

Frecuencia y genotipado del Papilomavirus humano en mujeres de comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Estado de Pará, Brasil

Frequência e genotipagem do Papilomavírus humano em mulheres de comunidades ribeirinhas do Município de Abaetetuba, Pará, Brasil

Frequency and genotyping of human Papillomavirus in women from riparian communities in the Municipality of Abaetetuba, Pará State, Brazil

Daniel Valim Duarte

Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

João Guimarães Pinheiro

Faculdade de Estatística, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Elza Baía de Brito

Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Jaqueline Helen Godinho Costa

Faculdade de Ciências Biológicas e Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Aline Silva de Sousa Canto

Curso de Especialização em Análises Clínicas, Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Maisa Silva de Sousa

Laboratório de Biologia Molecular e Celular, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

Edna Aoba Yassui Ishikawa

Laboratório de Biologia Molecular e Celular, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

RESUMEN

El Papilomavirus humano (HPV) es reconocido como el principal agente causador de cáncer de cuello de útero. La identificación de HPV de alto riesgo puede auxiliar en la prevención de lesiones del cuello uterino. El objetivo es el de identificar, entre mujeres de comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Estado de Pará, Brasil, la frecuencia de infección por el HPV, comparando con el nivel de lesión uterina presentada, la flora vaginal y el tipo de HPV encontrado. En el período de setiembre a diciembre de 2008 se colectaron muestras del cérvix uterino de mujeres ribereñas por demanda espontánea, para la realización de examen citopatológico. En esta muestra, se realizó la investigación y el tipado molecular de HPV a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguida de digestión enzimática. De las 79 muestras analizadas, nueve (11,39%) fueron positivas para HPV, y fueron identificados los tipos 6, 54a, 58, 72, 81, 102, además de infecciones múltiples. Todas las muestras positivas para HPV presentaron frotado inflamatorio y/o con alteraciones celulares en el examen citológico. El HPV fue identificado en 20% (5/25) de los frotados inflamatorios de mujeres con 30 años de edad o menos ($p = 0,0435$). La infección por HPV fue identificada en 33,4% (5/15) de las mujeres examinadas en la comunidad de Tucumanduba, destacándose de la frecuencia de 6,2% (4/64), encontrada en las otras comunidades juntas ($p = 0,0103$). La presencia de HPV de alto riesgo oncogénico destaca la importancia de acciones específicas, dirigidas a la prevención en la transmisión de ese virus y el rastreo de las enfermedades relacionadas, en las comunidades ribereñas del Municipio estudiado.

Palabras clave: Infecciones por Papillomavirus; Reacción en Cadena de la Polimerasa; Polimorfismo de Longitud del Fragmento de Restricción.

Correspondencia / Correspondência / Correspondence:

Maisa Silva de Sousa

Laboratório de Biologia Molecular e Celular, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará

Av Generalíssimo Deodoro, Bairro: Umarizal

CEP: 66055-240 Belém-Pará-Brasil

Tel./Fax: (91) 3241-4681

E-mail: maisasousa@ufpa.br

Traducido por / Traduzido por / Translated by:

Lota Moncada

INTRODUCCIÓN

El Papilomavirus humano (HPV) es un virus de ADN, de la familia *Papovaviridae*^{1,2}, capaz de inducir lesiones de piel o mucosa, las que muestran un crecimiento limitado y frecuentemente retroceden espontáneamente³. Estudios epidemiológicos establecieron que ciertos tipos de HPV, entre los 118 tipos existentes, son la principal causa del cáncer de cuello de útero (CCU)^{4,5,6,7,8,9}. La relación entre el HPV y el CCU es cerca de diez a 20 veces mayor que la relación del tabaquismo y el cáncer de pulmón¹⁰. Los tipos 16 y 18, entre los tipos de HPV que infectan la región del cuello del útero, fueron identificados como los principales agentes etiológicos de ese tipo de cáncer¹¹.

