

Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana

Prevalence of human papillomavirus and its genotypes in the uterine cervix of HIV-infected and non-infected women

Rachel Rezende Campos¹, Victor Hugo de Melo², Dora Mendez del Castilho³, Cynthia Patrícia Ferreira Nogueira⁴

RESUMO

Objetivo: avaliar a prevalência do HPV e seus genótipos, utilizando a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR), em pacientes soropositivas e soronegativas para o HIV. **Métodos:** estudo transversal no qual foram avaliadas 79 mulheres. Dentre elas, 41 eram portadoras do vírus HIV constituindo o grupo estudado, e 38 soronegativas para o HIV, atendidas em uma Unidade Básica de Saúde, e compuseram o grupo controle. Todas as participantes foram submetidas a teste sorológico para detecção do HIV e procuraram de forma espontânea, e pela primeira vez, o atendimento de ginecologia nos serviços mencionados. Estas mulheres responderam ao questionário padrão e foram submetidas a exame ginecológico, com coleta de material da cérvix uterina para citologia oncótica e para detecção do DNA-HPV e seus genótipos. Para análise estatística realizaram-se os testes de Kruskal-Wallis, do χ^2 ou o exato de Fisher. Foi considerada significância estatística $p < 0,05$. **Resultados:** os dois grupos analisados demonstraram semelhanças quanto às características demográficas, antecedentes obstétricos e ginecológicos, exceto DST prévia. Diferenciaram-se quanto ao exame ginecológico atual e à citologia oncótica cervical. Houve diferença significativa em relação à presença do DNA-HPV nos dois grupos ($p < 0,05$). Das pacientes infectadas pelo HIV, 73,2% apresentaram resultado positivo para o DNA-HPV, comparado a 23,8% dentre as soronegativas (OR=8,79; IC 95%: 2,83-28,37). Em relação aos genótipos não se percebeu nítido predomínio de um subtipo específico de HPV em relação aos grupos infectados ou não pelo HIV, assim como foi similar a frequência dos tipos não identificáveis. Constatou-se predominância não significativa ($p > 0,05$) da infecção múltipla por HPV nas soropositivas (50,0%), e a combinação mais frequentemente encontrada foi a dos tipos 6, 11 e 16. A infecção simples por HPV nas soronegativas ocorreu em 66,6% das pacientes. O tipo 16 foi o mais frequentemente encontrado, representando 44,4% do total das infecções simples nos dois grupos. **Conclusões:** as mulheres soropositivas pelo HIV apresentaram maior prevalência do DNA-HPV na cérvix uterina, em relação às soronegativas. Não houve maior predominância de tipos específicos de HPV quando os dois grupos foram comparados. Houve tendência de infecção por múltiplos tipos de HPV nas portadoras de HIV, ao passo que a infecção simples predominou nas soronegativas.

PALAVRAS-CHAVE: Reação em cadeia de polimerase; Papillomavirus humano; HIV; Citologia; Neoplasias do colo uterino

ABSTRACT

Purpose: to estimate the prevalence of HPV and its genotypes in HIV-infected and non-infected women, using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. **Methods:** a sectional study with 79 enrolled women: a study group, with 41 HIV-infected women, and a control group, with 38 non-infected women attended at a Basic Health Unit. All were submitted to a serologic test for the detection of HIV and spontaneously looked for gynecological attendance at those units, for the first time. They answered a standard questionnaire and were submitted to a gynecological examination with a cervical swab and specimen for the detection of DNA-HPV and its genotypes. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis, χ^2 or Fisher's exact tests. Statistical significance was considered at $p < 0.05$. **Results:** the demographic characteristics, obstetric and

Trabalho realizado no Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP) Orestes Diniz - Belo Horizonte (MG) - Brasil

1 Médica Ginecologista-Obstetra da Prefeitura de Betim (MG) da Secretaria Municipal de Saúde (Unidade Básica de Saúde)

2 Professor Doutor da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG - Belo Horizonte (MG) - Brasil

3 Médica do Núcleo de Pesquisa e Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG - Belo Horizonte (MG) - Brasil

4 Bióloga do Núcleo de Pesquisa e Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG - Belo Horizonte (MG) - Brasil

Correspondência: Rachel Rezende Campos

Rua Inspetor Jaime Caldeiras 1030 - Bairro Brasiléia - Betim - MG - 32510-720 - Telefones (31) 3531-4717; 9984-2110 - e-mail: camposrochabh@yahoo.com.br

Recebido em: 10/2/2005

Aceito com modificações em: 5/4/2005

gynecological previous history were similar in both groups except for previous STD, but different as to the gynecological examination and cervical cytological analysis. The presence of DNA-HPV was significantly different ($p < 0.05$) in the two groups. Among HIV-infected patients, 73.2% presented DNA-HPV positive results, as compared with 23.8% of non-infected women (OR=8.79; 95% IC: 2.83 – 28.37). Concerning HPV genotypes, there was no clear predominance of a specific HPV subtype in the HIV-infected or in the HIV non-infected groups, and the frequency of unidentified types was similar in both groups. Non-significant predominance of HPV multiple infections ($p > 0.05$) was detected in the HIV-infected women (50.0%) and the most frequently found combination was of types 6, 11 and 16. HPV simple infection occurred in 66.6% of HIV-non-infected patients. The most frequent type found in both groups was 16, representing 44% of all the simple infections in both groups. **Conclusions:** HIV-infected women showed higher DNA-HPV prevalence in the uterine cervix, as compared to non-infected women. There was no difference in the predominance of specific types of HPV when both groups were compared. There was a tendency to HPV multiple infections in the HIV-infected women, whereas simple infection predominated in the non-infected patients.

