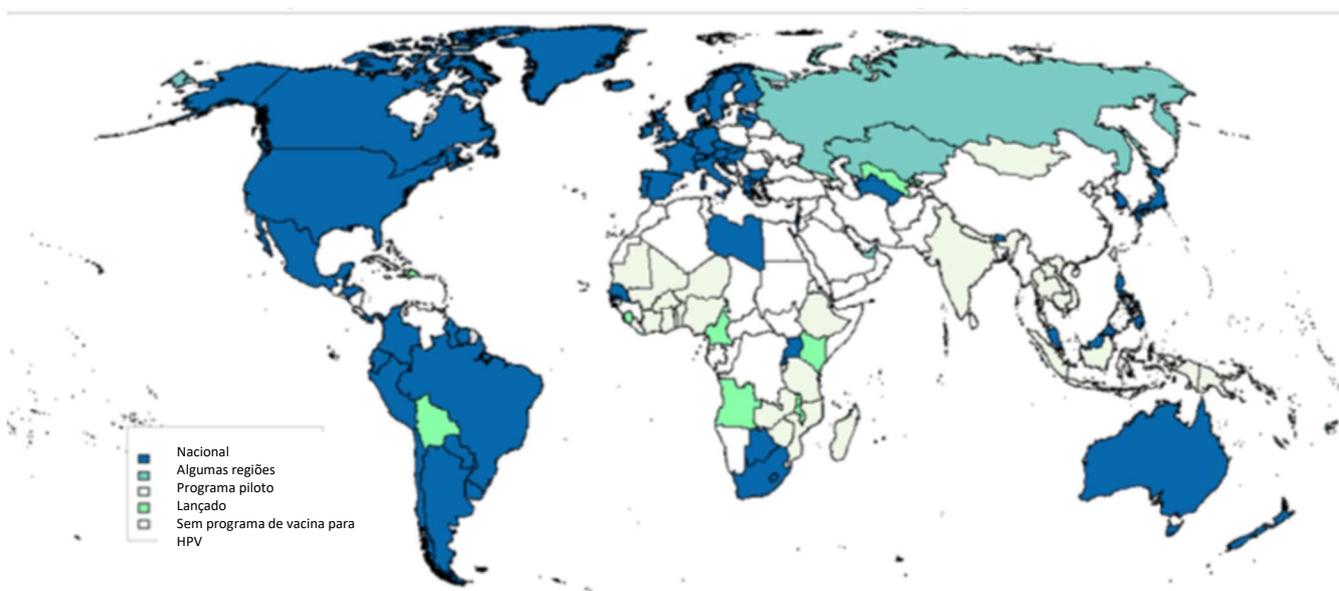
A antigenicidade para as vacinas profiláticas é garantida pela proteína L1 do capsídeo. O conhecimento sobre o mecanismo de ligação dos epítomos dos anticorpos foi provado através do estudo de Ludumerer e colaboradores (1997). Neste estudo foi construído um ensaio sobre a capacidade de ligação à partículas virais através de modelos de anticorpos monoclonais específicos para tipos de HPV. Foi demonstrado neste trabalho que há uma região específica de aminoácidos dentro do epítomo do anticorpo em especial na região entre a glicina-131 e tirosina 132, mas que há possibilidade de ligações resíduos de aminoácidos próximos e que, se houver alguma substituição de aminoácidos na sequência, isso vai alterar a ligação ao vírus, reduzindo-a.

Logo, há um debate sobre a imunidade viral ser altamente específica para a espécie, e há apenas proteção cruzada limitada, mesmo para tipos dentro da mesma espécie viral. Neste caso quando avaliamos as vacinas profiláticas disponíveis licenciadas no mercado, apesar destas vacinas produzirem anticorpos de alto título restritos a alguns tipos virais, estes se encontram somente dentro do gênero *Alphapapillomavirus*. As vacinas atuais não protegem contra tipos pertencentes a gêneros diferentes. Neste sentido, existem esforços para se ampliar o universo de vacinas preventivas contra o HPV. Uma abordagem alternativa trata-se da construção em modelos animais de vacinas derivadas de L2 (proteína do capsídeo menor), que a despeito de induzirem anticorpos de títulos mais baixos, possuem capacidade de geração de anticorpos para tipos de PV heterólogos. (SCHELLENBACHER et al., 2017).

Idealmente, devemos recomendar a vacinação, que deve ser preventiva, antes da infecção pelo intercuro sexual. Desta forma, o sistema imune reconhece a partícula L1 como vírus-like (VLP) e, supostamente, evita a infecção antes que ocorra invasão do vírus na célula e a doença se estabeleça (BRAGAGNOLO, 2010; ROSA, 2009; NADAL, 2006).

## 2.6.2 Vacinas Contra o HPV – Vacinas licenciadas, eficácia / efetividade e Programas de Vacinação no mundo

A Figura 23 abaixo contém uma visão geral sobre o status dos programas nacionais de vacinação de HPV em todo mundo.



**Figura 23:** Distribuição mundial dos programas de vacinação para HPV.

Fonte: BRUNI *et al.*, 2019

No Brasil, as vacinas aprovadas contra o HPV são as vacinas quadrivalente para o HPV (4vHPV), que protege contra os tipos 6, 11, 16 e 18 e é conhecida internacionalmente como Gardasil® (laboratório Merck®) e a vacina bivalente (2vHPV), que protege contra os tipos 16 e 18 e é internacionalmente conhecida como Cervarix® (laboratório GSK®). Mais recentemente foi aprovada para uso no Brasil, mas ainda sem comercialização, a vacina nonavalente contra o HPV (9vHPV) também do laboratório Merck®, que se constitui de uma evolução da 4vHPV e contém tipos adicionais 31, 33, 45, 52, 58. Elas induzem a forte resposta humoral com geração de anticorpos protetores (ROSA, 2009; NADAL, 2006; MERCK, 2015).

A 2vHPV é preparada com o “Adjuvant System 04” (AS04), que é composto por uma combinação de 3-O-desacil-4'-monofosforil lípido A (MPL), que é agonista de

receptores *Toll-Like* do tipo 4 (TLR4), e hidróxido de alumínio. Os receptores *Toll-Like* (TLR) são proteínas transmembranas importantes para a detecção e reconhecimento de patógenos e para a geração de sinais que levam à produção de citocinas pró-inflamatórias. O AS04 demonstrou induzir respostas imunes celulares e humorais mais elevadas do que as VLP formuladas apenas com sais de alumínio, com na Gardasil (MERCK, 2011). Desta forma, essa vacina demonstrou induzir respostas imunes celulares e humorais mais elevadas do que as VLP formuladas apenas com sal de alumínio (DIDIERLAURENT *et al.*, 2009; EINSTEIN *et al.*, 2011).

Existem dois mecanismos distintos de proteção por anticorpos policlonais L1 específicos. (EINSTEIN *et al.*, 2011)

- a) Níveis de anticorpos elevados levam à formação de capsídeo viral revestido com imunoglobulina, evitando que este interaja com a superfície celular.
- b) Níveis inferiores de anticorpos evitam as mudanças conformacionais necessárias para a entrada do vírus, apesar de permitirem a associação do capsídeo viral à superfície da célula.

A 4vHPV induz à produção de anticorpos anti-HPV tipos 6, 11, 16 e 18, o que representa cerca de 90% dos casos de câncer de colo de útero. Por induzir a produção de anticorpos anti-HPV 6 e 11, esta vacina também previne verrugas genitais. Além do câncer de colo uterino e condilomas genitais, supõe-se que a Gardasil® evite neoplasias intraepiteliais cervicais benignas (BRAGAGNOLO, 2010; NADAL, 2010). Além disso a 4vHPV é segura, tolerada e altamente imunogênica, além de possuir eficácia de 100% na prevenção de lesões precursoras do câncer do colo do útero (LINHARES, 2006). Segundo Borsatto (2011), a vacina também proporciona discreta proteção cruzada (em torno de 59%) contra os tipos 31 e 45. Tal possibilidade acontece devido à similaridade tipos de HPV na árvore filogenética, mas esta possibilidade vem sendo questionada.

A tabela abaixo contém o comparativo entre as três vacinas licenciadas no mercado:

**Tabela 4:** Comparativo entre as vacinas profiláticas para HPV licenciadas no Brasil

Nome da Vacina (ano de registro)	Cervarix® (2008)	Gardasil® (2006)	Gardasil 9® (2017)
Antígeno	L1 VLP do HPV 16 e 18	L1 VLP dos HPV 6, 11, 16 e 18	L1 VLP dos HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58
Sistema de Expressão VLP	Sistema de expressão do vetor Baculovírus	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Adjuvantes (mg)	AS04; MPL (50); hidróxido de alumínio (500)	Sulfato hidroxifosfato de alumínio amorfo (225)	Sulfato hidroxifosfato de alumínio amorfo (500)
Indicação	Mulheres a partir de 9 anos de idade	Mulheres e homens de 9 a 45 anos	Mulheres e homens de 9 a 45 anos
Posologia	2 ou 3 doses de 9-14 anos; 3 doses a partir de 15 anos	2 ou 3 doses de 9-14 anos; 3 doses de 15-45 anos	2 ou 3 doses de 9-14 anos; 3 doses de 15-45 anos
Fabricante	GlaxoSmithKline®	Merck®	Merck®

Fontes: WANG *et al.*, 2020; HARPER & DeMARS, 2017

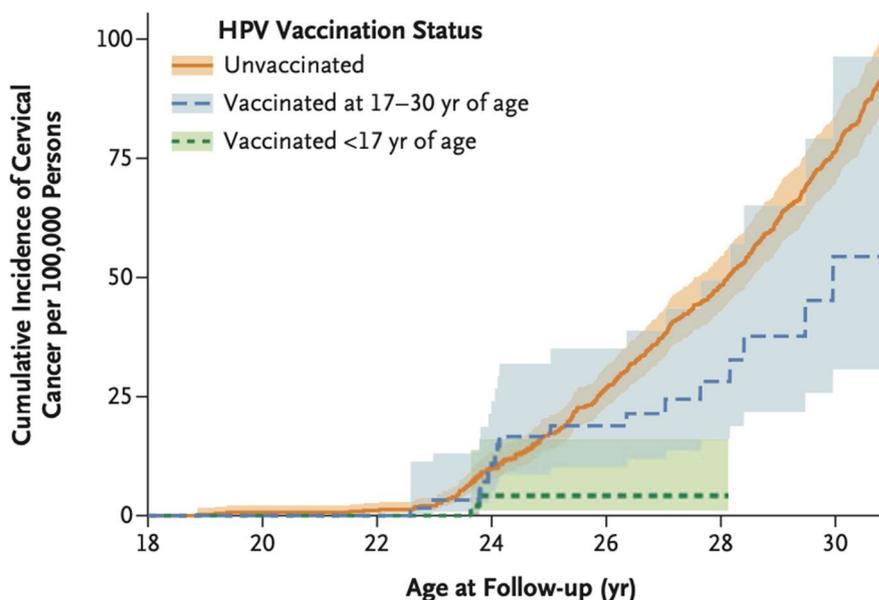
Embora as empresas recomendem três doses das vacinas, diversos programas Nacionais de Imunização já utilizam em seus calendários oficiais a posologia de duas doses com intervalo de seis a 12 meses em adolescentes menores de 15 anos e sem imunodeficiência. Este esquema é fortemente amparado na literatura, que atesta que nesta população não houve redução de produção de anticorpos protetores no esquema de duas ou três doses (MEITES *et al.*, 2016; BERGMAN *et al.*, 2019).

Desde o licenciamento das principais vacinas contra o HPV diversos estudos vêm demonstrando a efetividade (isto é, o desempenho das vacinas no mundo real), desde os estudos clássicos realizados na Austrália, o primeiro país a implantar um programa público e abrangente de vacinação (READ *et al.*, 2011; BROTHERTON *et al.*, 2011) até os mais recentes estudos da Coreia do Sul e Suécia.

Por um lado, o estudo coreano avaliou o impacto da implantação da vacina em meninas de 12 anos gratuitamente pelo programa público de vacinação iniciado em

2016 e anteriormente para mulheres com redução de custo (sejam as vacinas 2vHPV ou 4vHPV) e diversos indicadores foram avaliados como cobertura vacinal, bem como hesitação vacinal, eventos adversos. Ocorre que os estudos de efetividade que foram sendo conduzidos nos anos seguintes em busca de dados tais como genótipos de HPV relacionados à vacina mostraram que, na população de mulheres vacinadas comparadas às não vacinadas, a prevalência de HPV 16 e 18 neste grupo foi da ordem de 11% e 17%, respectivamente, diferença que se mostrou estatisticamente significativa. Outros indicadores foram também interessantes, entre eles o fato de que a vacinação antes da iniciação sexual se caracterizou por ser mais efetivo do que após; além disso a modificação de protocolo para a idade de 12 anos elevou a cobertura vacinal para quase 70% (GARLAND, 2020).

Outro estudo recente trata de avaliação da efetividade da 4vHPV através de registro de base populacional para avaliar a efetividade da vacina na redução da incidência cumulativa de casos de câncer cervical no período de 2006 a 2017 até o 31º aniversário da mulher. Sabe-se que a Suécia iniciou um ousado programa de vacinação com a 4vHPV inicialmente de forma subsidiada para meninas de 13 a 17 anos de idade em 2007; posteriormente este país adotou um programa de vacinação em esquema de “*catch-up*” para meninas de 13 a 17 anos de idade, bem como um programa regular de vacinação nas escolas para a coorte de 10 a 12 anos de idade continuamente. Este artigo incluiu na análise um montante de 1.672.983 meninas e mulheres de 10 a 30 anos de idade. Deste quantitativo, 527.871 receberam ao menos uma dose da vacina. Quando se ajustaram os grupos etários vacinados e a incidência de câncer posteriormente, vê-se que as mulheres vacinadas mais aos 17 anos apresentaram incidência de 47 casos de câncer por 100.000 pessoas, comparada com 94 casos para 100.000 pessoas em não vacinadas quando estas completavam 30 anos. Entretanto quando se visualizaram as coortes vacinadas antes de 17 anos a incidência de câncer aos 28 anos era da ordem de quatro casos / 100.000 pessoas, demonstrando que a vacina é efetiva e reduz a incidência de câncer (LEI et al., 2020). A Figura 24 abaixo obtida do artigo comprova esta redução:



**Figura 24:** Incidência cumulativa do câncer cervical invasivo de acordo com o status vacinal para o HPV: não vacinadas (linha cheia); vacinadas de 17-30 anos; vacinadas menores de 17 anos de idade

Fonte: LEI et al., 2020. Disponível em [www.nejm.org](http://www.nejm.org)

### 2.6.3 Vacinas contra o HPV – eficácia e efetividade Na População HIV Positiva

A população HIV positiva, devido ao seu grau de imunossupressão, deve ser avaliada quanto aos aspectos da imunização frente ao HPV de forma mais amigável, devido a características que tornam este grupo mais vulnerável a infecção pelo HPV, não apenas do ponto de vista quantitativo, mas também referente ao aspecto de tipos de HPV fora do usual para a população imunocompetente. Existem diversas teorias sobre este processo. Algumas explicações imunológicas para este desfecho podem ser relacionadas a efeitos negativos do HIV sobre a capacidade da resposta das células T, B e *natural killer* (LACEY, 2019).

Outra teoria que possivelmente explica a susceptibilidade imune das pessoas que vivem com HIV trata-se de um subconjunto das células dendríticas conhecidas como células dendríticas plasmocitóides (PDC), um grupo especial de células que fazem a ponte entre as respostas imune inata e adaptativas, de forma que em pacientes soropositivos a quantidade e a função destas PDC estão comprometidas, independente da quantidade de CD4 (EINSTEIN, 2009).

Baseados nestas teorias, já existem alguns estudos sobre eficácia e efetividade de diversas vacinas em populações HIV positivas que demonstram menor eficácia e efetividade de destes imunobiológicos nesta população específica. Mesmo indivíduos que estejam em supressão da resposta imune (IRUNGU *et al.*, 2013; COHEN *et al.*, 2014).

Quando levantamos os artigos que avaliaram a eficácia e efetividade das vacinas de HPV sobre a população feminina soropositiva para o HIV, verificamos um número limitado de estudos que devem ser lidos com cautela, pois há uma série de variáveis a serem consideradas, entre elas o grau de imunodepressão desta população, o tempo de início da terapia antirretroviral após descoberta do diagnóstico. Vale lembrar que muitas mulheres podem ter iniciado o esquema HAART antes de 1998 e, desta forma, a carga viral e o nível do CD4 podem indicar uma maior imunodepressão, permitindo estimar uma menor eficácia e efetividade em face de adolescentes que iniciaram após o esquema HAART (LACEY, 2019).

Neste sentido, o estudo canadense de McClymont e colaboradores (2020) recrutou adolescentes e mulheres soropositivas ao HIV de 14 clínicas que atendem esta doença no país. Eram critérios: não ter sido vacinada para o HPV, ter acima de nove anos, e não estar grávida. O estudo avaliou as pacientes em oito visitas sequenciais e neste período elas receberam as três doses da 4vHPV. Durante as visitas as meninas e mulheres tiveram coleta de amostras de secreção vaginal para pesquisa de DNA viral nos meses 0-6-12-18-24 meses. Durante a análise, 420 indivíduos foram seguidos, sendo 279 foram incluídas nos critérios. Os resultados demonstraram que especialmente as mulheres HIV positivas foram as mais afetadas pela persistência viral, demonstrando que a possibilidade de falha vacinal é uma realidade na população HIV, em comparação às mulheres HIV negativas. Entretanto, quando comparadas as mulheres vacinadas com as não vacinadas HIV positivas, a perspectiva de proteção e persistência de DNA para uma nova aquisição na mulher vacinada é menor mostrando que sim, há um benefício. Não foram desenvolvidas lesões do tipo NIC no período, mas elas podem ser de longa evolução, além de dois anos. Um outro fator a ser considerado trata-se dos níveis de CD4 das pacientes que devem ser observados de forma mais atenta, pois a reduzida imunidade pode ter relação com persistência de DNA para o HPV (McClymont *et al.*, 2020).