De acuerdo a las investigaciones de prevalencia realizados en algunos grupos de mujeres sexualmente activas, se estima que entre 10% y 20% de las mujeres estén infectadas por el virus^{3,7,12,13,14}, pero solamente una pequeña fracción de las mujeres infectadas con uno o más tipos de HPV de alto riesgo oncogénico eventualmente desarrollará CCU, pues la infección por el HPV es esencial, pero no suficiente para la evolución del cáncer^{10,15,16}.

En Pará, se estima que la tasa para el CCU sea de 22 para cada 100 mil mujeres, siendo este, el cáncer más incidente entre las mujeres del estado, excluyendo el cáncer de piel no melanoma¹⁷. Las mujeres paraenses que viven en comunidades ribereñas son carentes de atención y de esta forma la identificación de indicadores que puedan auxiliar en las acciones de salud para esas comunidades es de gran importancia en la prevención de enfermedades.

En este sentido, este estudio investigó la frecuencia y la diversidad de HPV, además de analizar la relación del HPV de alto riesgo oncogénico con las alteraciones cervicales encontradas por el examen citopatológico, en mujeres de cinco comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba en el Estado de Pará.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio transversal realizó un análisis descriptiva y analítica de los resultados de los exámenes realizados junto a los preventivos de cáncer de cuello de útero (PCCU) colectados entre setiembre y diciembre de 2008 de mujeres de las comunidades ribereñas de Tucumanduba (n = 15), Ilha do Capim (n = 7), Rio Ajui (n = 50), Rio Paruru (n = 5) y Rio Panacuera (n = 2). Estas comunidades pertenecen al municipio de Abaetetuba que, según el Instituto Brasileiro de Geografía e Estatística¹⁸, tiene 139.819 habitantes en una extensión territorial de 1.611 km².

Las mujeres fueron orientadas e invitadas a participar del estudio, y firmaron el Término de Consentimiento Libre y Esclarecido. El protocolo de investigación fue analizado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación en Seres Humanos del Núcleo de Medicina Tropical (NMT) en 03 de diciembre de 2007, según el protocolo de n° 050/2007 CEP/NMT.

El frotis citológico convencional fue constituido de frotis ectocervical y endocervical, recogidos con espátula de

Ayre y escobilla endocervical, extendido en lámina de vidrio, fijado con polietileno glicol y teñido por la técnica de Papanicolaou. Las muestras fueron examinadas en el Laboratorio de Anatomía Patológica y Citopatología del NMT, Unidad de la Universidad Federal de Pará (UFPA) y los resultados fueron clasificados de acuerdo a la Nomenclatura Brasileña para Laudos Cervicales, habiendo sido identificadas: Células epiteliales atípicas de significado indeterminado (CEASI), lesión intraepitelial escamosa de bajado grado (LIEBG) y lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG)¹⁷.

Muestras biológicas colectadas por escobilla endocervical fueron almacenadas en solución de NET/SDS (10 mM NaCl, 10 mM EDTA, 1 mM Tris, 1% SDS), a la que se agregó 4,0 g de proteinasa K y almacenó a 47° C por 12 h, para lisis de las células y extracción del ADN. Posteriormente, el ADN fue purificado por el método de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (24:24:1), precipitado en etanol y diluido en 100 L de TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM).