KEYWORDS: Polymerase chain reaction; Papillomavirus, human; HIV; Cytology; Cervix neoplasm

Introdução

As infecções pelo HPV e HIV ocorrem em mulheres em todo o mundo. Existe consenso na literatura quanto à associação do DNA-HPV com as neoplasias intra-epiteliais cervicais e câncer cervical¹⁻³. Há relatos que entre 93 e 100% dos carcinomas de células escamosas da cérvice uterina contêm DNA-HPV de alto grau, transmitido durante o ato sexual⁴. Amplo estudo multicêntrico envolvendo aproximadamente 2000 pacientes portadoras de câncer cervical de células escamosas identificaram como de alto risco com potencial carcinogênico os HPVs dos tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82³. Vários estudos apontam a infecção do HIV, por si, como um fator independente para a infecção do HPV anogenital tanto na forma latente quanto na expressa clinicamente nas mulheres, principalmente pela neoplasia intra-epitelial cervical^{1,5-7}.

Alguns estudos têm evidenciado maior prevalência do HPV em pacientes infectados pelo HIV, ao mesmo tempo em que associam estas infecções às lesões precursoras do câncer cervical⁸⁻¹¹. Esses estudos mostram diversas taxas de prevalência, de acordo com a população estudada, método de diagnóstico da lesão cervical e técnica empregada para avaliar a presença do HPV no trato anogenital^{2,12,13}. Demonstrou-se que a prevalência de anormalidades citológicas é mais alta nas mulheres soropositivas do que nas mulheres soronegativas, e ambos, HPV e imunodeficiência associada com HIV, são forte e independentemente fatores de risco para citologia alterada¹⁴. Além disso, os fatores de risco comportamentais e sociais, entre eles a precocidade do intercurso sexual, os múltiplos parceiros sexuais e o uso de cigarros,

são fatores de risco para alteração citológica e neoplasia cervical, assim como para infecção pelo HPV¹⁵. Em 2002 a American Cancer Society considerou que o início precoce da atividade sexual e ter múltiplos parceiros, apesar de serem considerados fatores de risco, não determinam a necessidade de monitoramento com intervalos mais frequentes para detecção do câncer cervical, exceto quando as mulheres são infectadas pelo HIV⁴.

No Brasil, mais especificamente em São Paulo, foi encontrada prevalência de 98% de HPV, detectado pela PCR (reação em cadeia de polimerase), em mulheres infectadas pelo HIV, assim como alta prevalência de infecção com múltiplos genótipos (78,9%)¹³. Estes autores reafirmam seus resultados preliminares e complementam relatando que a infecção com três ou mais tipos de HPV não parece conferir risco adicional para displasia cervical em comparação à infecção simples¹².

Demonstrou-se também que, nas lesões do colo uterino, a prevalência do HPV, utilizando-se a histopatologia como método diagnóstico, foi menor do que quando se utilizou a PCR, mas, em contrapartida, a histopatologia apresentou especificidade de 100%, não apresentando nenhum falso-positivo. A prevalência de HPV neste grupo, detectado pela PCR, foi de 85,7%¹⁶. Outro estudo relatou 80% de prevalência de HPV na cérvice uterina de mulheres HIV-positivas, sendo que os HPV mais prevalentes foram os tipos 6 e 16. O tipo 6 esteve associado a lesões de baixo grau e o 33 a lesões de alto grau¹⁷.

Observa-se que, na literatura, não há consenso quanto ao comportamento e presença dos genótipos do HPV em relação às lesões intraepiteliais cervicais. Fica bem clara a necessidade de acompanhamento diferenciado e mais periódico para as pacientes soropositivas para o HIV^{3,4,6,7}.

O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência da infecção pelo HPV e seus genótipos na cérvix uterina de mulheres soropositivas e soronegativas para o HIV. O conhecimento do grau de extensão da infecção pelo HPV na nossa população deve ser preliminar, e é fundamental para se proporem estratégias de monitoramento e tratamento mais adequadas à realidade dos nossos serviços de saúde e das nossas pacientes.

Métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais. Todas as participantes do estudo, após devidamente orientadas e esclarecidas sobre a pesquisa, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

As participantes do estudo foram mulheres que procuraram, pela primeira vez, o Serviço de Ginecologia do Centro de Treinamento e Referência de Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP) Orestes Diniz, sendo que, na sua maioria, foram encaminhadas pela clínica médica deste serviço. Todas as pacientes já apresentavam teste sorológico confirmando a presença do HIV e constituíram o grupo de estudo. As usuárias da Unidade Básica de Saúde (UBS) da Prefeitura de Betim que participaram do estudo como grupo controle eram mulheres que procuraram pela primeira vez o serviço de ginecologia de forma espontânea, podendo ser consideradas como amostra da população feminina geral. Estes serviços fazem parte do Sistema Único de Saúde da Região Metropolitana de Belo Horizonte.