Uma metanálise mais recente publicada pela biblioteca Cochrane revisou diversos estudos sobre a vacinação para o HPV, em especial sobre o esquema de

doses para ambas as vacinas 2vHPV ou 4vHPV. Entretanto quando se revisaram os estudos sobre a eficácia da vacina para a população HIV positiva, foram avaliados sete estudos clínicos randomizados os quais, de forma geral, demonstraram que ambas as vacinas apresentaram respostas robustas de anticorpos às vacinas sejam elas 2vHPV ou 4vHPV e esta resposta imune se mantinha elevada após dois anos. Entretanto, os desfechos de segurança, eficácia e experiência prática da vacina em mulheres e homens que vivem com HIV ainda convivem com incertezas e imprecisões (BERGMAN *et al.*, 2019)

Uma questão para o debate sobre a melhor vacina para a população feminina que vive com HIV tem mobilizado autores de metanálises, bem como os artigos de revisão. Trata-se de alguns resultados que demonstram através de estudos de eficácia, que a imunogenicidade ao HPV é reduzida quando maior é a replicação do HIV, bem como alguns anos após a vacinação com a 4vHPV ocorre uma modesta memória de células B com produção de anticorpos, o que demonstra a possibilidade de uma 4ª dose um desafio no futuro (MOSCICKI *et al.*, 2019; ELLSWORTH, 2018).

Outra abordagem que tem sido analisada nos últimos anos trata-se dos estudos comparativos de eficácia das vacinas 2vHPV e 4vHPV na população que vive com HIV. Neste sentido a presença do adjuvante AS04 poderia ser um aditivo a mais na imunogenicidade da vacina Cervarix® em comparação à vacina Gardasil®, que apenas possui alumínio. Um estudo sueco comparando 91 homens e mulheres soropositivos ao HIV, randomizados para ambas as vacinas, demonstrou após um ano uma diferença importante de soroconversão para ambas as vacinas: enquanto a vacina Cervarix®, 100% das pessoas tiveram anticorpos protetores para os HPV 16 e 18, na vacina Gardasil®, mais de 95% soroconverteram para os tipos 6, 11, 16, mas apenas 73% para o tipo 18. Por último, ambas as vacinas apresentaram reações cruzadas para outros tipos de HPV, mas a Cervarix teve um número maior de anticorpos reagindo contra tipos heterólogos (31, 33, 35, 45, 56, 58) em comparação à Gardasil® (FAUST *et al.*, 2016).

Pelo fato de Campos dos Goytacazes ter sido a primeira cidade do Brasil a disponibilizar a disponibilizar a 4vHPV quatro anos antes do Ministério da Saúde para um quantitativo tão grande de meninas, não existe outra cidade brasileira que tenha tamanho número de amostras para se realizar um estudo deste nível. Não existem muitos trabalhos como este em países em desenvolvimento. Além disso, quando da introdução da vacina em toda a população, houve também a decisão

prioritária de vacinar HIV positivos até 26 anos, antes mesmo da autorização do MS. Assim, o nosso é um trabalho inédito no Brasil para este grupo vulnerável e desta forma justifica-se o estudo.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Estimar a frequência dos genótipos de HPV em amostras do colo do útero de MVHA atendidas no programa municipal CEDIP (antigo programa DST/AIDS) do município de Campos dos Goytacazes-RJ, antes e após a 4vHPV, associando dados epidemiológicos e laboratoriais das pacientes portadoras de HIV não vacinadas atendidas no mesmo programa municipal.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a carga de infecção pelo HPV através da Reação de Cadeia pela Polimerase (PCR) usando primers genéricos MY09/11 e tipificação molecular através da identificação dos tipos de HPV pela Hibridização em Microarranjo – antes da vacinação e, no mínimo, dois anos após a primeira tipificação viral;
- Estabelecer os achados da tipificação viral com variáveis quantitativas e qualitativas, a fim de determinar a relação entre a maior infecção pelo HPV e indicadores de maior gravidade e risco na paciente HIV positiva.
- Estimar o benefício da vacinação contra o HPV nesta população

## 4 MÉTODOS

### 4.1 Caracterização da população do estudo



**Figura 25:** Mapa do município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil

(Disponível em [www.campos.rj.gov.br](http://www.campos.rj.gov.br))

O município de Campos dos Goytacazes é a principal cidade do interior do Estado do Rio de Janeiro (figura 25), o principal produtor nacional de Petróleo. Possui 4.032 quilômetros quadrados distribuídos em áreas urbanas e rurais com uma população estimada de 511.168 habitantes e cerca de 240.000 mulheres (IBGE-2020), sendo a maior fora da região metropolitana do Rio de Janeiro, com aproximadamente 280.000 propriedades.

## **4.2 Tipo de estudo**

Estudo de coorte prospectivo com intervenção, de prevenção, não randomizado, controlado, simples cego.

### **Critérios de inclusão**

- MVHA maiores de 18 anos de idade
- Ser atendida no programa municipal CEDIP
- Aceitar participar das coletas seriadas

### **Critérios de exclusão**

- Pacientes com falta de resultado do exame de HIV na coleta da amostra
- Participantes com ausência de resultados de exames de Papanicolau
- Amostras inadequadas para análises

## **4.3 Riscos**

Por se tratar de um estudo de intervenção, os possíveis riscos são inerentes aos procedimentos realizados nas pacientes, entre os quais possíveis intercorrências na coleta do preventivo/PCR, e as reações adversas à vacina aplicada após a coleta do Papanicolau/PCR.

## **4.4 Benefícios**

A caracterização do tipo de HPV nas pacientes de interesse no estudo permitirá conhecer a dimensão da doença na população soropositiva de modo a entender o real impacto que a vacinação terá nesta população, além de correlacionarmos dados da literatura sobre a infecção causada por múltiplos e raros tipos de HPV e a relação entre os diversos fatores de risco na geração de doença imunoprevenível.

## **4.5 Instrumentos e procedimentos para coleta de dados**

- a) Entrevista no momento da entrada no estudo com entrega ao participante do estudo do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), o qual foi lido, debatido e assinado pelos participantes do estudo;
- b) No momento de entrada da participante no protocolo, o TCLE foi assinado. Após

o exame ginecológico com médica especialista, houve coleta da amostra;

c) formação de dois grupos dentro da população de estudo HIV positiva:

Grupo 1 - Negativo na PCR para HPV e todos os resultados negativos no teste de Papanicolau (PAP)

Grupo 2 - Positivo em PCR para HPV e/ou qualquer resultado positivo em esfregaço de PAP

d) Coleta de amostra para biologia molecular por meio de escova preventiva – momento T1;

e) Variáveis a serem analisadas no questionário: idade, endereço, estado civil, renda familiar, vida sexualmente ativa, idade da primeira relação, uso de contraceptivos, ter ou não filhos e número de filhos; entre outros;

f) Outras variáveis serão investigadas nos prontuários, como:

- Contagem de linfócitos T CD4
- Quantificação de RNA viral
- Resultados do exame de Papanicolau nos últimos cinco anos antes do estudo

g) Oferta da vacina 4vHPV em três doses após a primeira coleta no momento T1;

h) Coleta de nova amostra para biologia molecular por escova preventiva ao menos dois anos após a primeira coleta e avaliação do status vacinal para HPV – momento T2.

#### **4.6 Características da vacina 4vHPV**

O estudo utiliza a vacina quadrivalente recombinante contra o papilomavírus humano tipos 6, 11, 16 e 18 (4vHPV). É uma preparação estéril para administração intramuscular. Cada dose de 0,5 mL contém aproximadamente 20mcg de proteína HPV 6 L1; 40mcg de proteína HPV 11 L1; 40mcg de proteína HPV 16 L1 e 20mcg de proteína HPV 18 L1. Seus excipientes são 225mcg de alumínio (como adjuvante amorfo de sulfato de hidroxifosfato de alumínio); 9,56mg de cloreto de sódio, 0,78mg de L-histidina, 50 mcg de polissorbato 80; 35mcg de borato de sódio e água para injeção. A vacina é indicada entre 9 e 45 anos de idade no regime de 0 - 2 - 6 meses (MERCK®, 2011)

## 4.7 Exames Laboratoriais

### 4.7.1 Contagem de linfócitos T CD4 e quantificação de RNA viral

A contagem de células T CD4<sup>+</sup> foi realizada por citometria de fluxo com FACSCalibur (Becton-Dickinson, New Jersey, EUA). A carga viral para HIV foi determinada por PCR usando Abbott Real Time HIV-1 (Abbott Diagnostics). Os resultados foram apresentados como logaritmos de base 10. O valor mínimo de detecção da carga viral do HIV foi de 50 cópias/mL. Ambos os exames foram realizados no laboratório regional do Hospital Geral de Guarus, referência para as análises laboratoriais dos pacientes HIV positivos na região norte fluminense.

### 4.7.2 Exame de Papanicolau (PAP) – “Preventivo”

O exame de Papanicolau ou preventivo trata-se de um exame em que a coleta é realizada pelo médico ou enfermeira durante uma avaliação clínico-ginecológica completa. Neste exame, procede-se à coleta do material de ectocérvice com espátula de Ayres de ponta bifurcada, girando 360° e aplicando esfregaço único na extremidade ao lado da parte fosca da lâmina de vidro identificada. Posteriormente, procede-se à coleta do material endocervical com escovinha cervical, também girando 360° e aplicando rotação da escova sobre a lâmina em esfregaço único ao lado do esfregaço de ectocérvice. Por último coloca-se a lâmina imediatamente em frasco com fixador. No CEDIP, da mesma forma como em outros serviços públicos brasileiros a coleta do preventivo é feita através do método convencional (PMBH, 2008).

### 4.7.3 Extração e precipitação do DNA viral

Todas as amostras utilizadas para o estudo foram coletadas em tampão TRIS-EDTA pH7,2 e congelado a -20°C. Após o descongelamento, as amostras foram colocadas no termobloco a 56°C por duas horas. As amostras foram submetidas ao processo de digestão protéica utilizando 100µL de proteinase K (100 µg/µL) em tampão de digestão Tris EDTA-SDS. O protocolo de extração usado foi o

fenol-clorofórmio (Thermo Fisher®). A fase aquosa foi transferida para um novo tubo, e o DNA foi precipitado com acetato de sódio 3M (pH 6,0; 1/10 volumes) e absoluto etanol (2,5 volumes). O DNA foi suspenso em 50µL de água miliQ e armazenado a -20°C (SAMBROOK, 1998).

#### 4.7.4 PCR com uso de primers genéricos MY09/MY11

Para a triagem das amostras, foram utilizados os primers genéricos MY09/MY11 que amplificam uma sequência do DNA de 450bp dentro da região conservada L1 do genoma viral (YOUNG *et al.*, 1989)

Primers do gene da actina humana (AC1 e AC2) foram empregados para controle interno. Estes amplificam uma sequência de 310bp do material genético humano, conforme descrito por Afonso e colaboradores (2012).

Como controles positivos, amostras reconhecidamente positivas foram usadas. Como controles negativos, a água ultrapura, e como de padrão de peso molecular para avaliação por eletroforese em gel de agarose, o Fago λ 100bp (INVITROGEN®). A mistura de reação foi composta como descrito na Tabela 5.

**Tabela 5:** Componentes da Mistura de Reação (Mix) utilizado na PCR.

COMPONENTES	QUANTIDADE
Tampão (10x)	5µL
Água Ultrapura	33,75µL
Cloreto de Magnésio (MgCl <sub>2</sub> )	3L
dNTP (200 nM)	1µL
Primers 1+2 (50 pM)	2µL
Taq DNA Polimerase (5 U/uL)	0,25µL

Fonte: Própria.

Posteriormente, as amostras foram submetidas à amplificação, como demonstrado na Tabela 6:

**Tabela 6:** Detalhes da ciclagem na PCR.

ETAPAS	TEMPERATURA	TEMPO	CICLOS
Pré-desnaturação	94°C	5 min	1x
Desnaturação	94°C	30 s	35x
Anelamento	55/56°C	30 s	35x
Extensão	72°C	1 min	35x
Estabilização	72°C	10 min	1x
	4°C	Infinito	

Fonte: Própria.

Os produtos obtidos pela reação de PCR foram revelados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio (MUÑOZ *et al.*, 2003) e analisados sob luz ultravioleta no fotodocumentador L-Pix EX da Loccus Biotecnologia®. As bandas analisadas foram comparadas com o padrão de peso molecular escolhido (450bp).

#### 4.7.5 PCR específico para tipagem do HPV

Após a triagem, as amostras foram submetidas à tipagem, utilizando *primers* específicos (INVITROGEN®) para o segmento *E6* dos HPV 6, 11, 16 e 18. (MOLIJN *et al.*, 2005)

O fato do DNA viral se integrar ao DNA humano nos carcinomas cervicais pode fazer com que haja deleção de sequências-alvo dos primers genéricos MY09/11, que é a região L1. Mas os genes *E6* e *E7* são muito conservados, sendo essa característica primordial na malignização tecidual, o que justifica o uso desses primers para um diagnóstico mais específico.

Como controles positivos dos HPV 16 e 18, foram utilizadas linhagens de células Caski e HeLa, e como controle negativo, foi utilizada água ultrapura. Como

controle padrão de peso molecular, assim como na PCR de primers genéricos, foi utilizado o Fago  $\lambda$  100bp (INVITROGEN®).

A reação para tipagem pela PCR tipo-específica foi composta pelos mesmos constituintes da Tabela 5, exceto pelos primers, que agora são específicos para cada tipo do vírus. As amostras, após a adição da mistura de reação, foram submetidas à amplificação, conforme descrito na Tabela 6.

Os *amplicons* obtidos foram revelados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio e visualizados no fotodocumentador sob luz ultravioleta. As bandas foram analisadas de acordo com a comparação com o padrão de peso molecular escolhido, demonstrado na Tabela 7.

**Tabela 7:** Genótipos mais prevalentes de HPV e o tamanho de seus fragmentos, de acordo com a PCR tipo-específica.

TIPOS DE HPV	TAMANHO DO FRAGMENTO AMPLIFICADO
6	230bp
11	89bp
16	134bp
18	119bp

Fonte: Própria.

#### 4.7.6 Técnica do microarranjo: LCD-Array Kit Hpv Type 3.5 da Chipron® (Alemanha)

A partir de um DNA purificado de uma amostra cervical, foi feita uma PCR para amplificação do gene E1, que é altamente conservado. Amostras amplificadas na PCR MY09/11 e não tipadas pelo PCR tipo-específico foram utilizadas no LCD-Array Kit HPV Type 3.5 da Chipron® (AFONSO *et al*, 2017). Esse kit possui um protocolo, que foi seguido para a realização da técnica. Juntamente com as instruções, foram fornecidos modulador, Label, Stain, tampões de diluição, tampão de lavagem, mini centrífuga, cubas, lâmina, câmara e dois pares de *primers* marcados, sendo o MY09/11 e o 125, que amplificam uma região de 450bp e 125bp, respectivamente. Foram feitas duas reações, de composição similar, como representado na Tabela 8.

**Tabela 8:** Composição do Mix utilizado na PCR do kit.

	Tampão 10X	MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	Nucleotídeos (200 mmol)	Primers	Taq DNA polimerase (5U/uL)	Amostra	Água
MY09/ 11	12,5 µL	4,5 µL	5 µL	5 µL	1,5 µL	3 µL	86,5 µL
125	12,5 µL	4,5 µL	5 µL	10 µL	1,5 µL	3 µL	81,5 µL

Fonte: Própria.

Depois de adicionar a mistura de reação, as amostras foram submetidas à amplificação, como demonstrado no Tabela 9.

**Tabela 9:** Detalhes da ciclagem na PCR tipo-específica para HPV.

ETAPAS	TEMPERATURA	TEMPO	CICLOS
Pré desnaturação	96°C	3 min	1x
Desnaturação	94°C	1 min	35x
Anelamento	45°C	1 min 30 s	35x
Extensão	72°C	1 min 30 s	35x
Estabilização	72°C	3 min	1x
	4°C	Infinito	

Fonte: Própria.

Os produtos obtidos pela PCR foram revelados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídio e visualizados no fotodocumentador. Para a interpretação dos resultados, as bandas presentes no gel foram analisadas pela comparação do padrão de peso molecular do 450bp (MY09/11) e 125bp (125).

Após a leitura do gel, foi feita a etapa de hibridização. Nesta, preparou-se duas misturas de reação separadamente, um para o MY09/11 e outro para o 125, ambos com 22 mL do tampão de hibridização, 2 mL do modulador para cada reação. Como foram realizadas oito reações por chip, as quantidades foram 220 mL e 20 mL, respectivamente. Pipetou-se 24 mL em cada tubo de 0,2 mL, adicionando 10 mL de amostra (5 mL de cada). Foram aplicados na lâmina os 34 mL em cada poço correspondente, seguido de incubação por 30 minutos a 35°C. Foi importante que

essa etapa fosse realizada na ausência de luz, para evitar a degradação dos *primers* fluoresceinados.

Após esse tempo, o *chip* foi submetido a 3 lavagens, preparados com 995 mL de água deionizada adicionada de 5 mL de solução de lavagem, proveniente do kit. Esta etapa ocorre da seguinte forma: 3 cubas com 300 mL cada, sendo que nas cubas 1 e 2 mexeu-se 3 vezes por 3 segundos, e na cuba 3 mexeu-se 3 vezes e, em seguida, a lâmina foi submersa por 1 minuto.

A próxima etapa foi a de *spinning*, que consistia em 10 segundos de centrifugação no CHIP<sup>Spin</sup> FVL2400N para secagem. Depois, foi feita a marcação com o *Label*. O *mix* para oito reações era composto por 270 mL do tampão de diluição do *Label*, 30 mL do modulador e 2 mL do *Label*. Com isso, foram aplicados 30 mL desse *mix* em cada poço e incubados à temperatura ambiente por 5 minutos, seguida de lavagens e *spinning* iguais aos já realizados anteriormente.

A última etapa consistiu na coloração com o *stain*, do qual foram aliqüotados 30 mL para cada poço. Foi incubado novamente, com lavagem e *spinning* posteriores, sendo que nessa lavagem, o tempo na cuba 3 passa a ser de apenas 15 segundos.

A leitura pôde, então, ser realizada através de um scanner, que é capaz de identificar 32 genótipos mucosotrópicos diferentes do vírus: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 68, 70, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 90 e 91.

As figuras 26 e 27 abaixo resumem todo o processo analítico desta técnica.



**Figura 26:** Etapas da técnica do Microarray ilustradas. Todas as etapas são realizadas em 45 minutos

**Fonte:** AFONSO *et al*, 2017



**Figura 27:** Resultado obtido pela técnica do Microarray, indicando presença dos genótipos virais: HPV 6,11,53, 58 e 70. Fornece a identificação do tipo viral, a carga viral e o grau do risco do HPV. Em verde estão os HPV de baixo risco; em amarelo, os de risco intermediário; em vermelho, os de alto risco. Os três círculos em preto indicam os controles do teste, que comprovam seu funcionamento.