La identificación molecular del HPV se realizó por la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), usando los oligonucleótidos consenso MY09 e MY11 que amplifican un fragmento de 449-458 nucleótidos (dependiendo del tipo de HPV) de una región fuertemente conservada del gen L1¹⁹. Cada reacción de PCR fue preparada con un volumen total de 10,0 L, conteniendo 1,0 L de DNA de la muestra biológica y 9,0 L de una mezcla (MIX) de reactivos [4,9 L de agua estéril, 0,4 L de cada uno de los cuatro desoxinucleótidos trifosfatos (100 mM – pH 7,5), 0,5 L de cada oligonucleótido para HPV (200 ng/ L), 1,0 L de solución tampón (60 mM Tris-HCl – pH 7, 1 M NaCl, 60 mM MgCl₂, 10 mM DTT – 37°), 0,3 L de MgCl₂ (50 mM) e 0,2 L de la enzima ADN polimerasa Taq (5 U/ L)]. La reacción fue sometida al termociclador (Biocycler MJ96G) con la siguiente programación: 4 min a 95° C para desnaturar el ADN, seguidos por 35 ciclos de 94° C por 30 segundos, 56° C por 30 segundos y 72° C por 30 segundos, y una etapa de 72° C por 8 min para extensión final del ADN. Todas las muestras fueron previamente amplificadas para un fragmento del gen de la globina humana, utilizando el mismo MIX, con excepción de los oligonucleótidos específicos para HPV, que fueron sustituidos por los oligonucleótidos G73 y G74²⁰. Se usó, como control positivo, muestra reconocidamente positiva, y como control negativo, agua estéril. Los productos de PCR fueron sometidos a la electroforesis en gel de agarosa a 1% conteniendo bromuro de etidio (0,5 g/ml) y visualizados en transiluminador de luz UV.

El genotipado del HPV se realiza a partir de la digestión enzimática del producto de PCR generado (MY9/MY11) de las muestras positivas, utilizando las enzimas: PstI, HaeIII, DdeI y RsaI y posterior comparación de los perfiles de digestión generados con el algoritmo de genotipado descrito por Nobre et al²¹. La significación estadística de las diferentes proporciones de las variables estudiadas fue identificada por el ensayo Exacto de Fisher en el programa Bioestat 5.0²².

RESULTADOS

Un total de 79 mujeres de cinco comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Pará, realizó el PCCU entre setiembre y diciembre de 2008. La edad de esas mujeres varió de 16 a 81 años, con un promedio de 37,5 (DP 13,9) años. La edad que se mostró más frecuente en el muestreo fue de 27 años ($n = 7$). Se observó también que un 59,5% de las mujeres que realizaron el PCCU se hallaba en la franja de 21 a 40 años de edad (Tabla 1).

Tabla 1 – Distribución por franja etaria, de las mujeres de las comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Pará, que realizaron el examen preventivo de cáncer de cuello uterino, entre setiembre y diciembre de 2008

Franja etaria (años)	n	
< 21	5	6,3
21 - 30	25	31,6
31 - 40	22	27,9
41 - 50	15	19
51 - 60	6	7,6
> 60	6	7,6
Total	79	100

Fuente: Laboratorio de Anatomía Patológica y Citopatología del NMT.

De los 79 exámenes citológicos realizados, un 59,49% ($n = 47$) presentó resultados sin alteraciones citológicas atípicas, siendo que un 2,53% ($n = 2$) fue identificado con frotis normal y un 56,96% ($n = 45$) con frotis inflamatorio. Los frotis que mostraron células atípicas caracterizaron un 40,51% ($n = 32$) de los exámenes realizados, siendo clasificados como un 21,52% ($n = 17$) de CEASI, incluyendo lesiones posiblemente no neoplásicas y aquellas en las cuales no se puede alejar lesión intraepitelial escamosa de alto grado, un 16,46% ($n = 13$) de LIEBG y un 2,53% ($n = 2$) de LIEAG. La frecuencia de alteraciones citológicas en mujeres con edad menor o igual a 30 años fue de 13,33% (4/30) y de 57,14% (28/49) en mujeres con edad superior a 30 años ($p < 0,001$).

Con relación a la flora vaginal de las mujeres analizadas en este estudio, se constató que un 37,97% ($n = 30$) de la población presentó flora con bacilos cortos, un 30,38% ($n = 24$) presentaron flora vaginal mixta, en un 24,05% ($n = 19$) se observó flora sugestiva de *Gardenerella vaginalis*, en un 3,80% ($n = 3$) las mujeres tuvieron prevalencia de flora del bacilo de Doderlein, en un 2,53% ($n = 2$) la flora vaginal encontrada fue escasa y en un 1,27% ($n = 1$) se encontró *Candida* spp.