As pacientes, nos dois grupos, foram selecionadas por ordem de chegada aos referidos serviços de saúde. Foram excluídas as gestantes, as adolescentes menores de 18 anos e as pacientes que não tinham o resultado do teste de triagem para o HIV. Das 43 primeiras mulheres soropositivas atendidas, no transcorrer do estudo, duas apresentaram material sem qualidade para realização da PCR, restando 41 para a análise final. As pacientes atendidas na UBS constituíram o grupo de mulheres não-portadoras de HIV e, para isto, todas tiveram sangue coletado para teste sorológico, com o fim de detecção do HIV. Das 43 pacientes selecionadas, quatro desistiram de realizar o teste para o HIV e houve uma perda de dados, restando 38 pacientes no grupo de mulheres soronegativas para o HIV (controle).

As Tabelas 1 e 2 apresentam as características demográficas, comportamentais, história obstétrica e ginecológica das mulheres de acordo com a sorologia para o HIV.

Tabela 1 - Características demográficas e comportamentais das mulheres, de acordo com a sorologia para o HIV.

Variáveis	Pacientes (n)	Mulheres	Mulheres	p
		soropositivas n (%)	soronegativas n (%)	
Mediana da idade (anos)		34,0	31,5	p > 0,05*
Escolaridade				p > 0,05*
Analfabeta	1	-	1 (2,6)	-
1º grau	54	30 (75,0)	24 (63,2)	
2º grau	23	10 (25,0)	13 (34,2)	
Estado Civil				p < 0,05*
Solteira	28	18 (45,0)	10 (27,0)	
Viúva	12	11 (27,5)	1 (2,8)	
Casada	37	11 (27,5)	26 (70,2)	
Mediana da idade do primeiro intercurso sexual (anos)		18	18	p > 0,05*
Número de parceiros sexuais				p > 0,05**
1 a 3	59	27 (65,8)	32 (84,2)	
4 e +	11	6 (14,6)	5 (13,2)	
Profissionais do sexo	9	8 (19,6)	1 (2,6)	p < 0,05#
Usuária de drogas injetáveis	4	4 (9,7)	-	p > 0,05#
Tabagismo atual	28	16 (39,0)	12 (31,5)	p > 0,05#

*Teste de Kruskal-Wallis.

#Teste de Fisher.

**Teste do χ^2 .

Tabela 2 - Características da história obstétrica e ginecológica das mulheres, de acordo com a sorologia para o HIV.

Variáveis	Pacientes (n)	Mulheres	Mulheres	p
		soropositivas n (%)	soronegativas n (%)	
História obstétrica				
Mediana do número de gestações		2	2	p > 0,05*
Mediana da paridade		2	2	p > 0,05*
Mediana da idade da menarca (anos)	75	13	12,5	p > 0,05*
	78	41	37	p < 0,05**
DST prévia				
Presente		13 (31,7)	2 (5,4)	
Ausente		28 (68,3)	29 (94,6)	
Método contraceptivo				
Condom progresso	20	14 (34,1)	6 (16,0)	p > 0,05**
Condom atual	20	14 (34,1)	6 (16,0)	p > 0,05**
ACO progresso	18	4 (9,7)	14 (36,8)	p < 0,05**
ACO atual	48	23 (56,0)	25 (65,7)	p > 0,05**

HIV = vírus da imunodeficiência humana; DST = doença sexualmente transmissível; ACO = anticoncepcional oral; DIU = dispositivo intra-uterino.

A probabilidade de significância refere-se aos testes de Kruskal-Wallis* e χ^2 **.

Todas as pacientes foram submetidas ao questionário do protocolo de atendimento ginecológico. As pacientes da UBS foram entrevistadas, examinadas e tiveram seu material para o estudo cervico-vaginal coletado sempre pelo mesmo profissional (RRC). A colposcopia e a biópsia cervical das pacientes da UBS não foram realizadas no próprio local devido à falta do material necessário para estes procedimentos. Quando indicado, as pacientes foram encaminhadas para o serviço de referência de propedêutica do colo uterino da rede SUS-Betim (foram encaminhadas três pacientes soronegativas, mas não houve necessidade de biópsia cervical).

As pacientes do CTR-DIP Orestes Diniz foram entrevistadas e examinadas pela equipe de atendimento ginecológico, sendo que todas as coletas de espécimes cervico-vaginal foram realizadas pela autora. Estas pacientes, quando necessário, submeteram-se a exame colposcópico e biópsia guiada para estudo histopatológico neste mesmo serviço.

Para avaliar o número de pacientes necessário ao trabalho proposto (cálculo do tamanho da amostra), utilizou-se o programa Epi-Info versão 6.0. Levou-se em consideração a frequência de HPV de 15% para as soronegativas e de 40% para as soropositivas, de acordo com dados da literatura. Isto resultou numa amostra de 36 pacientes para cada grupo, considerando-se poder de detecção de 80% (erro tipo II ou beta de 0,2) e probabilidade de erro de 5% (erro tipo I ou alfa de 0,05). Considerando-se 10% de perda, estimaram-se 40 pacientes para cada grupo.