**Fonte:** AFONSO *et al*, 2017

#### 4.8 Análise estatística

A amostra estudada tratou-se de uma amostra de conveniência de MVHA tratadas e acompanhadas no centro de doenças infecciosas e parasitárias (CEDIP) do município de Campos dos Goytacazes. Para fins estatísticos, utilizando 90% do poder de teste, foi utilizada a calculadora epidemiológica da ferramenta de rede OpenEpi (DEAN, SULLIVAN & SOE, 2014) e a população feminina de 18 a 60 anos foi o objetivo do estudo (116.000 mulheres nessa faixa etária). Portanto, considerando uma prevalência de 30% do HPV, foi obtida uma amostra de pelo menos 78 indivíduos para o estudo.

Os pacientes e os dados foram alocados em variáveis contínuas e dicotômicas no banco de dados EPIDATA® com posterior análise univariada e multivariada pela ferramenta "R Archive Network" (Fundação R, ISSN 2973-4859).

As análises foram feitas entre os Grupos 1 e 2 pareados para investigar a relação entre a positividade do HPV e o peso de variáveis específicas. A força da associação foi mensurada pelo odds ratio (OR) com intervalos de confiança de 95% (IC95%). A regressão logística foi usada para estimar as ORs ajustadas e a escolha das variáveis para compô-la atendeu aos critérios do melhor AIC (*Akaike information criterion*). Todos os testes de hipóteses foram estabelecidos em nível de significância de 0,05. A ferramenta "R Archive Network" foi usada para todos os procedimentos estatísticos.

#### **4.9 Questões éticas**

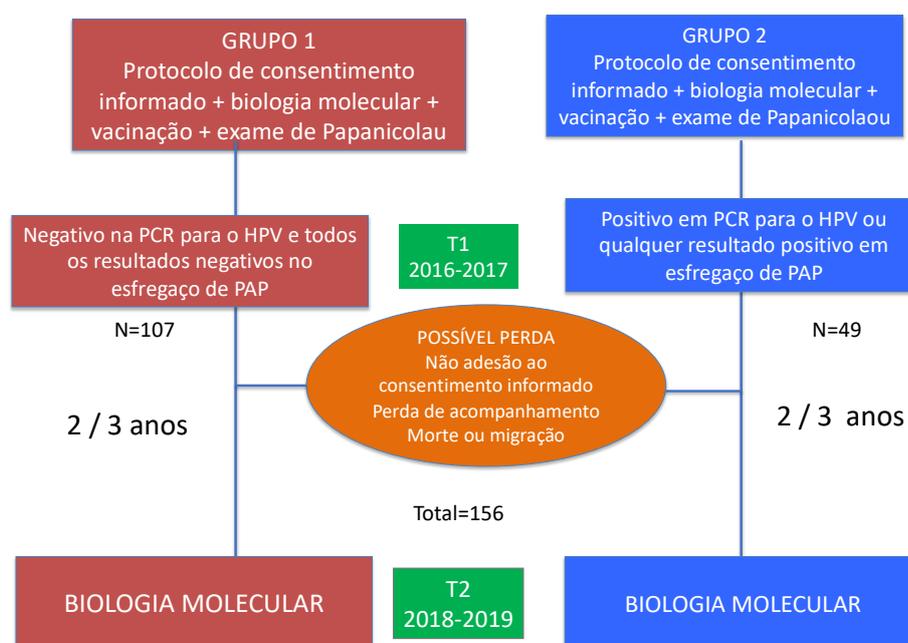
O projeto, bem como seu termo de consentimento livre e esclarecido foram encaminhados ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Campos através do sistema Plataforma Brasil, e já foram aprovadas em 16/03/2014, pelo parecer 558.338, de 28/02/2014.

## 5.0 RESULTADOS

### 5.1 Fluxograma do Estudo

Este trabalho compreende a análise final realizada em 156 mulheres que vivem com HIV (MVHA), cuja primeira paciente teve sua coleta em maio de 2014.

O grupo 1 foi representado por 107 mulheres (68%) sem positividade para o HPV e o grupo 2 por 49 mulheres (32%) provavelmente infectadas pelo HPV (MY09 / 11 PCR e / ou exame de Papanicolau positivos), ambos os grupos compostos por MVHA. As pacientes foram abordadas pela equipe de pesquisa em dois momentos, T1 (primeira coleta de PCR antes da vacinação) e T2 (segunda coleta no mínimo dois anos após a primeira coleta do PCR). A figura 28 abaixo contém um fluxograma com a sequência do estudo e a divisão dos grupos.



**Figura 28:** Fluxograma do estudo com o seguimento de 156 pacientes ao longo dos momentos de intervenção T1 e T2

## 5.2 Momento T1 – primeira coleta antes da vacinação

### 5.2.1 Características epidemiológicas da coorte

Esta coorte consistiu em 156 MVHA, respectivamente 62 (40%) pacientes com idade acima de 45 anos e 94 (60%) de 45 anos ou menos. Nesta coorte o número de mulheres em uso de antirretrovirais foi da ordem de 146 participantes (93%) do total.

A tabela 10 abaixo contém as características demográficas da população estudada:

**Tabela 10:** Análise demográfica e de prevalência da população de MVHA

Grupos de análise	nº indivíduos	PCR (%)	Papanicolau (%)	Prevalência Total
<b>Grupo 1</b>	107	0 (0%)	0 (0%)	0%
<b>Grupo 2</b>	49	39/49 (79,6%)	10/49 (20,4%)	100%
<b>Total</b>	156	39/156 (25%)	10/156 (6,4%)	49/156 (31,4%)

A tabela 10 nos mostra 31,4% de prevalência total da infecção pelo HPV, na coorte acompanhada. Quando estratificamos estes valores obtidos por resultados de PCR ou Papanicolau, obtivemos os valores de 25% e 6,4%, respectivamente.

Os principais tipos virais encontrados nas pacientes são informados na tabela 11. Além disso, pacientes com infecções únicas e múltiplas por HPV também são descritos:

**Tabela 11:** Tipos de HPV encontrados em infecção única ou múltipla em MVHA (Grupo 2)

<b>Apresentação da infecção pelo HPV</b>	<b>Tipo (s) de HPV</b>	<b>Nº de pacientes com o achado pela técnica de microarranjo</b>
<b>Infecção única</b>	06	05
	11	04
	16	02
	18	01
	81	01
	53	01
<b>Infecção múltipla</b>	06 – 18	05
	16-18	03
	06 -11 - 44 – 61	01
	06 – 11 – 44	01
	11 – 39	01
	11 – 68 – 90	01
	53 – 54 – 90	01
	45 – 70	01
	16 – 18 – 44	01
	06 – 11 – 53 – 58 – 70	01
	06 – 11	03
	11 – 33 – 81 – 83	01
16 – 42 – 52	01	
<b>Virus não tipados</b>		04
<b>Total</b>		39

Observamos um total de 14 pacientes com infecção por vírus único e 25 pacientes com infecção por múltiplos genótipos, alguns deles raros na população HIV negativa. Dos vírus detectados, 4 não puderam ser tipados.

Dos 35 pacientes infectados com tipos reconhecidos de HPV no Grupo 2, 31 tiveram infecção por genótipo incluída na 4vHPV distribuída pelo Ministério da Saúde do Brasil, o que representa 88,5% do total de pacientes do grupo 2 com genótipo conhecido. Quanto ao grau de oncogenicidade do genótipo cuja descrição se encontra na tabela 2, os achados do estudo foram categorizados e descritos na tabela 12 abaixo:

**Tabela 12:** Distribuição dos genótipos por padrões de oncogenicidade na coorte.

Classificação dos genótipos	N (%)
Genótipos de alto risco (oncogênicos)	23 (34%)
Genótipos benignos (baixo risco)	39 (58%)
Genótipos provavelmente oncogênicos	05 (8%)

### 5.2.2 Análise Univariada

Nosso estudo realizou uma análise univariada apresentada na tabela 13, considerando-se nível de significância estatística o valor de  $p < 0,05$ .

**Tabela 13** - Análise univariada das variáveis associadas à positividade para o HPV por PCR e/ou Papanicolau em MVHA

Variáveis	Odds ratio (95% CI)	IC (Inferior-Superior)	<i>p</i> -valor
<b>Idade (anos)</b>			
Menor que 50 anos	1.00		
maior ou igual a 50 anos	0,31	0,13–0,77	0,001*
<b>Estado Civil</b>			
Solteiro	1.00		
Casado	0,35	0,14-0,90	0,028*
Viúva	0,6	0,18-2,07	0,419
Divorciada	0,6	0,25-1,84	0,449
<b>Vida sexual ativa</b>			
Não	1.00		
Sim	1,13	0,51 – 2,52	0,762

**Nº Parcerias Sexuais  
por ano**

<b>Mais que 3</b>	1.00		
<b>Menor ou igual a 3</b>	0,34	0,15-0,76	0,008*

**Renda Familiar  
(Salários Mínimos)**

<b>Mais que 1 SM</b>	1.00		
<b>Menor ou igual a 1 SM</b>	1,38	0,57-3,34	0,479

**Idade na primeira  
Relação sexual**

<b>maior que 16 anos</b>	1.00		
<b>Menor ou igual a 16 anos</b>	1,58	0,78-3,22	0,206

**Uso de Preservativo**

<b>Não</b>	1.00		
<b>Sim</b>	0,67	0,33-1,37	0,273

**Número de filhos**

<b>Mais que 2</b>	1.00		
<b>Menor ou igual a 2</b>	0,47	0,23-0,96	0,037*

**Contagem de  
Linfócitos T CD4**

<b>Menor ou igual a 550</b>	1.00		
<b>Maior que 550</b>	0,24	0,12-0,50	0,001*

**Quantificação RNA  
viral**

<b>Detectada</b>	1.00		
<b>Não detectada</b>	0,85	0,42-1,70	0,637

**Legendas**

PCR (Reação em cadeia de polimerase)

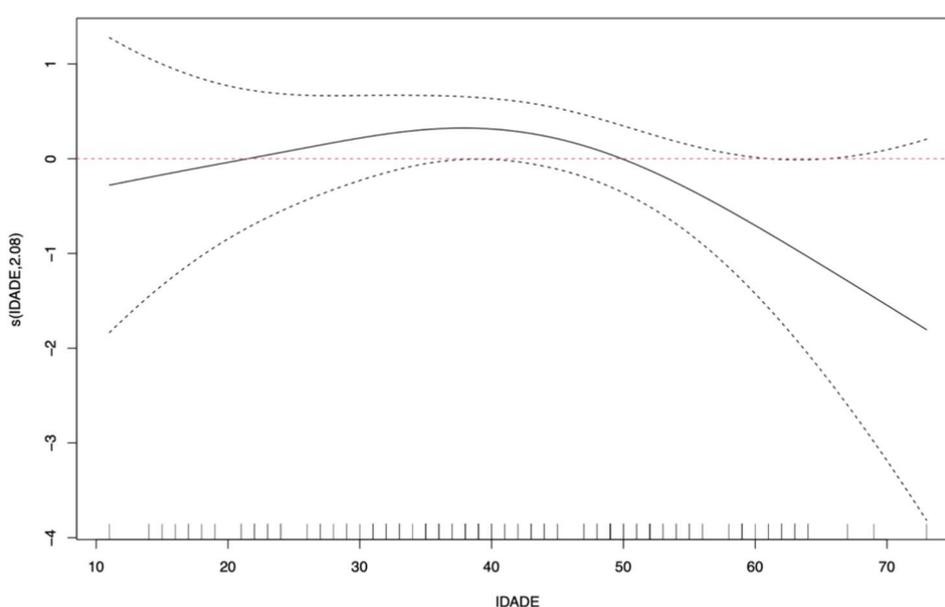
IC (Inf-sup): Intervalo de confiança (Inferior – superior)

\*Nível de significância  $p < 0,05$ 

SM: Salário mínimo

Em relação à análise univariada, a variável estatisticamente associada à maior risco para HPV na coorte foi idade menor que 50 anos. Por outro lado, o estado civil “casada”, número de parceiros sexuais, número de filhos menor ou igual a 2, além da quantidade de CD4 acima de 500 células estão estatisticamente associados a um fator de proteção contra a infecção pelo HPV.

A figura 28 abaixo contém gráfico de projeção através da linha do tempo da estimativa de risco de infecção pelo HPV através da idade da coorte, verificando-se que o ponto de viragem para o risco se encontra bem próximo a idade de 50 anos.



**Figura 29:** Idade através da linha do tempo e Risco relativo (RR) da infecção por HPV na coorte seguida. No eixo x descreve-se a variável de linha do tempo da idade e no eixo y o RR mostrando a curva em maior ou menor risco através do aumento da idade

### 5.2.3 Regressão Logística

Nosso estudo realizou análise multivariada incluindo todas as variáveis estudadas. Entretanto, pela regra estatística imposta, o melhor modelo que se ajustou ao melhor critério de informação de Akaike (AIC) se encontra disposto na tabela 14 abaixo.

**Tabela 14:** Modelo de regressão logística dos fatores associados à positividade para HPV em MVHA

<b>Variáveis</b>	<b>Odds ratio (95% CI)</b>	<b>IC (Inferior-Superior)</b>	<b>p-valor</b>
<b>IDADE maior ou igual a 50 anos</b>	0,21	0,07–0,63	0,005*
<b>CD4 menor ou igual a 550 células</b>	4,67	1,99-10,97	0,003*
<b>Nº parceiros sexuais menor ou igual a 3</b>	0,7	0,30-1,60	0,396
<b>Nº filhos menor ou igual a 2</b>	0,49	0,21-1,12	0,089

Legendas

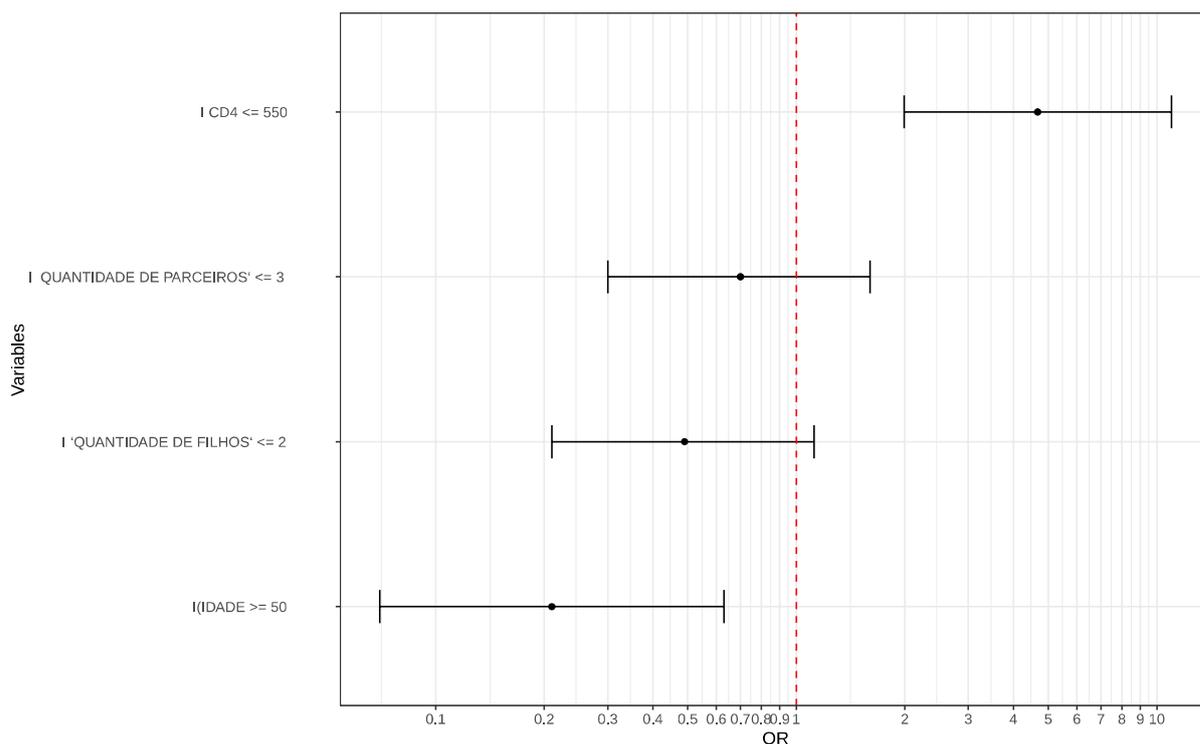
PCR (Reação em cadeia de polimerase)

IC (Inf-sup): Intervalo de confiança (Inferior – superior)

AIC - 157

Neste modelo a idade maior ou igual a 50 se mantém como fator de proteção, além do valor de CD4 acima de 550. Entretanto o indicador de quantidade de parceiros sexuais e o número de filhos perderam a significância em relação à análise univariada.

A regressão logística da tabela 14 se correlaciona com o gráfico 26 abaixo, em que as variáveis de interesse são dispostas em gráfico do tipo box plot. Neste gráfico, observamos que tanto os indicadores de CD4 e idade possuem OR cujos intervalos inferiores e superiores não cruzam o 1 e, portanto, são estatisticamente significantes, diferentemente das variáveis “número de parceiros sexuais, menor ou igual a três e número de filhos menor ou igual a dois.



**Figura 30:** Gráfico tipo box plot de regressão logística evidenciando as variáveis que se correlacionam com risco ou proteção para a infecção pelo HPV

### 5.3 Momento T2 – coleta após dois anos

#### 5.3.1 – Características epidemiológicas da coorte

O momento T2 foi representado pelo montante de 42 pacientes em que houve uma segunda coleta de *swab* para pesquisa molecular pelo menos dois anos após a coleta anterior.

Cabe a ressalva que deste total de 42 mulheres soropositivas ao HIV:

- 06 pacientes (14%) não se vacinaram no momento T2
- 04 pacientes (10%) receberam uma dose da vacina
- 06 pacientes (14%) receberam duas doses da vacina
- 26 pacientes (62%) receberam três doses da vacina

#### 5.3.2 – Prevalência da infecção pelo HPV X vacinação

A infecção pelo HPV no seguimento de 2 a 4 anos da coorte foi marcada pela identificação de três casos positivos pela técnica do *microarray*, totalizando uma

prevalência de 7%. Os achados da tabela 14 abaixo correlaciona os tipos virais encontrados em relação ao status vacinal das participantes do estudo:

**Tabela 15:** Tipos virais encontrados no momento T2 de acordo com o status vacinal

Número de pacientes por doses de vacinas recebidas	Número de casos positivos de HPV em T2	Tipo viral encontrado
Nenhuma dose de vacina	02	6, 11
01 (uma) dose de vacina	--	--
02 (duas) doses de vacina	01	58
03 (três)	--	--

Nota-se que 2 dos 3 tipos virais identificados estão incluídos na 4vHPV, sendo que o 3º tipo viral encontrado (HPV 58) está apenas incluso na 9vHPV. Vale ressaltar que todas as três pacientes positivas em T2 tiveram o PCR para o HPV negativo em T1.