El examen molecular identificó que un 11,4% ($n = 9$) de las mujeres analizadas presentaban infección genital por HPV, al momento de la colecta del examen. La presencia de HPV se observó en las proporciones de 33,4% ($n = 3$) de los 21 a los 30 años de edad, 22,2% ($n = 2$) en las mujeres por debajo de los 21 años y de los 31 a los 40 años de edad, y de 11,1% ($n = 1$), tanto en la franja de 41 a 50 años como en la de 51 a 60 años de edad. No fue identificado HPV en mujeres sobre los 60 años de edad, ni tampoco en las comunidades de la Ilha do Capim y del río Panacuera. En las otras comunidades la frecuencia de HPV fue de 6% ($n = 3$) en el río Ajuí, de 20% ($n = 1$) en el río Paruru y de 33% ($n = 5$) en el río Tucumanduba.

La tabla 2 demuestra la clasificación del examen citológico y la frecuencia de infecciones por HPV, de acuerdo con las franjas etarias estudiadas. El HPV fue identificado en 11,1% (5/45) de las muestras con frotis inflamatorios, en 11,8% (2/17) de las muestras con CEASI y en 13,3% (2/15) de las muestras con frotis presentando lesiones intraepiteliales escamosas, siendo un 7,7% (1/13) de LIEBG y un 50% (1/2) de LIEAG. Analizando solamente frotis inflamatorios, no se identificó infección por HPV en mujeres con edad superior a 30 años de edad y de 20% (5/25) la frecuencia de HPV en mujeres con edad menor o igual a 30 años ($p = 0,0435$).

De los nueve casos positivos para HPV en las comunidades ribereñas estudiadas, tres (33,3%) demostraron perfil de múltiple infección, en la que no fue posible la identificación del virus por la metodología utilizada en este estudio; cinco casos (55,5%) fueron identificados con HPV de bajo o riesgo indeterminado y un caso (11,1%) fue identificado con HPV de alto riesgo oncogénico (Tabla 3).

Tabla 2 – Frecuencia de HPV de acuerdo a los resultados de la citología y por franja etaria, de las mujeres de las comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Pará, que realizaron el examen preventivo de cáncer de cuello uterino entre setiembre y diciembre de 2008

Resultado de la citología	Franja etaria (años)						Total
	< de 21	21-30	31-40	41-50	51-60	> de 60	
	HPV+/n	HPV+/n	HPV+/n	HPV+/n	HPV+/n	HPV+/n	HPV+/n
Inflamatorio	2/4	3/21	-/14	-/5	-/-	-/1	5/45
CEASI	-/-	-/1	1/6	1/5	-/3	-/2	2/17
LIEBG	-/1	-/2	1/2	-/4	-/2	-/2	1/13
LIEAG	-/-	-/-	-/-	-/-	1/1	-/1	1/2
Total	2/5	3/24	2/22	1/14	1/6	-/6	9/77

Fuente: Laboratorio de Biología Celular y Molecular del NMT.

Señal convencional utilizado: - Dato numérico igual a cero no resultante de redondeo.