Todos os testes sorológicos de triagem foram coletados na UBS-Betim e enviados para serem processados no Laboratório Central do Hospital Regional de Betim, no Setor de Imunodiagnóstico. Os procedimentos sequenciais para detecção de anticorpos anti-HIV seguiram a portaria nº 488, de 17 de junho de 1998, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Todas as pacientes do CTR-DIP também possuíam teste confirmatório sorológico para HIV segundo normas da mesma portaria.

Para coleta do material para detecção de HPV e seus genótipos realizou-se a consulta ginecológica com anamnese e exame físico da paciente. Durante o exame ginecológico foi feita a inspeção genital e, após colocação do espéculo vaginal, a coleta do material para realização da PCR. Com uma espátula de Ayre, recolheu-se o material do colo uterino, que foi colocado em tubo de ensaio contendo 2 mL de soro fisiológico. Este tubo foi enviado ao Núcleo de Pesquisa e Apoio Diagnóstico (NUPAD) da Faculdade de Medicina. No caso das

pacientes do CTR-DIP, o envio de material foi imediato. Em relação às pacientes da UBS, o material foi transportado em recipiente apropriado, resfriado a 4°C, e entregue no laboratório em um prazo máximo de 24 horas. As amostras foram processadas para identificação do HPV e tipagem para os genótipos mais freqüentemente citados na literatura: 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35.

A técnica de detecção do DNA-HPV pela PCR segue os seguintes passos¹⁶: homogeneização do material da amostra; transferência de todas as amostras para tubos Eppendorf e centrifugação por 1 minuto, a 14.000 rpm e extração do DNA. Após esta extração, as amostras foram colocadas em tubos contendo uma mistura para ir ao termociclador. Esta mistura é composta dos quatro desoxirribonucleotídeos (dCTP, dGTP, dATP e dTTP), de DNA polimerase (Taq polimerase), MgCl₂, H₂O estéril, tampão da enzima, iniciadores de controle da reação de PCR e iniciadores para detecção da DNA-HPV (consenso e geral). Realizado o processo da PCR, as bandas de DNA foram visualizadas em gel de agarose 1% (ou acrilamina 4%), coradas com brometo de etídio e examinadas no transiluminador (UV). Detectada a presença do DNA-HPV em qualquer um dos sistemas, procedeu-se a tipagem do HPV mediante a PCR. Neste caso, preparava-se nova mistura, utilizando-se primers específicos para cada tipo de HPV. A seqüência dos *primers* utilizados no NUPAD para tipagem específica do HPV foi: em primeiro lugar o consenso, em seguida o geral e a β -globina. Os *primers* consenso e geral foram utilizados para identificação da presença do HPV e a β -globina avaliou a qualidade da amostra. Como resultado do procedimento havia cinco possibilidades diagnósticas: amostra sem qualidade para diagnóstico molecular; amostra negativa para o HPV; amostra positiva (globina e geral positivas e consenso negativa); amostra positiva (globina e consenso positivas e geral negativa) e amostra positiva (globina, geral e consenso positivas).

Todas as pacientes foram submetidas à coleta de material cervical para citologia oncológica cervical, histopatologia e realização do teste de Schiller. Os resultados da citologia foram expressos utilizando a classificação de Bethesda e/ou a de Papanicolaou. O material das pacientes do CTR-DIP foi enviado para o Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG, ao passo que o das pacientes da UBS foi enviado para o laboratório privado conveniado do SUS-Betim.

As pacientes portadoras do HIV completaram o estudo da cérvix uterina com realização da colposcopia (colposcópico da marca Leisegang, modelo padrão). Para este exame, após o teste de

*primers: significa concentração dos iniciadores

Schiller, o colo foi descorado com bissulfito de sódio e aplicado ácido acético 5%, para melhor evidenciar as lesões. As alterações cervicais foram descritas segundo nomenclatura proposta pelo Comitê da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcópica, 1990. Constatada alteração cervical maior, foi realizada biópsia guiada com pinça de Gaylor. O material foi fixado em formol a 10% e enviado para análise no Laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

Os dados foram armazenados e analisados no programa de computador Epi-Info, versão 6.0. Para a comparação das medianas entre os dois grupos foi empregado o teste de Kruskal-Wallis. Para análise da distribuição de frequência foi empregado o teste do χ^2 ou teste exato de Fisher, quando necessário. Foi considerado o valor de 5% ($p < 0,05$) como limiar de significância estatística.

Resultados

Foram analisadas as informações coletadas de 41 mulheres soropositivas e 38 soronegativas. Os dois grupos se mostraram semelhantes em várias características demográficas e comportamentais, apresentadas na Tabela 1. Dentre as variáveis com diferença significativa entre os grupos destacou-se o estado civil ($p < 0,05$) e a presença significativamente maior de profissionais do sexo no grupo de mulheres soropositivas ($p < 0,05$). Com relação à atividade sexual atual as mulheres soronegativas eram mais ativas (84,2%) do que as soropositivas (56,4%) ($p < 0,05$).

Entre os antecedentes obstétricos e ginecológicos das pacientes, apresentados na Tabela 2, os dois grupos se diferenciaram em relação à ocorrência de doença sexualmente transmissível (DST) prévia, com presença de 31,7% entre as pacientes soropositivas e 5,4% entre as soronegativas ($p < 0,05$).