## 6.0 DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a prevalência geral de infecção por HPV em MVHA foi de 31,4%, e 49 pacientes positivas pelo PCR e/ou Papanicolau. Um estudo multicêntrico conduzido no Brasil por Miranda e colaboradores considerou a prevalência de lesões por HPV em 802 mulheres, obteve resultados próximos aos nossos de 28,4% (Miranda *et al.*, 2017). No entanto, Da Silva, Santos e colaboradores descreveram em uma coorte semelhante à nossa com 270 MVHA acompanhadas em Sergipe a prevalência do DNA para o HPV em 55,6% (DA SILVA, SANTOS *et al.*, 2020).

Em uma linha semelhante, Silva Martins e colaboradores descreveram em uma coorte mais abrangente um estudo envolvendo três centros de pesquisa brasileiros. O estudo recrutou 450 mulheres MVHA em que foi usado a citologia oncológica, colposcopia com biópsia e tipagem viral com PCR. Os resultados mostraram uma prevalência do HPV de 47,5% nas MVHA (MARTINS *et al.*, 2014). Essa grande variabilidade na prevalência do HPV pode ser decorrente das metodologias utilizadas ou da população estudada.

Quando avaliamos as variáveis sócio-demográficas do nosso trabalho, observamos que a infecção pelo HPV estava mais relacionada à idade abaixo de 50 anos, o estado civil “casada”, um elevado número de parceiros sexuais, número de filhos menor ou igual a 2 e reduzida contagem de CD4, conforme a tabela 13. Estas variáveis se mantiveram estatisticamente significantes na análise multivariada, exceto pelo número de parceiros sexuais e número de filhos, que perderam significância. O estado civil não foi adicionado à análise multivariada pois nas análises preliminares esta variável apresentava muitos valores ausentes. Apesar de sabermos que contagem elevada de CD4 e tratamento antirretroviral não são garantia de prevenção do desenvolvimento de doença cervical, e ainda existem muitos pontos a serem elucidados (WILLIAMSON, 2015).

Sobre este tema, estudo de Chambuso e colaboradores mostrou resultados bem interessantes e que corroboram com os nossos, apesar de serem mais detalhistas em um ponto: a relação entre o indicador de CD4 e a progressão para carcinoma invasor possui mais acurácia com o percentual de CD4 e não a contagem absoluta. Neste ponto, foi demonstrado que 75% das MVHA com diagnóstico de câncer de colo de útero invasivo possuíam CD4 menor ou igual a 28%. Além disso, quando se observaram as relações entre as lesões intraepiteliais de baixo e alto grau (NIC), houve relação também com baixo percentual de CD4 (CHAMBUSO *et al.*, 2020). Outros resultados semelhantes foram encontrados em diversos outros estudos. (TRAVASSOS *et al.*, 2017; ORTIZ *et al.*, 2017; EZECHI *et al.*, 2014; CHAKRAVARTY *et al.*, 2016; MCCLYMONT *et al.*, 2020).

Além do indicador CD4, outras variáveis também se relacionaram ao maior risco de infecção pelo HPV. Assim como nosso estudo, a variável idade foi um fator de risco para a infecção pelo HPV, sendo a idade um fator protetor na idade maior ou igual a 50 anos. Diversos estudos mostraram a relação entre idade e risco de infecção por HPV, mas o “cut-off” variou bastante entre as análises, provavelmente devido às características individuais da distribuição da amostra por esta variável contínua. Assim temos que enquanto a idade acima de 30 anos foi utilizada como variável de risco nos estudos de Silva e colaboradores bem como Travassos e colaboradores (SILVA *et al.*, 2009; TRAVASSOS *et al.*, 2017); outros estudos mostraram o valor de 35 anos conforme artigos de e Chakravarty (MARTINS *et al.*, 2014; CHAKRAVARTY *et al.*, 2016). Posteriormente o mais recente até o estudo de Chambuso e colaboradores que descreve o ponto de corte de acima de 40 anos

(CHAMBUSO *et al.*, 2020).

Em nosso estudo o ponto de corte foi de 50 anos. Isso pode ser especulado devido à especificidade de nossa amostra, em que 40% das mulheres soropositivas tinham mais de 45 anos. Diferentemente do estudo de da Silva, Santos e colaboradores, que não mostrou relação significativa com a idade. Isso pode ser especulado pelo baixo número da amostra acima de 50 anos. No entanto, este artigo apresentou outros resultados com relação significativa com a infecção pelo HIV entre eles o menor número de anos letivos estudados e o tempo menor de 5 anos do diagnóstico de HIV (DA SILVA, SANTOS *et al.*, 2020).

Quando avaliamos as demais variáveis e as comparamos ao nosso trabalho, o artigo de Ceccato Junior e colaboradores (2016) analisou uma coorte brasileira conduzida de forma prospectiva de outubro de 2008 a fevereiro de 2012 com 103 MVHA e 113 controles negativas ao HIV. O estudo demonstrou uma incidência de 8,8 e 4,6 casos de Neoplasia intraepitelial cervical (NIC) a cada 100 mulheres / ano, respectivamente para as MVHA e negativas ao HIV. No mesmo estudo fatores tais como idade crescente e estado civil casadas foram fatores protetores. Estes resultados são semelhantes ao nosso estudo, que demonstrou na análise univariada que o status civil “casada” adicionava proteção. Podemos inferir que possivelmente as mulheres casadas teriam uma menor quantidade de parceiros sexuais ao longo da vida e provavelmente estar relacionado ao perfil de infecção pelo HPV. No entanto na análise multivariada esta variável perdeu significância mostrando a possibilidade de ser bastante enviesada. Em relação à incidência da infecção pelo HPV, este foi da ordem de 18,1 e 11,4 casos a cada 100 mulheres, respectivamente em MVHA e negativas ao HIV; em relação ao HPV mais encontrado tratou-se do HPV 16. (CECCATO JUNIOR *et al.*, 2016). Outros estudos também relacionam a infecção pelo HPV ao uso de drogas ilícitas, mas esta variável não foi analisada no nosso estudo (TRAVASSOS *et al.*, 2017; ORTIZ *et al.*, 2017).

Um ponto a ser destacado na infecção pelo HPV em MVHA é a persistência viral e o risco contínuo de desenvolvimento de lesões malignas e até invasivas, como o câncer do colo do útero, apesar do uso da HAART, ou seja, apesar da elevação da imunidade celular e dos anticorpos, existe ainda um risco alto e mantido de malignidade associado ao HPV. Assim, quanto ao maior risco de desenvolver câncer cervical em sua relação ao status de positividade ao HIV, um artigo de revisão tratou de estabelecer as bases científicas para embasarem a relação entre a

redução de alguns casos de tumores relacionados ao HIV tais como sarcoma de Kaposi e Linfoma não Hodgkin após a instituição do HAART. Entretanto, não foram observadas reduções significativas de câncer cervical e anal com uso desta terapia, demonstrando que existem outros fatores além dos níveis de CD4, o qual isoladamente não é preditor do maior risco de causar câncer de colo de útero (DREYER, 2017). Talvez seja neste ponto que alguns estudos demonstrem essas divergências entre os valores de CD4 e a correlação de risco para a infecção pelo HPV nas MVHA quando comparadas as análises univariadas com a regressão logística (PALEFSKY *et al.*, 2006).

Um exemplo dessa dissociação entre os valores de CD4 nas análises uni e multivariadas são nossos próprios resultados preliminares já publicados recentemente em que pese a relação estatisticamente significativa na análise univariada e não significativa na regressão logística do artigo enviado, diferente dos presentes achados que já demonstram a equivalência de resultados nas análises uni e multivariadas (Kury *et al.*, 2020). Podemos argumentar que esta mudança pode ter relação com a elevação no número de participantes da coorte tornando a variável mais robusta e se relacionando melhor com as outras na regressão logística. Entretanto conforme observa Chambuso (2020) o indicador de CD4 pode ter relação com aspectos mais específicos tais como se a variável foi analisada em seu valor absoluto ou relativo, o que pode estar relacionado a maior significado estatístico de infecção por HPV ou não.

Em relação à detecção de genótipos, nossos resultados mostraram 20 genótipos diferentes, com maior prevalência de HPV 6, 11, 16 e 18. É interessante observar que múltiplas infecções por HPV foram prevalentes (64%), embora genótipos de HPV de alto risco tenha sido detectados em apenas 34% das amostras do tipo HPV. Estes resultados são corroborados em dois outros estudos que demonstram a maior frequência de infecções múltiplas e diversidade genotípica na população de MVHA, em especial os tipos 16, 18, 31, 33 e 45 (ENE *et al.*, 2016; TEIXEIRA *et al.*, 2018; TSO *et al.*, 2015). O artigo de Abel e colaboradores (2019) que analisou 439 mulheres de 2011 a 2014 na Guiana Francesa obteve resultados mais elevados que os nossos com a prevalência geral de infecção por HPV de 50,1% e percentual de infecção de alto risco de HPV de 42%, sendo os genótipos mais prevalentes os tipos 16, 52, 53 e 68. Cabe ressaltar que nesta coorte, 90% das participantes estavam em uso de antirretrovirais. E os tipos 52 e 58 são

reconhecidamente prevalentes nos países de colonização espanhola.

Em uma linha semelhante, Castilho e colaboradores acompanharam uma coorte de 590 mulheres HIV-positivas usando teste de genoma baseado em captura híbrida no Hospital Evandro Chagas (Fiocruz), Rio de Janeiro. Este estudo publicou resultados de prevalência de HPV de alto risco em 65%, mais elevado do que nosso estudo. Além disso, mostraram também que 32% das mulheres estudadas tiveram mais de um tipo de HPV de alto risco detectado. Os tipos de HPV mais comumente detectados foram 58, 53 e 16 (CASTILHO *et al.*, 2015).

Quando analisamos dados da relação entre a infecção única e múltipla e o risco de carcinoma cervical, Massad e colaboradores concluíram, após longo estudo de coorte, que em 12 anos acompanhou 2.543 MVHA e 895 mulheres negativas ao HIV que foram rastreadas para o Papanicolau, PCR para HPV e colposcopia nos casos específicos. No grupo dos 2.543 de MVHA a prevalência geral de pacientes com HPV positivo foi da ordem de 1.333 (52%), sendo tipos oncogênicos em 716 mulheres (28%). Em relação as mulheres negativas ao HIV, 199 tinha ao menos 1 HPV (22%), sendo 96 oncogênico e 196 não oncogênico. A análise das variáveis demonstrou que a idade mais jovem, a menor contagem do CD4, não brancas, fumantes e com elevada carga viral de HIV foram mais associadas à infecção pelo HPV. Quando comparados ao risco de evolução para câncer, os resultados do PCR e colposcopia demonstraram que a positividade das múltiplas infecções não foi estatisticamente significativa para levar ao carcinoma *in situ* (Massad *et al.*, 2016). Entretanto, outros estudos mostraram resultados diferentes, entre eles o estudo de Liu e colaboradores que demonstrou que a mulheres com maior grau de imunodepressão pelo HIV estão associadas a maior risco para ocorrência de anormalidades cervicais de alto grau (LIU *et al.*, 2016).

Em uma linha semelhante de pensamento, Camargo e colaboradores (2014) analisaram 216 MVHA e 1.159 mulheres negativas ao HIV. Os achados demonstraram que a prevalência de HPV na população estudada que era de MVHA era de cerca de 69% para HPV, sendo 78% da amostra com tipos múltiplos de HPV, números bem superiores ao grupo de negativas ao HIV (44% prevalência, 51% com tipos múltiplos). Este artigo demonstrou que a ocorrência de infecção por tipos múltiplos de HPV é mais elevado em MVHA em relação as negativas ao HIV. Apesar de nosso estudo não analisar as mulheres negativas para HIV, os resultados deste estudo atestam nossos achados de maior prevalência de infecção de HPV múltiplo

na população de MVHA quando comparada às taxas descritas em estudo do nosso grupo em que este indicador de infecção múltipla apareceu em 20% das mulheres (SILVA *et al.*, 2009). Além disso, o mesmo trabalho apresentou variáveis relacionadas à infecção pelo HPV tais como contagem de CD4, semelhante aos nossos achados. Entretanto no artigo de Camargo a variável carga viral foi estatisticamente significativa, diferente dos nossos resultados, disponibilizados na tabela 13.

Um outro exemplo dessa associação é o estudo transversal conduzido por Mujuni e colaboradores (2016), que avaliou 255 MVHA e mostrou a presença de DNA positivo para HPV em cerca de 54% dos pacientes, com genótipos de HPV de alto risco presentes em 48,6% dos pacientes. Em nosso estudo, infecções múltiplas mostraram um perfil de genótipo de HPV mais benigno. Podemos argumentar que os pacientes deste município do interior têm menor risco de infecção pelo HPV e desenvolvimento de doenças malignas devido ao programa CEDIP; esse programa oferece um serviço de ginecologia específico para essa população, sendo possível rastrear e tratar rapidamente as lesões do HPV.

Uma questão específica a ser destacada na infecção pelo HPV em MVHA trata-se do processo de persistência viral e o risco contínuo de desenvolvimento de lesões malignas e até invasivas, como o câncer de colo do útero. Apesar do uso de HAART - ou seja, apesar da elevação da imunidade celular e dos anticorpos - ainda existe um risco elevado e consistente de malignidade associada ao HPV (CHAMBUSO *et al.*, 2020; ADLER *et al.*, 2015; BANSAL *et al.*, 2016).

Sobre este tema, diversos estudos de seguimento da infecção pelo HPV em coortes de seguimento das MVHA tem sido realizados da mesma forma que o nosso estudo, alguns deles com semelhanças na metodologia. Destaca-se o estudo de McClymont e colaboradores (2020), que recrutou adolescentes e MVHA do Canadá de 14 centros de tratamento em uma coorte de seguimento de coletas para identificação de persistência viral na coorte sem prévia vacinação. Assim, foram seguidas na coorte 252 mulheres que tiveram ao menos duas coletas antes da vacina e outras após a vacina durante um período de 2008 a 2015, diferente do nosso estudo que fez apenas uma coleta antes e outra depois, aproximadamente 2 anos após. Os resultados mostraram que no período pré vacinal a prevalência da infecção foi da ordem de 45,2%, com a maior percentual do HPV 16 e 52 (10,3% e 9,1% do total genotipado, respectivamente). O percentual de infecção persistente

situou-se em torno de 33%, sendo 17% por tipos de alto risco, em especial os HPV 35, 39, 51, 56, 59, 68, 82.

Os resultados do estudo de Mcclymont e colaboradores (2020) diferem em vários aspectos nosso trabalho e isso pode ser debatido à luz de várias possibilidades entre elas a maior sensibilidade do teste causada pela oferta da dupla coleta pré vacinal; a oferta de coleta seriada em uma longa coorte de sete anos bem como a hipótese do efeito “washout”, descrito por Suzzane Garland em editorial de 2020 sobre o programa Nacional de vacinação na Coréia, em que pese o efeito de influência da vacina na prevalência de genótipos virais podendo ocasionar potenciais vieses na prevalência (GARLAND, 2020).

Em uma outra linha mas desta feita mais relacionada à relação entre os fatores pré analíticos e analíticos da infecção pelo HPV em uma população HIV positiva, Murenzi e colaboradores (2020) publicaram um estudo que permitiu medir a prevalência da infecção por HPV de alto risco em três diferentes grupos de MVHA, em três diferentes momentos e em três diferentes métodos de tipagem porém reprodutíveis. O artigo realizou o teste de PCR com primers genéricos MY09/MY11 em 2005 com 497 mulheres; o CareHPV Qiagen® em 1.242 mulheres em 2009-2010, e o GeneExpert® em 2016-2018, com 4.734 mulheres. Os resultados mostraram que a prevalência foi decrescendo com o tempo, respectivamente de 42,5, 32,2 e 26,5% em 2005, 2010 e 2018. Outro achado importante foi a elevação crescente do indicador de CD4 maior ou igual a 500 células, que se elevou de 7,7 2005 a 61,1% em 2018, demonstrando que o melhor manejo imunológico pode estar associado a melhor resposta à infecção pelo HPV.

Nosso estudo analisou a cobertura de genótipos do HPV nas duas vacinas disponíveis no mercado. Sabe-se que as MVHA apresentam infecção com múltiplos genótipos de HPV, fato este corroborado em nosso estudo, através de descoberta que, de 35 pacientes com genótipos identificados, 31 (88%) e 32 (91%) deles tinham pelo menos um genótipo incluído em 4vHPV e 9vHPV, respectivamente. Se delimitarmos apenas os genótipos de alto risco esse número se reduz para 13 (37%) e 16 (46%), contidos respectivamente nas vacinas 4vHPV e 9vHPV. Sobre este tema, Fusco e colaboradores (2018) demonstraram prevalência de HPV de 50,2% em uma amostra de 321 MVHA. Com base nos genótipos identificados, o uso de 2vHPV, 4vHPV e 9vHPV preveniria lesões em 19%, 33% e 48%, respectivamente.

Em uma linha de pesquisa semelhante, Kelly e colaboradores (2017)

analisaram 1238 MVHA em dois países Africanos em uma coorte de seguimento com coleta de Papanicolau e genotipagem. No período de um ano de seguimento com a caracterização dos genótipos e de outros indicadores, a prevalência de quaisquer tipos de HPV de alto risco contidos em mulheres com lesões de alto grau estavam incluídos em 45,6% e 90,3% respectivamente nas vacinas 4vHPV e 9vHPV. Essa questão abre uma margem para relacionar com nosso estudo que a despeito de menor número da coorte os resultados demonstram que a adição da vacina 9vHPV poderia trazer mais benefícios à população soropositiva ao HIV devido ao grande número de pacientes com infecções múltiplas. Um outro estudo Thorsteinsson e colegas (2018) analisaram a prevalência e distribuição das lesões relacionadas ao HPV e a cobertura genotípica incluída nas vacinas. Para lesões cervicais, a cobertura incluída em 4vHPV e 9vHPV foi de 17,8% e 50% respectivamente. Interessante ressaltar que, semelhante ao nosso estudo este artigo também se utilizou da técnica do microarray para a tipagem molecular.