Tabla 3 – Relación de las muestras positivas para HPV, y sus resultados citológicos, de flora vaginal, del tipo de HPV y su riesgo oncológico, de las mujeres de las comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Pará, que realizaron el examen preventivo de cáncer de cuello uterino entre setiembre y diciembre de 2008

Muestras HPV+	Resultado citológico	Flora vaginal	Tipo de HPV	Riesgo oncológico
404	CEASI	<i>Gardenerella vaginalis</i>	Múltiple infección	Indeterminado
405	Inflamatorio	<i>Gardenerella vaginalis</i>	Múltiple infección	Indeterminado
407	Inflamatorio	Bacilar	6	Bajo
411	Inflamatorio	Bacilar	Múltiple infección	Indeterminado
414	CEASI	<i>Gardenerella vaginalis</i>	54a	Bajo
458	Inflamatorio	<i>Gardenerella vaginalis</i>	58	Alto
464	Inflamatorio	Bacilar	102	Indeterminado
466	LIEBG	Mixta	72	Bajo
474	LIEAG	Bacilar	81	Bajo

Fuente: Laboratorio de Biología Celular y Molecular del NMT.

Tabla 4 – Asociación de la infección por HPV con la presencia de células atípicas en el examen citológico, con frotis inflamatorios, con las comunidades y con la edad de las mujeres de las comunidades ribereñas del Municipio de Abaetetuba, Pará, que realizaron el examen preventivo de cáncer de cuello uterino entre setiembre y diciembre de 2008

Variable	Categoría	HPV+		HPV-		p-valor
		n	%	n	%	
Células atípicas en el examen citológico	Presente	4	12,5	28	87,5	0,5340
	Ausente	5	10,6	42	89,4	
Frotis inflamatorio	Presente	4	8,5	43	91,5	0,2661
	Ausente	5	15,6	27	84,4	
Comunidades	Tucumanduba	5	33,4	10	66,6	0,0103
	Otras	4	6,2	60	93,8	
Edad	30 años	5	16,7	25	83,3	0,2130
	31 años	4	8,2	45	91,8	

Fuente: Laboratorio de Biología Celular y Molecular del NMT.
n=número de frecuencia.

La infección por HPV fue identificada en 33,4% (5/15) de las mujeres examinadas en la comunidad de Tucumanduba, destacándose de la frecuencia de 6,2% (4/64), encontrada en las otras comunidades juntas ($p = 0,0103$). La frecuencia de HPV en mujeres con edad superior a 30 años fue de 8,2% (4/49), no demostrando diferencia significativa ($p = 0,2130$) de la frecuencia encontrada en las mujeres con edad igual o inferior a 30 años, que fue de 16,7% (5/30). No hubo relación de la infección por HPV con frotis inflamatorios ni con la presencia de células atípicas en el examen citológico (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Debido a la asociación de la infección por HPV con el desarrollo de cáncer de cuello de útero^{14,23}, se vuelve importante detectar no apenas la infección por este virus, pero principalmente identificar los tipos con mayor potencial oncogénico presentes en la población femenina, lo antes posible para un mejor pronóstico. La metodología

utilizada en este trabajo posibilitó la identificación de una prevalencia de 11,4% en las comunidades ribereñas analizadas. Estos hallazgos están de acuerdo con los de la literatura, que relata prevalencia de 10% a 20% de HPV en poblaciones urbanas^{7,14,24,25,26}. semejante fue identificado en el estudio de Brito et al²⁷, con prevalencia de 12,24% (6/49) de HPV en indias Parakanã de la Amazonía brasileña. Por otro lado, países como España se han destacado, ya que desarrollaron políticas de salud pública bien definidas, habiendo identificado prevalencia de apenas 3% de la infección por HPV en su población femenina²⁸.

La literatura^{28,29,30} relata que una gran parte de las mujeres, al inicio de la vida sexual, entra en contacto con este virus, con la mayoría de las infecciones retrocediendo espontáneamente en algunos años, demostrando un estándar de disminución linear de la prevalencia del HPV con el aumento de la edad en países en donde la tasa de cáncer de cuello de útero es baja. En este estudio, la infección por HPV fue asociada a las mujeres ribereñas con

edad inferior o igual a 30 años y que mostraron frotis inflamatorios.