Em relação às pacientes vivendo com HIV, a forma predominante de contágio foi a sexual, sendo que 97% reconheceram esta via de transmissão. Entre estas mulheres, 75% estavam em uso de alguma medicação antiretroviral. Pela classificação dos Centros de Doenças e Controle da Prevenção (CDC), de 1992, constatou-se que 56,7% apresentaram infecção pelo HIV e não haviam desenvolvido AIDS, ao passo que 43% já se apresentavam no estágio clínico avançado da doença (quatro pacientes no momento da consulta não tinham valores de CD₄ que permitissem classificá-las)¹⁸.

Na Tabela 3 apresenta-se a distribuição de frequência dos resultados do exame cervical. Encontrou-se teste de Schiller significativamente alterado nas mulheres soropositivas ($p < 0,05$). A citologia oncótica também se apresentou alterada com maior frequência nas mulheres soropositivas ($p < 0,05$). Entre as pacientes soropositivas, em 15 (37,5%) a citologia detectou a presença do HPV, e em sete (18,9%) a classificação citológica foi classe III de Papanicolaou. Em contraposição, entre as soronegativas, nenhuma teve HPV identificado na citologia e/ou classe III de Papanicolaou.

Tabela 3 - Distribuição de frequência do teste de Schiller e do resultado da citologia cervical, de acordo com a sorologia para o HIV.

Variáveis	Pacientes (n)	Mulheres		p
		Mulheres soropositivas n (%)	Mulheres soronegativas n (%)	
Teste de Schiller	79	41	38	$p < 0,05^{**}$
Positivo	22	19 (43,6)	03 (7,8)	
Negativo	57	22 (56,4)	35 (92,2)	
Citologia cervical	73	40	33	$p < 0,05^{**}$
Normal/metaplasia escamosa ou alteração inflamatória	58	25 (62,5)	33 (100,0)	
HPV ou NIC I ou NIC II	15	15 (37,5)	-	
Classe de Papanicolaou	70	37	33	$p < 0,05^{\dagger}$
I	09	8 (21,6)	1 (3,0)	
II	54	22 (59,4)	32 (97,0)	
III	7	7 (18,9)	-	

HIV = vírus da imunodeficiência humana; HPV = papilomavírus humano; NIC = neoplasia intra-epitelial cervical.

A probabilidade de significância refere-se aos testes de Fisher[†] e χ^{2**} .

Foram realizadas 19 biópsias guiadas pela colposcopia nas pacientes soropositivas, e os exames histopatológicos apresentaram os seguintes resultados: seis (31,5%) NIC I; cinco (26%) NIC II; um (5,3%) NIC III. Nenhuma paciente apresentou carcinoma localizado (sem invasão) e/ou invasor e, em 13 (68,4%), a histologia confirmou a presença do HPV. Não houve necessidade de biópsia de nenhuma paciente soronegativa.

A Tabela 4 mostra o resultado da positividade do DNA-HPV, detectado pela PCR, que apresentou diferença significativa entre os grupos comparados. Entre as 79 pacientes analisadas, 41 eram infectadas pelo HIV e, nestas, foi detectada a presença do DNA-HPV em 30 (73,2%) e, entre as 38 mulheres soronegativas, apenas em nove (23,7%) se evidenciou a presença do DNA-HPV ($p < 0,05$) [OR = 8,79; IC 95% (2,83-28,37)].

Tabela 4 - Detecção do DNA-HPV pela PCR em relação ao status sorológico para o HIV.

PCR para o DNA-HPV	Pacientes (n)	Mulheres soropositivas	Mulheres soronegativas	OR (IC a 95%)	p
		n (%)	n (%)		
Presente	39	30 (73,2)	9 (23,7)	8,79 (2,83-28,37)	p < 0,05*
Ausente	40	11(26,8)	29 (76,3)		
Total	79	41 (100)	38 (100)		

PCR = reação em cadeia de polimerase; OR = odds ratio; IC = intervalo de confiança.
*teste do χ^2 .

A Tabela 5 apresenta o resultado encontrado para os genótipos do HPV, com ênfase na infecção simples ou múltipla. Na análise de 39 pacientes (30 vivendo com HIV e nove soronegativas) nota-se que a infecção múltipla predominou nas soropositivas (50%), sendo que a combinação mais freqüentemente encontrada foi 6/11/16 (13%). Nas soronegativas predominou a infecção simples (66,6%). Constatou-se que o tipo 11 foi o mais freqüente nas mulheres soropositivas (13,3%), observando-se nestas pacientes a presença de todos os tipos de genótipos pesquisados. O tipo 16 foi o mais encontrado nas pacientes soronegativas, sendo que entre estas pacientes não foram detectados os tipos 6, 11, 33 e 35.

Tabela 5 - Genótipos do HPV em relação ao status sorológico para o HIV.