Quando analisamos os nossos achados de possíveis benefícios da vacina com os dados disponíveis na literatura para a população de MVHA destacamos os achados de McClymont e colaboradores (2019) que em um estudo de seguimento com 420 meninas e mulheres pelo protocolo "Intention-to-treat" demonstrou que a identificação de DNA para HPV da coorte vacinada quando comparada ao grupo de não vacinados teve significativa redução após o 2 anos de seguimento, respectivamente de 2,3 casos de DNA positivo por 100 pessoas / ano em comparação a 6,0/100 pessoas ano em comparação ao grupo não vacinado. Esse resultado é corroborado por nossos números que mostraram no momento T2 uma importante redução de casos identificados na coorte vacinada, a despeito de apenas um caso vacinada com DNA para o HPV positivo identificada com tipo 58, esse disponível na vacina 9vHPV. Os demais casos identificados positivos em T2, respectivamente 6 e 11 foram pacientes que não se vacinaram em tempo oportuno.

A infecção pelo HPV é um problema de saúde pública pela extensão de sua disseminação e seus desfechos adversos, como a ocorrência de lesões oncogênicas. Em relação à população feminina que vive com HIV, essa questão é ainda mais complexa devido ao contexto da imunossupressão. Este estudo confirma a alta prevalência e diversidade genômica do HPV na população investigada e reforça ainda mais a necessidade de indicações da vacina, dada a alta prevalência dos tipos de HPV contidos na vacina. A implementação do 9vHPV melhoraria a

cobertura dos genótipos. No entanto, a política de vacinação no Brasil deve ser preparada primeiro para ampliar o calendário de vacinação 4vHPV para as MVHA e garantir uma cobertura vacinal elevada. Então, em uma segunda etapa, seria plausível implementar o 9vHPV para melhorar a proteção contra o HPV.

Este trabalho tem várias limitações. Primeiro, o estudo optou por observar apenas pacientes com 18 anos ou mais; com isso, pretendeu-se resolver duas possíveis limitações iniciais do estudo: o tamanho da amostra e o fato de quase todos os adolescentes já terem recebido a primeira dose da vacina iniciada pelo município antes do início do estudo. Tivemos dificuldades para fazer o acompanhamento de alguns pacientes, por isso o autor iniciou a vigilância ativa da amostra por meio de ligações telefônicas e conversas durante o atendimento na atenção básica. Outras limitações da análise envolvem dados subjetivos coletados em um questionário, bem como o pequeno número amostral no período T2 para se fazerem inferências causais tais como efetividade vacinal. É possível também que alguns graus de vieses, como viés de memória ou viés do entrevistador podem ter existido, o que pode impactar a análise estatística univariada. Por último podemos inserir neste tópico limitações a dificuldade na tipagem de quatro pacientes, o que pode ser argumentado dado ao universo genotípico bastante diverso da paciente que convive com HIV.

Com base na experiência mundial de uso da vacina contra o HPV, o sucesso da vacinação é inegável, principalmente entre MVHA e que, principalmente, precisam ser vacinadas em momentos de supressão do HIV. Em conclusão, os resultados deste estudo demonstram que o programa de vacinação pública no Brasil deve considerar a mudança do esquema 4vHPV para as MVHA para incluir uma extensão da indicação até os pacientes atingirem os 45 anos de idade, preferencialmente em âmbito do Centro de referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE), estendendo esta indicação também aos homens que vivem com HIV.

## 7 CONCLUSÕES

- Foram analisadas nesta coorte de estudo 156 mulheres que vivem com HIV, divididos em 2 grupos. O grupo 2 (positivo para PCR e ou Papanicolau) foi representado por 49 pacientes, dentre elas 39 mulheres positivas ao HPV caracterizados por PCR (25%) e 10 por teste de Papanicolau (6,4%), perfazendo um total de 31,4% de prevalência.
- Em 39 mulheres com infecção por HPV identificada por PCR, as infecções múltiplas ocorreram em 25 pacientes e as infecções únicas em 14 mulheres.
- Os principais tipos encontrados nas infecções únicas e múltiplas da coorte foram em ordem decrescente: tipos 6 (16 pacientes), 11 (13 pacientes), 16 (7 pacientes) e 18 (10 pacientes).
- Em 35 pacientes infectados por tipos conhecidos de HPV do grupo 2, 31 (88%) possuem tipos de HPV contidos na 4HPV, e 32 (91%) pacientes com tipos de HPV contidos na vacina 9vHPV.
- A distribuição percentual de genótipos de HPV por padrões de oncogenicidade são em ordem decrescente: genótipos benignos (58%); genótipos de alto risco (34%); genótipos provavelmente oncogênicos (8%)
- As variáveis na análise univariada relacionadas estatisticamente à proteção da infecção por HPV foram: idade maior ou igual 50 anos; estado civil “casada”; número de parceiros sexuais menor ou igual a 3; número de filhos menor ou igual a 2; quantidade de CD4 acima de 550 células
- A regressão logística confirmou a significância das variáveis CD4 e idade como fatores de proteção, entretanto as variáveis “número de parceiros sexuais” e “número de filhos” deixou de se tornar significativa.
- Este estudo sugere a incorporação pelo Ministério da Saúde da 4vHPV para mulheres HIV positivas acima de 26 e menores de 45 anos no contexto do Centro de referência de Imunobiológicos especiais (CRIE).

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL S, Najjioullah F, Voluménie JL, et al. High prevalence of human papillomavirus infection in HIV-infected women living in French Antilles and French Guiana. *PLoS One*. 2019;14(9):e0221334. Published 2019 Sep 4. doi:10.1371/journal.pone.0221334

ADLER D, Wallace M, Bennie T, et al. High risk human papillomavirus persistence among HIV-infected young women in South Africa. *Int J Infect Dis*. 2015;33:219-221. doi:10.1016/j.ijid.2015.02.009

AFONSO LA, Moyses N, Alves G, et al. Prevalence of human papillomavirus and Epstein-Barr virus DNA in penile cancer cases from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(1):18-23. doi:10.1590/s0074-02762012000100003

AFONSO LA, Carestiato FN, Ornellas AA, et al. Human papillomavirus, Epstein-Barr virus, and methylation status of p16<sup>ink4a</sup> in penile cancer. *J Med Virol*. 2017;89(10):1837-1843. doi:10.1002/jmv.24833

AHDIEH L, Klein RS, Burk R, et al. Prevalence, incidence, and type-specific persistence of human papillomavirus in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative women. *J Infect Dis* 2001; 184:682–690

ALCAMÍ J, Corias, M. Inmunopatogenia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 29(3):216–226, 2011. Acesso em: 16 ago de 2013.

ARROYO, LS. HPV phylogenetic tree. HPV Center. Disponível em [https://www.hpvcenter.se/wp-content/uploads/2020/04/HPV1\\_228\\_tree.tif](https://www.hpvcenter.se/wp-content/uploads/2020/04/HPV1_228_tree.tif) Acesso em 25 de outubro de 2020

ASSOCIAÇÃO Hospitalar Moinhos de Vento. Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecção pelo HPV (POP-Brasil): Resultados preliminares – Associação Hospitalar Moinhos de Vento – Porto Alegre, 2017

Assunção JGF, Correa AKA. Análise comparativa das Técnicas de Biologia Molecular para Genotipagem do Papiloma vírus Humano – HPV. *Rev Cient Escola Saúde*. Ano 3, n° 2, abr. / set. 2014. Acesso em

AYRES ARG, Azevedo e Silva G. Cervical HPV infection in Brazil: systematic review. *Rev Saúde Pública* 2010;44(5):963-74

BANSAL A, Singh MP, Rai B. Human papillomavirus-associated cancers: A growing global problem. *Int J Appl Basic Med Res*. 2016;6(2):84-89. doi:10.4103/2229-516X.179027

BARRON BA, Richart RM. A statistical model of the natural history of cervical carcinoma based on a prospective study of 557 cases. *J Natl Cancer Inst.* 1968;41(6):1343-1353.

BASHAW AA, Leggatt GR, Chandra J, Tuong ZK, Frazer IH. Modulation of antigen presenting cell functions during chronic HPV infection. *Papillomavirus Res.* 2017;4:58-65. doi:10.1016/j.pvr.2017.08.002

BERGMAN H, Buckley BS, Villanueva G, Petkovic J, Garritty C, Lutje V, Riveros-Balta AX, Low N, Henschke N. Comparison of different human papillomavirus (HPV) vaccine types and dose schedules for prevention of HPV-related disease in females and males. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2019, Issue 11. Art. No.: CD013479. DOI: 10.1002/14651858.CD013479.

BENZAKEN AS, Pereira GFM, Costa L, et al. Antiretroviral treatment, government policy and economy of HIV/AIDS in Brazil: is it time for HIV cure in the country? *AIDS Res Ther* (2019) 16:19 <https://doi.org/10.1186/s12981-019-0234-2>

BERNARD HU, Chan SY, Manos MM, et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms [published correction appears in *J Infect Dis* 1996 Feb;173(2):516]. *J Infect Dis.* 1994;170(5):1077-1085. doi:10.1093/infdis/170.5.1077

BERNARD HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology.* 2010;401(1):70-79. doi:10.1016/j.virol.2010.02.002

BERRY JM, Palefsky JM. A review of human papillomavirus vaccines: from basic science to clinical trials. *Front Biosci.* 2003;8:s333-s345. Published 2003 May 1. doi:10.2741/1003

BORSATTO, A. Z.; VIDAL, M. L. B.; ROCHA, R. C. N. P. Vacina contra o HPV e a Prevenção do Câncer do Colo do Útero: Subsídios para a Prática. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 57, n. 1, 2011. Disponível em: [http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_57/v01/pdf/10\\_revisao\\_de\\_literatura\\_vacina\\_hpv\\_prevencao\\_cancer\\_colo\\_uterio\\_subsidios.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_57/v01/pdf/10_revisao_de_literatura_vacina_hpv_prevencao_cancer_colo_uterio_subsidios.pdf)> Acesso em 28 Ago 2013.

BOSCH, F. Xavier *et al.* Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, v. 87, n. 11, p. 796-802, 1995.

BRAGAGNOLO, A. L.; ELI, D.; HAAS, P. Papiloma Vírus Humano (HPV). *RBAC-Revista Brasileira de Análises Clínicas*; 42(2): 91-96, 2010. Acesso em: 16 de ago de 2013.

BRANT, AC. Análise da integração genômica do Papilomavírus humano e a expressão de seus genes em câncer cervical. Fevereiro 2015. Dissertação de

Mestrado. Instituto Nacional de Câncer (INCA). Pós Graduação em Oncologia. Rio de Janeiro, fevereiro de 2015. Apoio financeiro CNPq, Faperj, INCT-Câncer, OPAS, INCA.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Controle dos cânceres do colo do útero e da mama / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2013. 124 p.: il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 13) Acessado em 20 de junho de 2014

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST). – Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 232p. Acessado em 22 de setembro de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 149 p.: il. Acessado em 22 de setembro de 2020.

BRASIL. MINISTERIO DA SAUDE. SECRETARIA DE VIGILANCIA EM SAUDE. Departamento de Vigilância de Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral do Programa Nacional de Imunizações (CGPNI). Informe Técnico da Vacina Papilomavirus Humano 6, 11, 16, 18 Recombinante. Brasília, 2015. Acessado em 14 de agosto de 2015

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS 2019. Brasília: Ministério da Saúde, dezembro de 2018. <http://www.aids.gov>. Acessado em 22 de setembro de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Relatório de Monitoramento Clínico do HIV. Brasília: Ministério da Saúde; 2018. <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2018/relatorio-de-monitoramento-clinico-do-hiv-2018>. Accessed 27 Feb 2019.

BRASIL. MINISTERIO DA SAUDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA – ANVISA. Câncer de colo de útero: a vacina para prevenção do HPV e o desafio para a melhoria da qualidade do rastreamento no Brasil. BRATS – Boletim Brasileiro de Avaliação de Tecnologias em Saúde. 2011, dezembro. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4bbac7804a14f133a713afaa19e2217c/BRATS17.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 17 de ago de 2013.

BRASIL. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. Relatório Epidemiológico dos casos de Câncer de cólo de útero. Disponível em <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer> Acesso em 14 de novembro de 2020.

BRUNI L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, Muñoz J, Bosch FX, de Sanjosé S. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 17 June 2019. Acesso em 7 de outubro de 2019

BRUSSELAERS N, Shrestha S, Van de Wijgert J, Verstraelen H. Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: Systematic review and meta-analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018, 221, 9–18.e8.

BRYER J. Human papillomavirus health policy. *Policy Polit Nurs Pract* 2010;11(1):23–8. Retrieved from <http://ppn.sagepub.com.ezproxy.library.dal.ca/content/11/1/23.full.pdf+html>

BURD, Eileen M. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clinical microbiology reviews*, v. 16, n. 1, p. 1-17, 2003.

BURD EM. 2016. Human papillomavirus laboratory testing: the changing paradigm. *Clin Microbiol Rev* 29:291–319. doi:10.1128/CMR.00013-15.

CAMARGO *et al.* Human papillomavirus detection in women with and without human immunodeficiency virus infection in Colombia. *BMC Cancer* 2014 14:451. doi:10.1186/1471-2407-14-451

CARESTIATO FN, Silva KC, Dimetz T, Oliveira LH, Cavalcanti SM. Prevalence of human papillomavirus infection in the genital tract determined by hybrid capture assay. *Braz J Infect Dis.* 2006;10(5):331-336. doi:10.1590/s1413-86702006000500006

CARESTIATO FN, Amaro-Filho SM, Moreira MAM, Cavalcanti SMB. Methylation of p16 ink4a promoter is independent of human papillomavirus DNA physical state: a comparison between cervical pre-neoplastic and neoplastic samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2018;114:e180456. Published 2018 Dec 17. doi:10.1590/0074-02760180456

CARRAPA A, Zão A, Coelho J, Santos J, Pedrosa S. Técnicas de análise de DNA aplicadas a diagnóstico. Departamento de Biologia Celular e Molecular: Faculdade de Medicina da Universidade do Porto; 2005.

CARTER JJ, Koutsky LA, Hughes JP, Lee SK, Kuypers J, Kiviat N, *et al.* Comparison of human papillomavirus types 16, 18, and 6 capsid antibody responses following incident infection. *Journal of Infectious Disease*; 1:1911-1919, 2000.

CASTELLSAGUÉ X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis - role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:20–28.

CASTILHO JL, Levi JE, Luz PM, Cambou MC, *et al.* A cross-sectional study of high-risk human papillomavirus clustering and cervical outcomes in HIV-infected women in

Rio de Janeiro, Brazil. BMC Cancer, 2015. DOI 10.1186/s12885-015-1486-4

CASTRO-VÁSQUEZ MC, Arellano-Gálvez, M. C. Acceso a La información de mujeres con VPH, displasia y câncer cervical in situ. *Salud Pública de México*;52(3): 207-212, 2010. Acesso em: 17 de ago de 2013.

CECCATO JUNIOR BPV, Guimarães MDC, Ceccato Lopes AP, et al. Incidence of Cervical Human Papillomavirus and Cervical Intraepithelial Neoplasia in Women with Positive and Negative HIV Status. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2016;38:231–238. DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0036-1583294>. ISSN 0100-7203.

CHAKRAVARTY J, Chourasia A, Thakur M, et al. Prevalence of human papillomavirus infection & cervical abnormalities in HIV-positive women in eastern India. *Indian J Med Res* 143, January 2016, pp 79-86 DOI:10.4103/0971-5916.178614

CHAKRAVORTY A, Sugden B (2018) Long- distance communication: Looping of human papillomavirus genomes regulates expression of viral oncogenes. *PLoS Biol* 16(11): e3000062. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000062>

CHAMBUSO R, Ramesar R, Kaambo E, et al. Age, absolute CD4 count, and CD4 percentage in relation to HPV infection and the stage of cervical disease in HIV-1-positive women. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(9):e19273. doi:10.1097/MD.00000000000019273

CHIN MT, Broker TR, Chow LT. Identification of a novel constitutive enhancer element and an associated binding protein: implications for human papillomavirus type 11 enhancer regulation. *J Virol*. 1989;63(7): 2967-76.

CHOW LT, Broker TR, Steinberg BM. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *Apmis*, v. 118, n. 6-7, p. 422-449, 2010.

COHEN C, Von Mollendorf C, De Gouveia L, et al., Effectiveness of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine against invasive pneumococcal disease in HIV-infected and -uninfected children in South Africa: a matched case-control study, *Clin. Infect. Dis.* 59 (2014) 808–818.

COUPÉ VMH, Berkhof J, Bulkman NWJ, Snijders PJF, Meijer CJLM. Age-dependent prevalence of 14 high-risk HPV types in the Netherlands: implications for prophylactic vaccination and screening. *British Journal of Cancer* (2008) 98, 646 – 651

CULP TD, Budgeon LR, Marinkovich MP, Meneguzzi G, Christensen ND. Keratinocyte-secreted laminin 5 can function as a transient receptor for human papillomaviruses by binding virions and transferring them to adjacent cells. *J Virol* 2006; 80: 8940–50.

CUZICK, J, Terry G, Ho L, Monaghan J, Lopes A, Clarkson P, Duncan I. Association between high-risk hpv types, hla drb1\* and dqb1\* alleles and cervical cancer in british women. *Br. J. Cancer* **2000**, 82, 1348–1352.

CROW JM. HPV: The global burden. *Nature*. 2012;488(7413):S2-S3. doi:10.1038/488S2a

DAMES DN, Ragin C, Butler R. The prevalence of cervical cytology abnormalities and human papillomavirus in women infected with the human immunodeficiency virus. *Infect Agent Cancer*;4(suppl 1): S8, 2009.

DA SILVA BEB, Santos VS, Santos IER, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in women living with HIV/AIDS in an area of Northeast Brazil [published online ahead of print, 2020 Apr 24]. *J Med Virol*. 2020;10.1002/jmv.25935. doi:10.1002/jmv.25935

DEAN, A. G.; SULLIVAN, K. M.; SOE, M.M. Openepi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health [atualizada em novembro de 2014] Acesso em 05 de maio de 2017. Disponível em: [www.OpenEpi.com](http://www.OpenEpi.com).