Es importante destacar también, que por ser transversal, este estudio no permite discriminar las infecciones incidentes de las infecciones persistentes, sin embargo, Rama et al¹⁴ sugieren que en las mujeres con edad superior a 30 años de edad la infección puede ser persistente, y se indica un acompañamiento médico más cauteloso y un rastreo continuo para averiguar la persistencia de la infección.

La comunidad de Tucumanduba presentó una tasa significativamente mayor de infección por el virus, comparada con las demás comunidades estudiadas. No fue investigado el motivo para la mayor prevalencia de HPV en esta comunidad ribereña en relación a las otras, pero la literatura^{24,25,31,13,32} relata la presencia de factores que pueden estar asociados a mayor riesgo de adquirir la infección por este virus, como el número de compañeros, la edad del inicio de la actividad sexual, la condición socioeconómica, la paridad, el tabaquismo, etc.

Entre los tipos de HPV encontrados en este estudio, fue confirmada la existencia de una mujer de 18 años de edad que tenía el tipo 58, considerado de alto riesgo oncogénico. Estudios realizados en Asia y en América del Sur demuestran que este tipo de HPV es el tercero más prevalente, quedando atrás apenas de los tipos 16 y 18 en Corea del Sur³³ e dos tipos 16 e 33 en Japón³⁴ y Chile³⁵. En Brasil los tipos de HPV más prevalentes varían de acuerdo a la región estudiada, siendo que en mujeres con lesiones preneoplásicas y con cáncer de cuello uterino, el HPV 16 fue el más prevalente en estudio realizado en Goiânia³⁶. El HPV tipo 58 fue el segundo más prevalente, quedando atrás apenas del tipo 16 en el Distrito Federal³⁷ y fue el cuarto más hallado en Recife³⁸.

Vale resaltar que la mayoría de los trabajos relatados en la literatura identifica los tipos de HPV en demanda referenciada por mujeres que presentan lesiones en el cuello del útero, invasivas o no, o las que buscan los servicios de salud para la realización del PCCU. Los tipos de HPV encontrados en este estudio no se originan de una demanda que busca el servicio de modo rutinario, y si de una población que no tiene fácil acceso a este servicio, por las dificultades características de las comunidades ribereñas de la región y que fue previamente estimulada, de forma colectiva o individualizada, en su misma comunidad.

De acuerdo a la literatura^{9,39}, la mujer con el tipo viral de alto riesgo oncogénico presenta un mayor riesgo de desarrollar cáncer de cuello de útero, además de indirectamente, poder transmitir este tipo viral para otras mujeres. Un estudio señala una disminución lineal del riesgo de infección por el HPV de alto riesgo con el aumento de la edad⁴⁰, corroborando el hecho de que la única mujer encontrada con HPV de alto riesgo oncogénico, en este estudio, ser de un grupo etario primario.

De acuerdo a la literatura^{41,42}, existe asociación entre las alteraciones citológicas y la detección del HPV, aunque

cerca de 11% de las mujeres con citología normal presenten HPV detectable, esta proporción puede abarcar a más del 70% entre aquellas con exámenes alterados. No se encontró asociación entre los preventivos con células atípicas y la infección por HPV. La presencia del virus fue encontrada en un 7,7% de los casos de LIEBG y en apenas 50% de los casos de LIEAG. Este resultado es bajo, cuando comparado con el trabajo realizado en Corea del Sur², en donde el HPV fue identificado en 67,1% de los casos de LIEBG y en 84,2% de los casos de LIEAG. Esta baja frecuencia de HPV en mujeres con exámenes alterados puede sugerir que otros factores estén más relacionados al desarrollo de esas lesiones en el cuello del útero.

Con relación a la metodología molecular descrita por Nobre et al²¹, se ha mostrado eficiente en la identificación del tipo de HPV, en muestras infectadas por apenas un tipo viral, ya que con la ayuda del algoritmo propuesto, ha sido posible identificar fácilmente el tipo de HPV presente en casi 2/3 de casos positivos. En este sentido, esta metodología tiene importancia en el estudio epidemiológico de los tipos de HPV, pues no limita el conocimiento de los tipos virales presentes en la población a la disponibilidad de los oligonucleótidos específicos en el laboratorio.