Genótipos	Mulheres soropositivas	Mulheres soronegativas	Total
	n (%)	n (%)	
Não identificável	3 (10,0)	1 (11,1)	4
6	1 (3,3)	-	7
11	4 (13,3)	-	15
16	3 (10,0)	4 (44,4)	23
18	1 (3,3)	-	19
33	1 (3,3)	1 (11,1)	35
35	2 (6,6)	-	37
Total de infecções simples	15 (50,0)	6 (66,6)	21(106,6)#
Total de infecções múltiplas	15 (50)	3 (33,3)	18(53,3)#
Total de pacientes	30 (100)	9 (100)	39

*Comparando a presença das infecções simples e múltiplas entre os grupos, pelo teste de Fischer[†], não foi encontrada diferença significativa (p=0,46).

Discussão

Este estudo foi realizado para detectar a prevalência da infecção pelo HPV em mulheres soropositivas e soronegativas para o HIV, assim como

determinar os tipos específicos do HPV nestes dois grupos.

Dentre as variáveis demográficas analisadas encontramos resultado similar na literatura em relação à idade das pacientes, onde se afirma que, no Brasil, a infecção pelo HPV é mais comum em mulheres jovens, sexualmente ativas¹⁹. Com relação à AIDS no Brasil, o grupo etário feminino mais afetado está na faixa entre 20 a 49 anos (86,7%). Percebe-se que as infecções pelo HPV e HIV são mais freqüentes entre as mulheres no auge de sua capacidade produtiva e reprodutiva. As lesões intraepiteliais cervicais têm sido consideradas as doenças ginecológicas mais comuns nas mulheres em idade reprodutiva, nos Estados Unidos¹⁴.

Em referência à idade do primeiro intercuro sexual, constatamos mediana de 18 anos, não havendo diferença entre os grupos. Estes dados são confirmados por outro estudo¹⁵. Esta variável tem sido considerada por alguns autores como fator de risco para a infecção pelo HPV/HIV e presença de NIC, porém, em mulheres com menos de 16 anos.

Não foi possível análise do uso de drogas injetáveis devido ao pequeno número de pacientes. Ressaltamos que todas (n=4) as usuárias de drogas injetáveis eram portadoras do HIV.

Quando foram comparados os métodos contraceptivos de forma geral (pregresso e atual), não foram encontradas diferenças entre os dois grupos. Porém, quando se avaliou especificamente o uso de anticoncepcionais orais, pudemos verificar que uma percentagem grande de mulheres soropositivas para HIV passou a utilizar este método (10 para 56%) após o diagnóstico da infecção. Provavelmente, isto ocorreu porque elas sentiram a necessidade de utilizar método contraceptivo mais seguro, para evitar gravidez com risco de transmissão vertical do vírus. Surpreendentemente, não houve aumento do uso de preservativo pelos parceiros destas pacientes.

Foi relatada no Brasil, em 2002, expressiva diminuição da proporção média das relações sexuais desprotegidas (sem o uso de condom masculino ou feminino), de 14 para 6% em um estudo de seguimento de 90 dias. Este estudo concluiu que a oferta do condon feminino deve ser acompanhada de aconselhamento apropriado para êxito do método²¹. Já comentava que não se podem resumir as recomendações às mulheres em meras exigências do uso de camisinhas, devendo-se "... garantir a qualidade da assistência, recuperar a dimensão educativa das ações em saúde e redirecionar o olhar sobre o corpo feminino, de modo a poder ver mais do que o aparelho feminino... Temos o dever de aprender a respeitar e ouvir essas mulheres, aju-

dando-as a construir estratégias específicas de autoproteção contra o HIV²¹.

Dentre as características que diferenciam os grupos, encontramos: história de ser profissional do sexo, estar ou não com vida sexual ativa e história pregressa de DST. Desde 1997 existe relato de que o risco de infecção pelo HIV aumenta de três a dezoito vezes na presença de DST^{11,20}.

Ao avaliarmos o estado civil, detalhamos as categorias solteiras (ou separadas), viúvas, casadas (ou amasiadas), e verificamos que a grande maioria das soronegativas encontrava-se casada ou amasiada. As soropositivas apresentaram alta frequência de viuvez e grande parte destas pacientes descobriu sua doença quando do falecimento de seus companheiros, devido à AIDS.

Na avaliação do perfil das pacientes soropositivas constatamos que quase todas foram infectadas por HIV por meio da relação sexual. Isto reflete o que vem acontecendo, de forma geral, no Brasil e no mundo. Existe, neste grupo, maior frequência de profissionais do sexo (oito mulheres infectadas pelo HIV contra uma não-portadora), o que ajudaria a explicar também a maior exposição para adquirir doenças sexualmente transmissíveis, inclusive o HPV.

Encontramos diferença significativa em relação aos resultados dos exames de citologia oncológica cervical. Destacamos que estudos realizados em São Paulo também demonstraram maior frequência de anormalidades nas citologias oncológicas cervicais das mulheres soropositivas em relação às soronegativas para o HIV^{24,25}.

O objetivo principal deste estudo foi avaliar a prevalência do HPV na cérvice uterina das mulheres soropositivas, detectado pela PCR, utilizando como grupo controle as mulheres soronegativas. Constatamos frequência de 73,2% de HPV nas pacientes soropositivas, em contraposição a 23,6% nas soronegativas, o que representou risco 8,7 maior de presença do HPV nas mulheres soropositivas. Nossos dados encontram consonância com os apresentados na literatura. Desde 1992 há relatos de estudos que utilizaram a técnica de PCR para detecção do DNA-HPV, demonstrando prevalência entre 40 a 98% nas mulheres soropositivas e 13 a 56% nas soronegativas^{5,7,8,10,15,26}.