DEMARTEAU N, Breuer T, Standaert B. Selecting a mix of prevention strategies against cervical cancer for maximum efficiency with an optimization program. *Pharmacoeconomics*. 2012;30(4):337-353. doi:10.2165/11591560-000000000-00000

D'SOUZA G, Wiley D, Li X, Chmiel J, Margolick J, Cranston R, et al. Incidence and epidemiology of anal cancer in the multicenter AIDS cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 48: 491–499. 2008

DE VILLIERS EM, Fauquet C, Broker TC, Bernard HU, Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*.; 324:17-27, 2004. Acesso em: 17 de ago de 2013.

DIDIERLAURENT, Arnaud M. et al. AS04, an aluminum salt-and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. *The Journal of immunology*, v. 183, n. 10, p. 6186-6197, 2009.

DOORBAR J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*. 2005;32 Suppl 1:S7-S15. doi:10.1016/j.jcv.2004.12.006

DOORBAR J, Quint W, Banks L, Bravo IG, et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses: Review. *Vaccine* 30S (2012) F55–F70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>

DOORBAR J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol*. 2015;25(Suppl 1):2-23, <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.1822>.

DREYER G. Clinical implications of the interaction between HPV and HIV infections. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 Feb; 47:95-106. doi:

10.1016/j.bpobgyn.2017.08.011. Epub 2017 Sep 6.

EGAWA N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J. 2015. Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia. *Viruses* 7:3836–3890.

EINSTEIN Mark, Schiller JT, Viscidi RP, Strickler HD, et al. Clinician's guide to human papillomavirus immunology: knowns and unknowns (Review). *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 347–56

EINSTEIN, Mark H. et al. Comparative immunogenicity and safety of human papillomavirus (HPV)-16/18 vaccine and HPV-6/11/16/18 vaccine: follow-up from months 12–24 in a Phase III randomized study of healthy women aged 18–45 years. *Human vaccines*, v. 7, n. 12, p. 1343-1358, 2011.

ELLSWORTH GB, Lensing SY, Ogilvie CB, et al. A delayed dose of quadrivalent human papillomavirus vaccine demonstrates immune memory in HIV-1-infected men. *Papillomavirus Res.* 2018;6:11-14. doi:10.1016/j.pvr.2018.05.001

ELEUTÉRIO Junior J, Giraldo PC, Gonçalves AK. Marcadores imunoistoquímicos de lesões precursoras do câncer de colo uterino associadas ao HPV: o papel da proteína de supressão tumoral p16ink4a. *DST J Bras Doenças Sex Transm.* 2006;18(1):62-5.

ENE L, Voinea C, Stefanescu C, Sima D, et al. Cervical HPV Infection in Romanian Women Infected with HIV During Early Childhood. *Int J STD AIDS.* 2016 October ; 27(12): 1079–1085. doi:10.1177/0956462415608333.

ENGELMAN A, Cherepanov P. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. *Nat Rev Microbiol*, [S.l.], v. 10, n. 4, p. 279-90, 16 mar. 2012. ISSN 1740- 1534.

ESPINOZA JL, Minami M. Sensing Bacterial-Induced DNA Damaging Effects via Natural Killer Group 2 Member D Immune Receptor: From Dysbiosis to Autoimmunity and Carcinogenesis. *Front Immunol.* 2018;9:52. Published 2018 Jan 25. doi:10.3389/fimmu.2018.00052

EZECHI et al.: The burden, distribution and risk factors for cervical oncogenic human papilloma virus infection in HIV positive Nigerian women. *Virology Journal* 2014 11:5.

FANALES-BELASIO E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanita.* 2010;46(1):5-14. doi:10.4415/ANN\_10\_01\_02

FAUST H, Toft L, Sehr P, et al. Human Papillomavirus neutralizing and cross-reactive antibodies induced in HIV-positive subjects after vaccination with quadrivalent and bivalent HPV vaccines. *Vaccine.* 2016;34(13):1559-1565. doi:10.1016/j.vaccine.2016.02.019

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (FEBRASGO). Anais do 57º CBGO. Novas Diretrizes para o rastreio de HPV. 2019. <https://www.febrasgo.org.br/pt/noticias/item/532-febrasgo-entrega-proposta-de-rastreamento-para-o-cancer-do-colo-uterino-ao-ministerio-da-saude>

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (FEBRASGO). Doenças do Trato Genital Inferior - Coleção Febrasgo. Rio de Janeiro: Elsevier. 2016.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (FEBRASGO). Manual de Orientação – Trato Genital Inferior. 1ª Reunião de Consenso da FEBRASGO sobre Prevenção do Câncer do Colo Uterino. São Paulo / SP 21 de agosto de 2010

FEDRIZZI EM, Laureano JK, Schlup C, Campos MO, Menezes ME. Infecção pelo papilomavírus Humano (Hpv) em mulheres HIV positivo de Florianópolis, SC. DST - J bras Doenças Sex Transm; 23(4): 205-209, 2011. Acesso em: 12 de ago de 2013.

FERRAZ LC, Santos ABR, Discacciati MG. Cell cycle, HPV and cervical intraepithelial neoplasia evolution: biomarkers selection. J Health Sci Inst. 2012;30(2):107-11

FORMAN D, De Martel C, Lacey C. Global burden of human papillomavirus and related diseases. Vaccine 2012; 30:F12–23.

FRAZER IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. Nat Rev Immunol. 2004;4(1):46-54. doi:10.1038/nri1260

FUSCO FM, Vichi F, Bisanzi S, Sani C, Degli Esposti A, Blè C, Rossi R, Pompeo G, Carozzi F, Blanc P. HPV infection and pre-neoplastic cervical lesions among 321 HIV+ women in Florence, Italy, 2006-2016: prevalence and associated factors. New Microbiol. 2018 Oct;41(4):268–73. Epub 2018 Sep 25. PMID: 30252922.

GANGULY N, Parihar SP. Human papillomavirus E6 e E7 onco- proteins as risk factors for tumorigenesis. J Biosci. 2009; 34:113-23

GARLAND S. A significant measure of HPV vaccine effectiveness in a high-risk population in Korea prior to a National Immunization Program. *J Gynecol Oncol*. 2020;31(1):e32. doi:10.3802/jgo.2020.31.e32

GILLISON, Maura L. *et al*. Eurogin Roadmap: comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. *International journal of cancer*, v. 134, n. 3, p. 497-507, 2014.

GIRALDO, P. C.; SILVA, M. J. P. M. A.; FEDRIZZI, E. N.; GONÇALVES, A. K. S.; AMARAL, R. L. G.; JUNIOR, J. E.; *et al*. Prevenção da infecção por HPV e lesões associadas com uso de vacinas. *J bras Doenças Sex Transm*; 20(2): 132-140, 2008. Acesso em: 21 de ago de 2013.

GRAHAM SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clinical Science* (2017) 131 2201–2221 <https://doi.org/10.1042/CS20160786>

GUIMARÃES, Mirian Viviane Maciel Barros *et al.* Resposta imune ao HPV e as neoplasias intra-epiteliais cervicais em mulheres infectadas e não infectadas pelo HIV: perfil de citocinas. **Femina**, v. 39, n. 5, 2011.

GUINDALINI C, Tufik S. Uso de *microarrays* na busca de perfis de expressão gênica – aplicação no estudo de fenótipos complexos. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2007;29(4):370-4. [Acessado em 03 ago 2011]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-44462007000400014](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-44462007000400014)

GUSTAFSSON L, Pontén J, Zack M, Adami HO. International incidence rates of invasive cervical cancer after introduction of cytological screening. *Cancer Causes Control* 1997; 8(5):755-63.

HAGENSEE, M. E., YAEGASHI, N.; GALLOWAY, D.A. Self-assembly of human papillomavirus type 1 capsids by expression of the L1 protein alone or by coexpression of the L1 and L2 capsid proteins. *J Virol*; 67(1):315-322, 1993. Acesso em: 16 de ago de 2013.

HARPER D, Gall S, Naud P, et al. Sustained immunogenicity and high efficacy against HPV-16/18 related cervical neoplasia: long-term follow up through 6.4 years in women vaccinated with Cervarix™ (GSK's HPV 16/18 AS04 candidate vaccine). 36th annual meeting of the Society of Gynecologic Oncologists; Tampa, FL, USA; March 9–12, 2008.

HARPER DM, DeMars LR. HPV vaccines - A review of the first decade [published correction appears in *Gynecol Oncol*. 2017 Nov;147(2):489]. *Gynecol Oncol*. 2017;146(1):196-204. doi:10.1016/j.ygyno.2017.04.004

HASAN UA, Bates E, Takeshita F, Biliato A, Accardi R, Bouvard V, Mansour M, Vincent I, Gissmann L, Iftner T, *et al.* Tlr9 expression and function is abolished by the cervical cancer-associated human papillomavirus type 16. *J. Immunol*. **2007**, 178, 3186–3197. Acessado em 13 de fevereiro de 2019.

HASAN UA, Zannetti C, Parroche P, et al. The human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein induces a transcriptional repressor complex on the toll-like receptor 9 promoter. *J. Exp. Med*. **2013**, 210, 1369–1387. [CrossRef] [PubMed]

HUGHES J, Cates JR, Liddon N, Smith JS, Gottlieb SL, Brewer NT. Disparities in how parents are learning about the human papillomavirus vaccine. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2009; 18:363–72. Retrieved from <http://cebp.aacrjournals.org.ezproxy.library.dal.ca/content/18/2/363.full.pdf+html>

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES – ICTV. Chapter Version: ICTV Ninth Report; 2009 Taxonomy Release. Family: *Retroviridae*. Available in [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses-2011/w/rt\\_viruses/161/retroviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/reverse-transcribing-dna-and-rna-viruses-2011/w/rt_viruses/161/retroviridae)

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA – IBGE. Censo Demográfico. População estimada de 2020, Campos dos Goytacazes. Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rj/campos-dos-goytacazes/panorama> Acesso em 01 de outubro de 2020

IRUNGU E, Mugo N, Ngure K, et al., Immune response to hepatitis B virus vaccination among HIV-1 infected and uninfected adults in Kenya, *J. Infect. Dis.* 207 (2013) 402–410.

LACEY CJ. HPV vaccination in HIV infection. *Papillomavirus Res.* 2019;8:100174. doi:10.1016/j.pvr.2019.100174

LEI J, Ploner A, Elfström KM, et al. HPV Vaccination and the Risk of Invasive Cervical Cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(14):1340-1348. doi:10.1056/NEJMoa1917338

LEVIN MJ, Moscicki AB, Song LY, et al. Safety and Immunogenicity of a Quadrivalent Human Papillomavirus (Types 6, 11, 16, and 18) Vaccine in HIV-Infected Children 7 to 12 Years Old. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010 October ; 55(2): 197–204. doi:10.1097/QAI.0b013e3181de8d26.

LINHARES AC, Villa LL. Vaccines against rotavirus and human papillomavirus (HPV). *Jornal de Pediatria*, v. 82 n. 3, Supl., 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-75572006000400004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572006000400004&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 29 agosto de 2013.

LUCENA, Adriana Almeida de Souza et al. Resposta imune celular ao papilomavírus humano em mulheres infectadas e não infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana. *Femina*, v. 39, n. 3, 2011.

LUDMERER SW, Benincasa D, Mark GE 3rd, Christensen ND. A neutralizing epitope of human papillomavirus type 11 is principally described by a continuous set of residues which overlap a distinct linear, surface-exposed epitope. *J Virol.* 1997;71(5):3834-3839. doi:10.1128/JVI.71.5.3834-3839.1997

KANESHIMA EN, Bidoia CCG, Gabriel M, Suzuki LE, Consolaro MEL. Aplicação do método PCR-RFLP para tipagem de HPV em infecções cervicais de pacientes atendidas no Lepac, Universidade Estadual de Maringá. *Acta Scientiarum*; Maringá, 2001; 23(3): 731-737.

KARIM R, Meyers C, Backendorf C, Ludigs K, Offringa R, Van Ommen GJ, Melief, CJ, Van der Burg SH, Boer JM. Human papillomavirus deregulates the response of a cellular network comprising of chemotactic and proinflammatory genes. *PLoS ONE* 2011, 6, e17848. [CrossRef]

KELLER MJ, Burk RD, Xie X, Anastos K, Massad LS, Minkoff H, Xue X, D'Souza G, Watts DH, Levine AM, et al. Risk of cervical precancer and cancer among HIV-infected women with normal cervical cytology and no evidence of oncogenic HPV infection. *JAMA* 2012, 308, 362–369. [CrossRef]

- KELLY HA, Ngou J, Chikandiwa A, et al. Associations of Human Papillomavirus (HPV) genotypes with high-grade cervical neoplasia (CIN2+) in a cohort of women living with HIV in Burkina Faso and South Africa. *PLoS One*. 2017;12(3):e0174117. Published 2017 Mar 23. doi:10.1371/journal.pone.0174117
- KJAER SK, Chackerian B, Van Den Brule AJ, Svare EI, Paull G, Walbomers JM, et al. High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*; 10: 101-106, 2001. Acesso em: 19 de ago de 2013.
- KLAES R, Friedrich T, Spitkovsky D, Ridder R, Rudy W, Petry U et al. Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer*. 2001; 92:276-84.
- KNEIPP Dias MB, Tomazelli JG, De Assis M. Cervix Cancer Screening in Brazil: Analysis of Siscolo Data from 2002 to 2006. *Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 19(3):293-306, jul-set 2010. Disponível em [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_serial&pid=2237-9622&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_serial&pid=2237-9622&lng=en&nrm=iso). Accessed in 11, October, 2019*
- KURY CMH, Santos KCDS, Carestiato FN, et al. Human papillomavirus prevalence, genomic diversity and related risk factors in HIV-positive women from a countryside city in the state of Rio de Janeiro [published online ahead of print, 2020 Sep 22]. *Hum Vaccin Immunother*. 2020;1-7. doi:10.1080/21645515.2020.1799666
- LETO MGP, Santos Jr GF, Porro AM, Tomimori J. Infecção pelo Papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. *An Bras Dermatol*. 2011;86(2):306-17.
- LIMA MT, Lessa PRA, Freitas LV, Teles LMR, Aquino OS, Damasceno AKC, et al. Análise da capacidade diagnóstica dos exames preventivos do câncer de colo uterino. *Acta Paul Enferm*. 25(5):673-8,2012.
- LIU E, McCree R, Mitsi E, Fawzi WW, et al. Prevalence and risk factors of cervical squamous intraepithelial lesions among HIV-infected women in Dar es Salaam, Tanzania. *Int J STD AIDS*. 2016 Mar;27(3):219-25. doi: 10.1177/0956462415584466. Epub 2015 May 7.
- MACLEOD IJ, O'donnell B, Moyo S, Lockman S, Shapiro RL, Kayembe M, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes and associated cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women in Botswana. *J Med Virol*; 83(10): 1689-1695, 2011. Acesso em: 21 de ago de 2013.
- MACHALEK D, Poynten M, Jin F, Fairley C, Farnsworth A, Garland S, et al. Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 13: 487–500. 2012

MARTINS TR. Detecção molecular do DNA e RNAm do HPV e sua aplicabilidade na triagem do câncer cervical [tese]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2011.

MARTINS AE, Lucena-Silva N, Garcia RG, et al. Prevalence of human papillomavirus infection, distribution of viral types and risk factors in cervical samples from human immunodeficiency virus-positive women attending three human immunodeficiency virus-acquired immune deficiency syndrome reference centres in northeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014;109(6):738-747. doi:10.1590/0074-0276140070

MASSAD LS, Keller MJ, Xianhog X, et al. Multitype infections with human papillomavirus: Impact of HIV coinfection. *Sex Transm Dis.* 2016 October ; 43(10): 637–641. doi:10.1097/OLQ.0000000000000501.

MATSUMOTO K, Maeda H, Oki A, Takatsuka N, Yasugi T, Furuta, R, et al. Human leukocyte antigen class ii drb1\*1302 allele protects against cervical cancer: At which step of multistage carcinogenesis? *Cancer Sci.* 2015, 106, 1448–1454. [CrossRef] [PubMed]

MCBRIDE AA. Replication and partitioning of papillomavirus genomes. *Adv. Virus Res.* 2008. 72, 155– 205. (doi:10.1016/S0065-3527(08)00404-1)

MCCLYMONT E, Lee M, Raboud J, et al. The Efficacy of the Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine in Girls and Women Living With Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis.* 2019;68(5):788-794. doi:10.1093/cid/ciy575

MCCLYMONT E, Lee M, Raboud J, et al. Prevalent and persistent oncogenic HPV types in a cohort of women living with HIV prior to HPV vaccination. *Int J Gynaecol Obstet.* 2020;150(1):108-115. doi:10.1002/ijgo.13185

MEITES E, Kempe A, Markowitz LE. Use of a 2-Dose Schedule for Human Papillomavirus Vaccination — Updated Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:1405–1408. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6549a5>

MERCK. 2011. GARDASIL®. Human Papillomavirus 4-valent vaccine, recombinant. Internationally known as “Gardasil”. Product Monograph, 1-61, 2011.

MERCK. 2015. GARDASIL®9 (Human Papillomavirus 9-valent Vaccine, Recombinant) Suspension for Intramuscular Injection. [https://www.merck.com/product/usa/pi\\_circulars/g/gardasil\\_9/gardasil\\_9\\_pi.pdf](https://www.merck.com/product/usa/pi_circulars/g/gardasil_9/gardasil_9_pi.pdf)

MILLER, L. E. Laboratory Diagnosis of HIV Infection. In: STEVENS, C. D. (Ed.). *Clinical immunology and serology: a laboratory perspective.* 3. ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 2010, cap. 23.

MIRANDA AE, Silveira MF, Travassos AG, et al. High-risk papillomavirus infection among women living with human Immunodeficiency virus: Brazilian multicentric study. *J Med Virol.* 2017;89:2217–2223. <https://doi.org/10.1002/jmv.24906>

MONSONEGO J, *et al.* Prevalence of high-risk human papilloma virus genotypes and associated risk of cervical precancerous lesions in a large US screening population: data from the ATHENA trial. *Gynecologic oncology*, v. 137, n. 1, p. 47-54, 2015.

MORAES JC, Ribeiro MCS, Simões O, Castro PC, Barata RB. What's the real vaccination coverage? *Epidemiol & Serv. de Saúde* 12 (3) (2003) 147–153.

MORGAN IM, DiNardo LJ, Windle B. Integration of human papillomavirus genomes in head and neck cancer: Is it time to consider a paradigm shift? *Viruses* 2017, 9, 208.