Por otra parte, algunas muestras positivas para el HPV no pudieron ser genotipadas en este trabajo, porque la metodología utilizada presentó una limitación en la identificación de los tipos virales en muestras con múltiple infección. En estas muestras el perfil de digestión enzimática es complejo para la utilización del algoritmo de genotipado propuesto por Nobre et al²¹. Una alternativa sería utilizar, en muestras con infección múltiple, otras estrategias de genotipado como la secuenciación o el PCR con oligonucleótidos específicos.

El conocimiento no apenas de la frecuencia de la infección, sino también del tipo de HPV y el entendimiento de la epidemiología de la infección genital por este virus, son pasos importantes en la construcción de estrategias de prevención de enfermedades causadas por infecciones sexualmente transmisibles, como el cáncer de cuello de útero. La identificación de frecuencia similar a las encontradas en poblaciones urbanas e indígenas y la caracterización de HPV de alto riesgo en las comunidades ribereñas estudiadas, marca la importancia de acciones de prevención de infecciones y enfermedades sexualmente transmisibles también dirigidas a las mujeres ribereñas.

CONCLUSIÓN

En este estudio se identificó que la infección por HPV en las comunidades ribereñas estudiadas fue de 11,4%, donde fueron identificados los tipos 6, 54a, 58, 72, 81, 102, además de infecciones múltiples. La frecuencia de infección varió de cero a 33,3%, por comunidad estudiada, y fue significativamente mayor en la comunidad de Tucumanduba. La infección por HPV se mostró asociada a las mujeres ribereñas con edad inferior o igual a 30 años, cuyos frotis fueron inflamatorios.



Frequência e genotipagem do Papilomavírus humano em mulheres de comunidades ribeirinhas do Município de Abaetetuba, Pará, Brasil

RESUMO

O Papilomavírus humano (HPV) é reconhecido como principal agente causador do câncer do colo do útero. A identificação de HPV de alto risco pode auxiliar na prevenção de lesões do colo uterino. Objetivamos identificar, entre mulheres de comunidades ribeirinhas do Município de Abaetetuba, Estado do Pará, a frequência de infecção pelo HPV, comparando com nível de lesão uterina apresentada, a flora vaginal e o tipo de HPV encontrado. No período de setembro a dezembro de 2008, foram coletadas amostras da cérvix uterina de mulheres ribeirinhas de demanda espontânea para a realização do exame citopatológico. Nesta amostra, foram realizadas a pesquisa e tipagem molecular de HPV através da reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de digestão enzimática. Das 79 amostras analisadas, nove (11,39%) foram positivas para HPV, onde foram identificados os tipos 6, 54a, 58, 72, 81, 102, além de infecções múltiplas. Todas as amostras positivas para HPV apresentaram esfregaço inflamatório e/ou com alterações celulares no exame citológico. O HPV foi identificado em 20% (5/25) dos esfregaços inflamatórios de mulheres com 30 anos de idade ou menos ($p = 0,0435$). A infecção por HPV foi identificada em 33,4% (5/15) das mulheres examinadas na comunidade de Tucumanduba, destacando-se da frequência de 6,2% (4/64), encontrada nas outras comunidades juntas ($p = 0,0103$). A presença de HPV de alto risco oncogênico destaca a importância de ações específicas, voltadas para a prevenção na transmissão desse vírus e no rastreamento das doenças relacionadas, nas comunidades ribeirinhas do Município estudado.

Palavras-chave: Infecções por Papillomavirus; Reação em Cadeia da Polimerase; Polimorfismo de Fragmento de Restrição.