No Brasil foi observado que a prevalência 78 a 98% do HPV em mulheres soropositivas, empregando-se PCR, e de 64,5% quando se utilizou a técnica da captura híbrida^{10,12,13,25}. Alguns desses estudos apresentaram a prevalência do HPV em relação ao tipo de lesão cervical, levando também em consideração o estado de imunossupressão e a quantificação da carga viral do HPV no colo das pacientes infectadas pelo HIV¹⁵⁻¹⁷.

Escolhemos a técnica molecular da PCR por ser ela, atualmente, padrão ouro para a detecção do DNA-HPV¹. Percebemos que este também foi o método com o qual se obteve maior frequência de diagnóstico do HPV em nossas pacientes. A prevalência do HPV com base na citologia, histopatologia guiada pela colposcopia e PCR foi de 17,5, 68 e 73%, respectivamente.

Verifica-se que existe interesse em associar os subtipos do HPV encontrados e se a infecção é simples ou múltipla (presença de três ou mais tipos de HPV) com o grau de lesão cervical e/ou estado de imunossupressão^{3,12,14,15}. Já se observou que a prevalência da múltipla infecção pelo HPV varia de acordo com o método de detecção e utiliza-se nestes estudos PCR com *primers* diferentes (SPF₁₀, PCR com mistura de iniciadores: PGMY09/PGMY11 e PCO4/GH20) e também a hibridização reversa. Demonstra-se que a infecção múltipla é comumente detectada quando se emprega PCR, sendo este método de alta especificidade e sensibilidade^{3,12,13}.

No Brasil foram observadas frequências de 7,5% de infecção por um ou mais tipos de HPV de baixo grau e 33% dos casos de infecção com um ou mais tipos HPV de alto grau. Estes autores, em outro estudo, relatam presença de múltiplos genótipos em 78,9% das mulheres soropositivas, não tendo, no entanto, encontrado associação significativa entre os genótipos do HPV e a classificação citológica, carga viral do HIV e contagem de células T CD4⁺¹³. Em publicação posterior, se observou maior prevalência da infecção múltipla do HPV em mulheres soropositivas, quando comparadas às soronegativas. Neste mesmo estudo, 45% das mulheres soropositivas apresentaram infecção múltipla, mas esta não conferiu risco adicional para displasia em comparação às infecções simples ou duplas para o HPV, e nem se relacionou com a gravidade da imunossupressão¹².

A infecção múltipla pelo HPV foi mais frequente entre as mulheres que se apresentavam com lesões de baixo grau e, à medida que aumenta a gravidade da lesão cervical, a infecção simples se torna a mais frequente²⁷. Na revisão realizada por autores canadenses verificou-se que as portadoras do HIV, comparadas com as soronegativas, eram com maior frequência infectadas pelo HPV de alto risco oncogênico, incluindo os tipos 16 e 18, além de as infecções se apresentarem com múltiplos tipos de HPV⁷.

Em alguns estudos nos quais se avaliaram a infecção múltipla do HPV em soropositivas tenta-se explicar esta associação pela possível maior exposição destas mulheres a relações sexuais desprotegidas e à falha do sistema imunológico,

de forma a permitir a replicação de mais tipos de HPV (perda da imunidade tipo-específica para HPV). Entretanto, estas são hipóteses que ainda não foram comprovadas¹². É interessante, porém, perceber que amplo trabalho multicêntrico, epidemiológico, em mulheres portadoras de câncer cervical, identificando o DNA-HPV pela PCR, constatou que a infecção múltipla de tipos de HPV não estava associada ao aumento do risco para câncer cervical em comparação com infecção simples do HPV³.

Sintetizando os estudos citados, percebe-se que as mulheres portadoras do HIV têm maior prevalência na cérvix uterina do DNA-HPV, de HPV com alto risco oncogênico e infecção múltipla pelo HPV, sendo que estas variáveis não estão, necessariamente, associadas com a gravidade das lesões do colo uterino. Comparando os nossos achados com os resultados de outros autores, verificamos que a infecção múltipla foi mais freqüente nas pacientes soropositivas, apesar de não ter sido encontrada diferença significativa. A combinação dos tipos 6, 11 e 16 e o tipo 11, isoladamente, foram mais freqüentes nas pacientes soropositivas para HIV. Assim, em relação aos genótipos do HPV, nesta casuística, não observamos tendência nítida da predominância de um tipo de HPV em relação aos grupos soropositivos e soronegativos, assim como foi similar a freqüência dos tipos não identificáveis. Houve, sim, maior freqüência de combinações dos diversos genótipos nas mulheres soropositivas.

Concluimos que é mais freqüente a presença do HPV nas mulheres soropositivas que nas soronegativas e que existe uma tendência à maior freqüência de genótipos múltiplos nas soropositivas. Sugerimos a necessidade de se avaliar rotineiramente a presença do HPV e seus genótipos na cérvix uterina de mulheres portadoras do HIV.