MOSCICKI AB, Karalius B, Tassiopoulos K, *et al.* Human Papillomavirus Antibody Levels and Quadrivalent Vaccine Clinical Effectiveness in Perinatally Human Immunodeficiency Virus-infected and Exposed, Uninfected Youth. *Clin Infect Dis.* 2019;69(7):1183-1191. doi:10.1093/cid/ciy1040

MUJUNI F, Mirambo MM, Rambau P, Klaus K, *et al.* Variability of high risk HPV genotypes among HIV infected women in Mwanza, Tanzania- the need for evaluation of current vaccine effectiveness in developing countries. *Infectious Agents and Cancer* (2016) 11:49 DOI 10.1186/s13027-016-0097-2

MUÑOZ, Nubia *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*, v. 2003, n. 348, p. 518-527, 2003.

MUÑOZ N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*. 2006;24 Suppl 3:S3/1-10.

MURENZI G, Kanyabwisha F, Murangwa A, *et al.* Twelve-Year Trend in the Prevalence of High-Risk Human Papillomavirus Infection Among Rwandan Women Living With HIV. *J Infect Dis.* 2020;222(1):74-81. doi:10.1093/infdis/jiaa065

NADAL SR, Manzione, CR. Vacinas contra o Papilomavirus humano. *Rev bras. coloproctol.* Rio de Janeiro, v. 26, n. 3, 2006. Disponível em [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-98802006000300017&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-98802006000300017&lng=en&nrm=iso) . Acesso em 28 Ago 2013.

NATIONAL CANCER INSTITUTE (NCI). NCI Dictionary of Cancer Terms. Reproductive System (2019). Available in <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/reproductive-system>. Accessed in 1 october 2019

NOWAK RG, Gavitt, PE, Celentano DD. Increases in Human Papillomavirus Detection During Early HIV Infection Among Women in Zimbabwe. *J InfectDis*; 203(8):1182-1191, 2011. Acesso em: 21 de ago d 2013.

OLSSON SE, Villa LL, Costa RL, Petta CA, Andrade RP, Malm C, *et al.* Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. *Vaccine* 2007;25:4931-9.

ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). Mensagem da Diretora da OPAS para o Dia Internacional da Mulher: "O empoderamento das mulheres e meninas para alcançar a saúde sustentável para todos e todas". Disponível em [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5018:mensagem-da-diretora-da-opas-para-o-dia-internacional-da-mulher-o-empoderamento-das-mulheres-e-meninas-para-alcancar-a-saude-sustentavel-para-todos-e-todas&Itemid=820](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5018:mensagem-da-diretora-da-opas-para-o-dia-internacional-da-mulher-o-empoderamento-das-mulheres-e-meninas-para-alcancar-a-saude-sustentavel-para-todos-e-todas&Itemid=820). 8 de março de 2016. Acessado em 8 de agosto de 2019

ORTIZ AP, Tamayo V, Scorsone A, Soto-Salgado M, Febo I, et al. Prevalence and correlates of cervical HPV infection in a clinic-based sample of HIV-positive Hispanic women. *Papillomavirus Research* 4 (2017) 39–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pvr.2017.06.006>

PAAVONEN J, Jenkins D, Bosch FX, et al. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 2161–70.

PALEFSKY JM, Gillison ML, Strickler HD, et al. Chapter 16: HPV vaccines in immunocompromised women and men. *Vaccine* 24S3 (2006) S3/140–S3/146 doi:10.1016/j.vaccine.2006.05.120

PATEL MC, Patkar KK, Basu A, Mohandas KM, Mukhopadhyaya R. Production of immunogenic human papillomavirus-16 major capsid protein derived virus like particles. *Indian J Med Res* 130, September 2009, pp 213-218

PEREIRA CR, Rosa MLG, Vasconcellos GAL, Cavalcanti SMB, Oliveira LHS. Human papillomavirus prevalence and predictors for cervical cancer among high-risk women from Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Gynecol Cancer* 2007; 17:651.

PIKETTY C, Darragh T, da Costa M, Bruneval P, Heard I, et al. (2003) High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. *Ann Intern Med* 138: 453–459.

PIKETTY C, Selinger-Leneman, H Grabar S, Duvivier C, Bonmarchand M, et al. Marked increase in the incidence of invasive anal cancer among HIV- infected patients despite treatment with combination antiretroviral therapy. *AIDS* 22: 1203–1211. 2008

PINHEIRO P. Exame do Papanicolau (ASCUS, LSIL e NIC 1, 2 e 3). MD saúde. Disponível em <https://www.mdsaude.com/ginecologia/exame-papanicolau/>

PIQUÉ XC, José FX. Vacunas frente al vírus del papiloma humano. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*; 26(1): 65-77, 2008. Acesso em: 18 de ago de 2013.

PORTER SS, Stepp WH, Stamos JD, McBride AA. Host cell restriction factors that limit transcription and replication of human papillomavirus. *Virus Res.* 2017, 231, 10–

20. [CrossRef]

PREFEITURA MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE. Secretaria Municipal de Saúde. Prevenção e controle do câncer de colo de útero. Protocolos de atenção à Saúde da Mulher. Belo Horizonte; 2008.

RAFF AB, Woodham AW, Raff LM, Skeate JG, Yan L, Da Silva DM, Schelhaas M, Kast WM. 2013. The evolving field of human papillomavirus receptor research: a review of binding and entry. *J Virol* 87:6062–6072. <http://dx.doi.org/10.1128/JVI.00330-13>.

READ TR, Hocking JS, Chen MY, Donovan B, Bradshaw CS, Fairley CK. The near disappearance of genital warts in young women 4 years after commencing a national human papillomavirus (HPV) vaccination programme. *Sex Transm Infect.* 2011;87(7):544-547. doi:10.1136/sextrans-2011-050234

RIBEIRO, Andrea Alves *et al.* HPV infection and cervical neoplasia: associated risk factors. *Infectious agents and cancer*, v. 10, n. 1, p. 16, 2015.

RICHARDS KH, Wasson CW, Watherston O, Doble R, Blair GE, Wittmann M, Macdonald A. The human papillomavirus (hpv) e7 protein antagonises an imiquimod-induced inflammatory pathway in primary human keratinocytes. *Sci. Rep.* 2015, 5, 12922.

ROBERTS JN, Buck CB, Thompson CD, et al. Genital transmission of HPV in a mouse model is potentiated by nonoxynol-9 and inhibited by carrageenan. *Nat Med* 2007; 13: 857–61.

ROBERTS SA, BRABIN L, STRETCH R, BAXTER D, ELTON P, KITCHENER H, ET AL. Human papillomavirus vaccination and social inequality: results from a prospective cohort study. *Epidemiol Infect* 2011;139:400–5. Retrieved from <http://journals.cambridge.org.ezproxy.library.dal.ca/action/displayAbstract?fromPage=online &aid=8013877>

ROSA MI. et al. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 25, n. 5, 2009. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102311X2009000500002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102311X2009000500002&lng=en&nrm=iso)>

SAMBROOK J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3 Volume Set) 2nd Edition. Spector DL, Goldman RD, Leinwand L, Edited by. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1998. ISBN: 9780879695774.

SASTRE-GARAU X, Cartier I, Jourdan-da Silva, N, de Crémoux, P, Lepage V, Charron D. Regression of low-grade cervical intraepithelial neoplasia in patients with hla-drb1\*13 genotype. *Obstet. Gynecol.* 2004, 104, 751–755.

SAWAYA GF et al. Current approaches to cervical-cancer screening. *N Engl J Med* 2001; 344(21):1603-07.

SCHELLENBACHER C, Roden RBS, Kirnbauer R. Developments in L2-based human papillomavirus (HPV) vaccines. *Virus Res.* 2017;231:166-175. doi:10.1016/j.virusres.2016.11.020

SCHEURER ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology and prevention. *Int J Gynecol Cancer.* 2005 ;15:727-46.

SELLORS JW, Sankaranarayanan R. Colposcopia e tratamento da neoplasia intra-epitelial cervical: Manual para principiantes. Capítulo 4: introdução à colposcopia: indicações, instrumental, princípios e documentação dos achados. International agency for research on cancer: screening group. OPAS, 2020. Disponível em <https://screening.iarc.fr/colpochap.php?chap=4&lang=4>

SENAPATHY JG, Umadevi P, Kannika PS. The present scenario of cervical cancer control and HPV epidemiology in India: an outline. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(5):1107-15.

SERRANO B, Brotons M, Bosch FX, Bruni L. Epidemiology and burden of HPV-related disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018; 47:14-26. doi:10.1016/j.bpobgyn.2017.08.006

SHERER EM, Smith RA, Gallego DF, Carter JJ, Wipf GC, Hoyos M, et al. A single human papillomavirus vaccine dose improves B cell memory in previously infected subjects. *Ebio Med* 2016 ; 10:55-64.

SILVA KC, Garcia Rosa ML, Moyses L, et al. Risk factors associated with human papillomavirus infection in two populations from Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol.* 104(6): 885-891, September 2009

SINGH S, Johnson J, Chellappan S. Small molecule regulators of Rb-E2F pathway as modulators of transcription. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1799(10-12):788-94.

SIRIAUNKGUL S, Suwivat S, Settakon J, Khunamornpong S, Tungsinmunkong K, Boonthum A, et al. HPV genotyping in cervical cancer in Northern Thailand adapting the linear array HPV assay for use on paraffin-embedded tissue. *Elsevier Gynecologic oncology.* 2008.

SNIJDERS PJF, Steenbergen RDM, Heideman DAM, Meijer CJ. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol.* 2006;208(2):152-64.

SOLOMON D, Davey D, Kurman R, et al, The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002; 287:2114–2119.

STAMATAKI P, Papazafiropoulou A, Elefsiniotis L, Giannakopolou M, et al. Prevalence of HPV infection among Greek women attending a gynecological outpatient clinic. *BMC InfectDis.*10:27, 2010. Acesso em: 15 de ago de 2013.

STANLEY M. Prevention strategies against the human papillomavirus: the effectiveness of vaccination. *Gynecol Oncol.* 2007;107(2 Suppl 1):S19-S23. doi:10.1016/j.ygyno.2007.07.068

STANLEY M, Lowy DR, Frazer I. Chapter 12: Prophylactic HPV vaccines: underlying mechanisms. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:S3/106-S3/113. doi:10.1016/j.vaccine.2006.05.110

STANLEY M. HPV-immune response to infection and vaccination. *Infect Agents Cancer* 5:19. 2010 <http://dx.doi.org/10.1186/1750-9378-5-19>

STRICKLER HD, Burk RD, Fazzari M, et al. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 577–86.

SYRJANEN SM, Syrjanen KJ. New concepts on the role of human papillomaviruses in cell cycle regulation. *Ann Med.* 1999; 31:175-87.

TEIXEIRA MF, Sabidó M, Leturiondo AL, Ferreira CO, et al. High risk human papillomavirus prevalence and genotype distribution among women infected with HIV in Manaus, Amazonas. *Virology Journal* (2018) 15:36 <https://doi.org/10.1186/s12985-018-0942-6>

TRAVASSOS AG, Netto E, Xavier-Souza E, No´brega I, Adami K, Timbo´ M, et al. (2017) Predictors of HPV incidence and clearance in a cohort of Brazilian HIV-infected women. *PLoS ONE* 12(10): e0185423. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185423>

TSO FK, Rodrigues CLL, Levi JE, de Castro Ferraz MGM, Speck NMG, Ribalta JCL. HPV infection-associated anogenital cyto-colpo-histological findings and molecular typing in HIV-positive women. *Genet. Mol. Res.* 14 (4): 17630-17640 (2015). DOI <http://dx.doi.org/10.4238/2015.December.21.36>

VAN DOORSLAER K, Chen Z, Bernard H, Chan PKS, De Salle R, Dillner J, Forslund O, Haga T, McBride AA, Villa LL, Burk RD, and ICTV Report Consortium. 2018, *ICTV Virus Taxonomy Profile: Papillomaviridae*, *Journal of General Virology*, 99, 989–990.

VAN DOORSLAER K, McBride AA. Molecular archeological evidence in support of the repeated loss of a papillomavirus gene. *Sci Rep.* 2016; 6:33028, <http://dx.doi.org/10.1038/srep33028>.

VAN LEEUWEN M, Vajdic C, Middleton M, Mcdonald A, Law M, Kaldor J, et al. (2009) Continuing declines in some but not all HIV- associated cancers in Australia after widespread use of antiretroviral therapy. *AIDS* 23: 2183–2190.

VAN OORTMARSSSEN GJ, Habbema JD, van Ballegooijen M. Predicting mortality from cervical cancer after negative smear test results. *BMJ.* 1992;305(6851):449-451. doi:10.1136/bmj.305.6851.449

VESIKARI T, Brodzski N, van Damme P, et al. A Randomized, Double-Blind, Phase III Study of the Immunogenicity and Safety of a 9-Valent Human Papillomavirus L1 Virus-Like Particle Vaccine (V503) Versus Gardasil® in 9-15-Year-Old Girls. *Pediatr Infect Dis J*. 2015;34(9):992-998. doi:10.1097/INF.0000000000000773

VILLA LL, Costa RL, Petta CA et al. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 2005; 6:271–278. DOI: 10.1016/S1470-2045(05)70101-7

VILLA LL, Ault KA, Giuliano AR, et al. Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18. *Vaccine*. 2006;24(27-28):5571-5583. doi:10.1016/j.vaccine.2006.04.068

WAKABAYASHI R, Nakahama Y, Nguyen V, Espinoza JL. The Host-Microbe Interplay in Human Papillomavirus-Induced Carcinogenesis: Review. *Microorganisms* 2019, 7, 199; doi:10.3390/microorganisms7070199

WALBOOMERS JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999;189(1):12-19. doi:10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F

WANG KL. Human papillomavirus and vaccination in cervical cancer. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2007;46(4):352-362. doi:10.1016/S1028-4559(08)60004-2

WANG R, Pan W, Jin L, et al. Human papillomavirus vaccine against cervical cancer: Opportunity and challenge. *Cancer Lett*. 2020; 471:88-102. doi:10.1016/j.canlet.2019.11.039

WATTS JM, Dang KK, Gorelick RJ, et al. Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. *Nature*. 2009;460(7256):711-716. doi:10.1038/nature08237

WENTZENSEN N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res*. 2004;64(11):3878-3884. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-0009

WHITHAM HK, Hawes SE, Chu H, Oakes JM, Lifson AR, et al. A Comparison of the Natural History of HPV Infection and Cervical Abnormalities among HIV-positive and HIV-negative Women in Senegal, Africa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017 June; 26(6): 886–894. doi:10.1158/1055-9965.EPI-16-0700.

WILLIAMSON AL. The Interaction between Human Immunodeficiency Virus and Human Papillomaviruses in Heterosexuals in Africa. *J Clin Med*. 2015;4(4):579-592. Published 2015 Apr 2. doi:10.3390/jcm4040579

WINER RL, Hughes JP, Feng Q, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 2006;354(25):2645-2654. doi:10.1056/NEJMoa053284

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). United Nations Children's Fund. UNAIDS. [internet]. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic: December 2010. Disponível em: [http://www.unaids.org/globalreport/documents/20101123\\_GlobalReport\\_full\\_en.pdf](http://www.unaids.org/globalreport/documents/20101123_GlobalReport_full_en.pdf)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) / ICO HPV Information Centre. Human Papillomavirus and Related Cancers: Summary Report Update, Cuba. L'Hospitalet de Llobregat: WHO/ICO HPV Information Centre; 2010. Retrieved from <http://www.gavialliance.org/library/publications/other-publishers/other/human-papillomavirus-and-related-cancers-in-gavi-countries/> Acesso em 20 de novembro de 2017

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017 92, 241–268. Available in [www.who.int/wer](http://www.who.int/wer) acesso em 10 de junho de 2019.

WRIGHT TC Jr, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ; 2001 ASCCP-sponsored Consensus Conference. 2001 Consensus Guidelines for the Management of Women with Cervical Cytological Abnormalities. *J Low Genit Tract Dis.* 2002;6(2):127-143. doi:10.1097/00128360-200204000-00012

YOUNG LS, Bevan IS, Johnson MA, et al. The polymerase chain reaction: a new epidemiological tool for investigating cervical human papillomavirus infection. *BMJ.* 1989;298(6665):14-18. doi:10.1136/bmj.298.6665.14

YU L, Li L, Medeiros LJ, Young KH. NF- $\kappa$ B signaling pathway and its potential as a target for therapy in lymphoid neoplasms. *Blood Rev.* 2017;31(2):77-92. doi:10.1016/j.blre.2016.10.001

ZARDO GP, *et al.* Vacina como agente de imunização contra o HPV. *Ciênc. saúde coletiva* [online]. 2014, vol.19, n.9, pp.3799-3808. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232014199.01532013>. Acesso em 20 de novembro de 2017

ZAUNER L, Melroe GT, Sigrist JA, et al. TLR9 triggering in Burkitt's lymphoma cell lines suppresses the EBV BZLF1 transcription via histone modification. *Oncogene.* 2010;29(32):4588-4598. doi:10.1038/onc.2010.203

ZUR HAUSEN H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1977;78:1-30. doi:10.1007/978-3-642-66800-5\_1

## 9 APÊNDICES

### 9.1 Apêndice 1 - Protocolo de coleta de dados (Questionário)

Data do preenchimento do questionário: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1. Idade: \_\_\_\_\_

2. Endereço: \_\_\_\_\_

3. Estado civil:

( ) Solteira/o ( ) Casada/o ( ) Separada/o ou Divorciada/o ( ) Viúva/o

4. Renda familiar

( ) até 1 salário mínimo ( ) de 1 à 3 salários mínimos ( ) 3 à 5 salários mínimos

( ) mais de 5 salários mínimos

5. Você é sexualmente ativo?

( ) Sim ( ) Não

6. Se sim, quantos parceiros sexuais já teve? \_\_\_\_\_

7. Com quantos anos você teve sua primeira relação sexual? \_\_\_\_\_

8. Faz uso de preservativo?

( ) Sim ( ) Não

9. Você já foi vacinada contra HPV?

( ) Sim ( ) Não

10. Caso seja vacinada, quantas doses recebeu?

( ) 1 ( ) 2 ( ) 3

11. Teve diagnóstico de HPV positivo anteriormente?

( ) Sim ( ) Não

12. Você utiliza anticoncepcionais?

( ) Sim ( ) Não

13. Possui outras DSTs?

( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual? \_\_\_\_\_

14. Já teve filhos?

( ) Sim ( ) Não

Se sim, quantos? \_\_\_\_\_

Com quantos anos teve o primeiro filho? \_\_\_\_\_

15. Fuma?

( ) Sim ( ) Não

Se sim, quantos cigarros ao dia? \_\_\_\_\_

PARTE 2 - CONSULTA AO PRONTUÁRIO

-Possui Doença definidora de AIDS? QUAL (IS)

-Classificação do CDC?

-CD4 no pareamento

-Carga Viral

-Medicação em Uso? Sim ou não? Quais? \_\_\_\_\_

## 9.2 Apêndice 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

### ANÁLISE DA EFICÁCIA E EFETIVIDADE DA VACINA QUADRIVALENTE CONTRA O HPV PARA AS PACIENTES PORTADORAS DA SINDROME DA IMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA NO MUNICIPIO DE CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

Eu, \_\_\_\_\_, fui convidado a participar de um estudo que vai pesquisar se a vacina contra o HPV pode induzir resposta de proteção em mim. Fui informada que o Papilomavirus Humano (HPV) é grande indutor de lesões de pele e mucosas, sendo responsável por quase 100% dos cânceres de cólo de útero e pelas verrugas genitais (condilomas), de maneira que a simples aquisição deste vírus pode causar também uma serie de outros transtornos, quais sejam as doenças relacionadas ao HPV, nelas incluída o Câncer Anal, o câncer de Laringe, câncer de vulva e vagina, entre outros. A coinfeção HIV / HPV ainda permanece no mundo científico bastante pouco estudada, uma vez que embora se acredite que as lesões de HPV aumentem muito nas pacientes soropositivas, não há nenhum estudo no mundo que prove que a vacina quadrivalente contra o HPV possua proteção para as soropositivas. OBJETIVOS DA PESQUISA:

Investigar se a Vacina quadrivalente contra o HPV é eficaz e efetiva na prevenção do HPV nas mulheres soropositivas para o HIV.

#### PROCEDIMENTOS:

É importante que você leia este documento com atenção. Entenda que a participação do menor é totalmente voluntária e que sua saída deste estudo pode ser feita a qualquer momento, sem nenhum prejuízo para a sua pessoa.

O material a ser colhido trata-se de um simples exame de preventivo (Papanicolau), que será colhido em diversos momentos: no momento da adesão ao estudo (T0); 6 meses depois (T1) e 1 ano depois (T2). O material coletado será utilizado exclusivamente nesta pesquisa. Também será colhida uma amostra de sangue para se avaliar se há produção de anticorpos protetores após a vacinação contra o HPV.

#### RISCOS:

Os possíveis riscos e desconforto são mínimos e relacionados com a coleta de preventivo.

#### BENEFÍCIOS:

Pelo teste que será realizado, a Sra. ficará sabendo se a vacina contra o HPV possui proteção nas mulheres HIV positivas.

Em vista do exposto, sinto-me suficientemente esclarecida e tomo a decisão voluntária de permitir a minha participação no processo de coleta de preventivos seriados e de sangue na cidade de Campos dos Goytacazes-RJ. Os resultados desta pesquisa serão fornecidos a mim de maneira confidencial e poderão ser utilizados para publicação científica.

Ass. \_\_\_\_\_

Data: / /

Pesquisadores responsáveis:

Dra. Sílvia Maria Baeta Cavalcanti e Dr. Charbell Miguel Haddad Kury

Telefone: (21) 26292429 / 22 - 27332820

E-mail: [silviacavalcanti67@gmail.com](mailto:silviacavalcanti67@gmail.com) / [charbellkury@hotmail.com](mailto:charbellkury@hotmail.com)

## 10. ANEXOS

### 10.1 ANEXO 1 – Carta de Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE MEDICINA DE  
CAMPOS/FUNDAÇÃO  
BENEDITO PEREIRA NUNES



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** ANÁLISE DA EFICÁCIA E EFETIVIDADE DA VACINA QUADRIVALENTE CONTRA HPV EM MULHERES PORTADORAS DA SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA (AIDS)

**Pesquisador:** CHARBELL MIGUEL HADDAD KURY

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 26110813.2.0000.5244

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina de Campos/Fundação Benedito Pereira Nunes

**Patrocinador Principal:** Faculdade de Medicina de Campos/Fundação Benedito Pereira Nunes

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 558.338

**Data da Relatoria:** 28/02/2014

##### Apresentação do Projeto:

Projeto apresenta delineamento adequado e capaz de responder os objetivos da pesquisa

##### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo claro e preciso que se insere adequadamente no desenvolvimento do projeto de pesquisa.

##### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não apresenta nenhum risco e o benefício esperado é a diminuição do sofrimento humano pela análise do impacto da vacina contra HPV.

##### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nenhum comentário ou considerações a fazer.

##### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto de pesquisa apresentou todos os requisitos exigidos e de acordo com as resoluções nº 196/96 e novas normatizações da Plataforma Brasil

##### Recomendações:

Nada a acrescentar

**Endereço:** Avenida Dr. Alberto Torres, 217  
**Bairro:** Centro **CEP:** 28.035-580  
**UF:** RJ **Município:** CAMPOS DOS GOYTACAZES  
**Telefone:** (22)2101-2948 **Fax:** (22)2101-2929 **E-mail:** cepfmc@fmc.br

FACULDADE DE MEDICINA DE  
CAMPOS/FUNDAÇÃO  
BENEDITO PEREIRA NUNES



Continuação do Parecer: 558.338

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Como resultado desta análise e com base nas resoluções n° 196/96 e n° 340/2004, o projeto de pesquisa foi aprovado (ou apresenta as seguintes pendências ou foi reprovado) por seus próprios fundamentos.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

As pendências foram solucionadas de forma satisfatória.

CAMPOS DOS GOYTACAZES, 16 de Março de 2014

---

**Assinador por:**  
**ISRAEL NUNES ALECRIN**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Avenida Dr. Alberto Torres, 217  
**Bairro:** Centro **CEP:** 28.035-580  
**UF:** RJ **Município:** CAMPOS DOS GOYTACAZES  
**Telefone:** (22)2101-2948 **Fax:** (22)2101-2929 **E-mail:** cepfmc@fmc.br

## 10.2 ANEXO 2 – ARTIGO 1 – Early impact in reducing cervical abnormalities in Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil, after introduction of the quadrivalent HPV vaccine for Girls 11-15: is it time to think about HPV vaccine in boys?

ARTICLE

ARTIGO

### EARLY IMPACT IN REDUCING CERVICAL ABNORMALITIES IN CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ, BRAZIL, AFTER INTRODUCTION OF THE QUADRIVALENT HPV VACCINE FOR GIRLS 11–15: IS IT TIME TO THINK ABOUT HPV VACCINE IN BOYS?

*IMPACTO PRECOCE NA REDUÇÃO DE ANORMALIDADES CERVICAIS EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, RJ, BRASIL, DEPOIS DA INTRODUÇÃO DE VACINA QUADRIVALENTE DE HPV EM MENINAS DE 11 A 15 ANOS: É HORA DE PENSAR EM VACINAS HPV PARA RAPAZES?*

*Charbell Miguel Haddad Kury<sup>1</sup>, Abdalla Dib Chacur<sup>2</sup>, Cristiano Salles Rodrigues<sup>3</sup>, Hugo Oliveira Freixo<sup>4</sup>, Andrei Vargas Vieira Lopes<sup>4</sup>, Renata Louzada de Moraes<sup>4</sup>, Verônica França Misse<sup>4</sup>, Leonardo Cordeiro Abreu<sup>4</sup>, Melissa Martins Barbosa<sup>4</sup>, Marcus Miguel Haddad Kury<sup>4</sup>, Silvia Baeta Cavalcanti<sup>5</sup>, Oswaldo G. Cruz<sup>6</sup>*

#### ABSTRACT

**Introduction:** Human papillomavirus (HPV) is a huge concern in public and private health. The prevention of this condition is the combination of the use of Papanicolaou smear test, condoms and HPV vaccines. Campos dos Goytacazes, RJ, is the first Brazilian municipality to implement in September 2010 the quadrivalent HPV vaccine (Gardasil®) for girls in the age group of 11–15 years, in a hybrid strategy of vaccination (schools and health centers). In 2014, the vaccination was started also for boys, at the same time that the Ministry of Health introduced it for girls. **Objective:** The aim of the study was to analyze the trends in reduction of low-grade cervical abnormalities five years after the introduction of the quadrivalent HPV vaccine in this municipality (primary outcome). Furthermore, this study evaluated the relative risk (RR) of each of the groups studied, in order to explain the protective effect of the vaccine (secondary outcome). **Methods:** The ecological analysis evaluated the impact of HPV vaccination as a protective factor against low risk of HPV abnormalities. Results of the Pap smear test obtained from the Brazilian Ministry of Health's Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero (SISCOLO) were categorized in low-grade abnormalities (LGA) and high-grade abnormalities (HGA). This preliminary study focused in LGA rates, which were estimated for a 1-month period and then stratified by four age groups (<20; 20–24; 25–30; >30 years) from 2007 to 2014. A quantitative comparison of LGA temporal trends before and after vaccination was done with Quasi-Poisson regression analysis. The protective effect of the vaccine over time was evaluated by calculating the RR in each age group. **Results:** The study showed significant decrease of more than 60% in LGA in women <20 years old, and less, almost 50% for the other groups. HPV vaccine was a protective factor, because the RR result was <0.0001 in all age groups. **Conclusions:** Although the studies show that the pre-HPV neoplastic lesions may be reversible spontaneously, it is undeniable that the vaccine contributes greatly to the high reduction rates, associated with high vaccination coverage. These results are the first in Brazil and in future may address the necessity to discuss the vaccination for boys in the context of the same results obtained in Australia.

**Keywords:** Papillomaviridae; human papillomavirus recombinant vaccine quadrivalent, types 6, 11, 16, 18; Papanicolaou test; immunization coverage; uterine cervical neoplasms.

#### RESUMO

**Introdução:** O papilomavírus humano (HPV) é uma grande preocupação na saúde pública e privada. A prevenção dessa condição é a combinação do uso do exame de Papanicolaou, de preservativos e de vacinas contra o HPV. Campos dos Goytacazes é o primeiro município brasileiro a implementar em setembro de 2010 a vacina quadrivalente contra o HPV (Gardasil®) para meninas de 11 a 15 anos de idade em uma estratégia híbrida de vacinação (escolas e centros de saúde). Em 2014, a vacinação começou para os meninos na mesma época em que o Ministério da Saúde introduziu a vacina para as meninas. **Objetivo:** O objetivo do estudo foi analisar as tendências na redução de anormalidades cervicais de baixo grau cinco anos depois da introdução da vacina quadrivalente de HPV na cidade (resultado primário). Além disso, esta investigação avaliou o risco relativo de cada grupo analisado, de maneira a explicar o efeito protetor da vacina (resultado secundário). **Métodos:** A análise ecológica avaliou o impacto da vacinação contra o HPV como um fator protetor contra o baixo risco de anormalidades pelo HPV. Os resultados do teste de Papanicolaou, obtidos por meio do Sistema de Informação do Câncer do Colo do Útero (Siscoolo) do Ministério da Saúde, foram categorizados em anormalidades de baixo grau (LGA) e anormalidades de alto grau (HGA). Este estudo preliminar foi centrado nas taxas de LGA, as quais foram estimadas para o período de um mês e estratificadas por quatro grupos etários (<20; 20-24; 25-30; >30 anos) de 2007 a 2014. A comparação quantitativa das tendências temporais de LGA antes e depois da vacinação foi feita com análise de regressão de Quase-Poisson. O efeito protetor da vacina ao longo do tempo foi avaliado por cálculo do risco relativo em cada grupo de idade. **Resultados:** O estudo mostrou diminuição significativa de mais de 60% em LGA em mulheres de <20 anos de idade e de pelo menos cerca de 50% para os outros grupos. A vacina contra o HPV foi um fator de proteção, por causa do resultado do risco relativo de <0,0001 em todas as idades. **Conclusões:** Embora os estudos mostrem que as lesões pré-neoplásicas do HPV possam ser reversíveis espontaneamente, é inegável que a vacina contribuiu grandemente para as taxas elevadas de redução, associadas com a alta cobertura vacinal. Esses resultados são os primeiros no Brasil e podem dirigir no futuro a necessidade de discutir a vacinação dos meninos no contexto dos mesmos resultados obtidos na Austrália.

**Palavras-chave:** Papillomaviridae; vacina quadrivalente recombinante contra HPV tipos 6, 11, 16, 18; teste de Papanicolaou; cobertura vacinal; neoplasias de colo de útero.

## 10.3 ANEXO 3 – ARTIGO 2 – Human papillomavirus prevalence, genomic diversity and related risk factors in HIV-positive women from a countryside city in the state of Rio de Janeiro

HUMAN VACCINES & IMMUNOTHERAPEUTICS  
<https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1799666>



SHORT REPORT

OPEN ACCESS Check for updates

### Human papillomavirus prevalence, genomic diversity and related risk factors in HIV-positive women from a countryside city in the state of Rio de Janeiro

Charbell Miguel Haddad Kury <sup>a,b</sup>, Katia Cristina Da Silva Santos <sup>b</sup>, Fernanda Nahoum Carestiatto <sup>b</sup>, Gabriela Rapozo<sup>b</sup>, Cinthia Guimaraes Leandro<sup>a</sup>, Lorena Abreu Fernandes<sup>b</sup>, Paulo Ricardo Telles Silva<sup>b</sup>, Mauro Romero Leal Passos <sup>b</sup>, Oswaldo Gonçalves Cruz <sup>c</sup>, and Silvia Maria Baeta Cavalcanti <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Department of Biochemistry, Faculdade De Medicina De Campos Dos Goytacazes, Rio De Janeiro, Brazil; <sup>b</sup>Department of Microbiology and Parasitology Biomedical Institute (LAA, TIC, FNC, SMBC), Universidade Federal Fluminense, State of Rio De Janeiro, Brazil; <sup>c</sup>Scientific Computing Program (PROCC), Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Rio De Janeiro, Brazil

#### ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) can cause genital warts and HPV-related cancer. People living with human immunodeficiency virus (HIV) are more symptomatic for HPV infections. Campos dos Goytacazes, a municipality of Rio de Janeiro, introduced the quadrivalent HPV vaccine (4vHPV) for HIV-positive women four years before initiation of a public vaccination program. This study analyzed the prevalence of HPV infection in HIV-positive women and the variables associated with infection. Two groups were evaluated: group 1, with Pap smear and HPV-negative polymerase chain reaction (PCR); group 2, individuals with at least one positive result for HPV in PCR or pap smear. PCR was performed in endocervical samples using generic primers, and the LCD-Array Kit was used for genotyping. Univariate and multivariate analyses were performed. Results in 109 women (Group 1 n = 70; group 2 n = 39) showed an overall HPV prevalence of 36%. Results also showed that 88% (n = 23) and 96% (n = 25) of typed viruses (total of typed viruses n = 26) were included in 4vHPV and 9vHPV (nonavalent HPV), respectively. In univariate analysis, age less than 45 years, a high number of sexual partners, and HIV-viral load were risk factors for infection. However, a CD4 indicator was associated with protection. Although HIV infection is generally related to multiple and rare types of HPV, this study showed that a vast majority of the HPV types found are included in 4vHPV. Considering that age less than 45 years is a risk factor, the use of 4vHPV in Brazil should be extended in the public vaccination program to HIV seropositive women up to age 45 years.

#### ARTICLE HISTORY

Received 25 February 2020  
 Revised 3 July 2020  
 Accepted 17 July 2020

#### KEYWORDS

Human Papillomavirus (HPV); human immunodeficiency virus (HIV); quadrivalent vaccine against HPV; molecular typing

#### Introduction

Human papillomavirus (HPV) is a DNA virus that act by infecting the basal epithelial cells of the skin and mucous membranes. Their main outcomes are genital warts and HPV-related cancers.<sup>1–3</sup>

HPV infection can be considered a sexually transmitted disease, with a prevalence of about 11–12% worldwide, ranging from 16% to 24% among females.<sup>4,5</sup> In the Brazilian population, preliminary data from a nationally conducted study on 5,812 women estimated a 54.6% prevalence of HPV infection, which is in agreement with studies conducted in the state of Rio de Janeiro (54.5%). In addition, high-risk HPV types were found in 38.4% of the cases analyzed.<sup>6</sup>

HPV-related tumors account for 5.2% of all cancer cases in the world. The second most prevalent HPV-related cancer worldwide is cervical cancer, which occurs annually in nearly 569,847 cases, with 311,365 related deaths.<sup>6</sup> Data from the National Cancer Institute (NCA) in Brazil reported 16,370 new cases of cervical

carcinoma, with 6,385 deaths.<sup>7</sup> Other HPV-related cancers are anus, vulva, vagina, penis and oropharynx tumors.

Genital HPV infection has a number of consequences in women infected with the human immunodeficiency virus (HIV). We must consider not only the increased risk of HPV infection, but also the persistence of HPV infection, the occurrence of different genotypes and the greater chance of developing invasive malignant lesions.<sup>1,8</sup>

The portfolio of HPV prevention measures includes condoms, Pap smears and sex education. Moreover, two HPV vaccines are available in Brazil: the bivalent Cervarix<sup>®</sup> vaccine (2vHPV) and the quadrivalent Gardasil<sup>®</sup> vaccine (4vHPV). Both vaccines prevent infection by HPV types 16 and 18, which account for 70% of cervical cancer cases and 50% of high-risk precancerous lesions. HPV types 6 and 11 are also prevented by the 4vHPV, and are associated with genital warts and low-risk cervical lesions.<sup>9</sup> The Gardasil 9-valent vaccine (9vHPV) was

**CONTACT** Charbell Miguel Haddad Kury charbellkury@hotmail.com Department of Microbiology and Parasitology Biomedical Institute (LAA, TIC, FNC, SMBC), Universidade Federal Fluminense, State of Rio De Janeiro, Brazil

In this paper, we report data from Campos dos Goytacazes, the first municipality in Brazil to introduce free of charge the quadrivalent HPV vaccine GARDASIL<sup>®</sup> for women HIV positive until 45 years old, 4 years before its introduction by the Brazilian Government. The study was focused in HIV women who were interviewed and had endocervical samples collected for molecular tests. The results show that the women analyzed before vaccination had HPV genotypes included in the vaccine, so the Brazilian Government should consider change the schedule for women beyond 26 years old, because HIV people are immunosuppressed and need protection. This is significant, because it is the unique study in Brazil to analyze trends of HPV infection in HIV people vaccinated beyond 26 years old. This short communication shows the data before vaccination. After 3 years we collected new samples to analyze vaccination effectiveness, which will be disclosed in the future.

The authors have other published papers

The authors declare that there is any conflict of interest.

© 2020 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits non-commercial re-use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, and is not altered, transformed, or built upon in any way.