Referências

1. Wieland U, Pfister H. Papilomavírus em patologia humana: epidemiologia, patogênese e papel oncogênico. In: Gross G, Barrasso R, editores. Infecções por Papilomavírus Humano: Atlas clínico de HPV. 1ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas;1999. p.1-18.
2. Sanjosé S, Palefsky J. Cervical and anal HPV infections in HIV-positive women and men. *Virus Research*. 2002; 89:201-11.
3. Muñoz N, Bosch FX, Sanjosé S, Henero R, Catellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003; 348:518-27.
4. Saslow D, Carolyn D, Runowicz MD, Solomon MD, Moscicki AB, Smith RA, et al. American cancer society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *Cancer J Clin*. 2002; 52:342-62.
5. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML, Da Costa M, Greenblatt RM. Prevalence and risk factors for anal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and high-risk HIV positive. *J Infect Dis*. 2001; 183(3):383-91.
6. Branca M, Garbulia AR, Cappiello T, Benedetto A, Leoncini L, Migliore G. Factors predicting the persistence of genital human papillomavirus infections and Pap smear abnormality in HIV-positive and negative women during prospective follow-up. *Intl J STD AIDS*. 2003; 14(6):117-25.
7. Ferenczy A, Coutlée F, Franco E, Hankins C. Human papillomavirus and HIV coinfection and the risk of neoplasias of the lower genital tract: a review of recent developments. *Can Med Am Journal*. 2003; 169(5):431-4.
8. Williams AB, Darragh TM, Vranizan K, Ochia C, Moss AR, Palefsky JM: Anal and cervical human papilloma virus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus infected women. *Obstet Gynecol*. 1994; 83:205-11.
9. Rezza G, Giuliani M, Serraino D, Branca M, Benedetto A, Garbuglia A, Ippolito G, Franceschi S. Risk factors for cervical presence of human papillomavirus DNA among women at risk for HIV infection. *Epidemiol Oncol*. 1998; 121:173-7
10. Sun XW, Ellerbrock RV, Lungu O, Chiasson MA, Bush TJ, Wright TC Jr. Human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive women. *Obstet Gynecol*. 1995; 85:680-6.
11. Cappiello G. HIV infection increases the risk of squamous intraepithelial lesions in women with HPV infection: an analysis of HPV genotypes. *Int J Cancer*. 1997; 72:982-6.
12. Levi JE, Fernandes S, Tateno AF, Motta E, Lima LP, Pannuti CS, et al. Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV infected women. *Gynecol Oncol*. 2004; 92:225-31.
13. Levi JE, Kleter B, Quint WGV, Fink CL, Canto CL, Matsubara R, et al. High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. *J Clin Microbiol*. 2002; 3341-5.
14. Wright TC, Cox JT, Massad LS, Carlson J, Twinggs LB, Wilkinson EJ. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical

- intraepitelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189:295-304.
15. Maiman M, Fruchter R, Sedlis A, Feldeman J, Chen P, Burk RD et al. Prevalence, risk factors, and accuracy of cytologic screening for cervical intraepithelial neoplasia in women with the human immunodeficiency Virus. *Gynecol Oncol.* 1998; 68(3):233-9.
 16. Souza NST, Melo VH, Castro LPF. Diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões do colo do útero em mulheres HIV positivas: acuidade da histopatologia. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2001; 23(6): 355-61.
 17. Zimmermann JB, Melo VH. Prevalência dos genótipos do papillomavirus humano na cérvix uterina de pacientes infectadas com o vírus da imunodeficiência humana e suas associação com o grau das lesões do colo uterino. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2002; 24(6): 419.
 18. CDC. Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR.* 1992; 41(RR-17).
 19. Pereyra EAG, Guerra DMM, Villa II. Papilomavírus humanas. In: Veronesi R, Focaccia R, editores. *Tratado de infectologia.* São Paulo: Atheneu; 1996. p.457-63.
 20. Ferrera A. Association of infections with human immunodeficiency virus and human papillomavirus in Honduras. *Amer J Trop Med Hyg.* 1997;57(2): 138-41.
 21. Magalhães J. Avaliação do uso do condon feminino em mulheres vivendo com o HIV. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2002; 24(2):137-38.
 24. Gonçalves MA, Burattini MN, Donadi EA, Massad E. Anogenital warts contributing to the risk of squamous intraepithelial lesions among HIV-positive women of São Paulo, Brazil. *Int J STD AIDS.* 2003; 14(5):309-13.
 25. Levi JE, Fink MC, Canto CL, Carretiero N, Matsubara R, Linhares I, et al. Human papillomavirus prevalence, viral load and cervical intraepithelial neoplasia in HIV-infected women. *Braz J Infect Dis.* 2002; 6(3):129-35.
 26. Ter Meulen J, Eberhardt HC, Luande J, Mgaya HN, Chang-Claude J, Mtiro H, et al: Human papillomavirus (HPV) infection, HIV infection and cervical cancer in Tanzania, East Africa. *Int J Cancer.* 1992; 51:515-21.
 27. Chang DY, Chen RJ, Lee SC, Huang SC. Prevalence of single and multiple infection with human papillomaviruses in various grades of cervical neoplasia. *J Med Microbiol.* 1997; 46(1): 54-60.