Frequency and genotyping of human Papillomavirus in women from riparian communities in the Municipality of Abaetetuba, Pará State, Brazil

ABSTRACT

Human papillomavirus (HPV) is recognized as the main causative agent of cervical cancer, and identifying high-risk HPV can help prevent cervical lesions. The objective of this study was to identify the frequency of HPV infection in women from riparian communities in the Municipality of Abaetetuba, Pará State, Brazil, and to compare those results with their level of uterine injury, their vaginal flora and the type of HPV found. From September to December 2008, cervical samples were collected from riparian women who spontaneously presented themselves for a cytopathological test. In these samples, polymerase chain reaction followed by enzymatic digestion were conducted for molecular studies and typing of HPV. Of the 79 samples analyzed, nine (11.39%) were positive for HPV, and HPV types 6, 54a, 58, 72, 81 and 102 were identified, along with multiple other infections. All of the samples that tested positive for HPV were associated with an inflammatory smear and/or with cellular alterations on cytological examination. HPV was identified in 20% (5/25) of inflammatory smears in women younger than 30 years of age ($p = 0.0435$). HPV infection was identified in 33.4% (5/15) of women examined in the community of Tucumanduba in contrast with the 6.2% (4/64) combined frequency found in the other communities ($p = 0.0103$). The presence of high oncogenic risk HPV warrants the importance of specific actions aimed at preventing the transmission of this virus and screening for related diseases in riparian communities in the Municipality studied.

Keywords: Papillomavirus Infections; Polymerase Chain Reaction; Polymorphism, Restriction Fragment Length.



REFERENCIAS

- 1 Noronha V, Mello W, Villa L, Brito A, Macedo R, Bisi F, et al. Papilomavírus humano associado a lesões de cérvix uterina. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1999 maio-jun;32(3):235-40.
- 2 Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Hausena HZ. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004 Jun;324(1):17-27.
- 3 Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia. Papilomavírus Humano (HPV): diagnóstico e tratamento, elaboração final: 11 de setembro de 2002. Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia; 2002.
- 4 Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ.* 2001 Apr;164(7):1017-25.
- 5 Freitas TP, Carmo BB, Paula FD, Rodrigues LF, Fernandes AP, Fernandes PA. Molecular detection of hpv 16 and 18 in cervical samples of patients from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2007 Sep-Oct;49(5):297-301.
- 6 Rivoire WA, Capp E, Corletae HVE, Silva ISB. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. *Rev Bras de Cancerol.* 2001 abr-jun;47(2):179-84.

- 7 Velázquez MN, Jiménez-Aranda LS, Sánchez-Alonso P, Santos-López G, Reyes LJ, Vallejo-Ruiz V. Human papillomavirus infection in women from Tlaxcala, Mexico. *Braz J Microbiol.* 2010 Oct;41(3):749-56.
- 8 Brown CR, Leon ML, Muñoz K, Fagioni A, Amador LG, Frain B, et al. Human papillomavirus infection and its association with cervical dysplasia in Ecuadorian women attending a private cancer screening clinic. *Braz J Med Biol Res.* 2009 Jul;42(7):629-36.
- 9 Torres LM, Páez M, Insaurralde A, Rodriguez MI, Castro A, Kasamatsu E. Detection of high risk human papillomavirus cervical infections by the hybrid capture in Asunción, Paraguay. *Braz J Infect Dis.* 2009 Jun;13(3):203-6.
- 10 Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Falando sobre câncer de colo do útero. Rio de Janeiro: INCA; 2002.
- 11 Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002 Apr;55(4):244-65.
- 12 Koutsky LA, Galoway DA, Holmes KK. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Epidemiol Rev.* 1988;10(1):122-63.
- 13 Nonnenmacher B, Breitenbach V, Villa LL, Prolla JC, Bozzetti MC. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. *Rev Saude Publica.* 2002;36(1):95-100.
- 14 Rama CH, Syrjänen K, Derchain SFM, Aldrighi JM, Gontijo RC, Sarian LOZ, et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. *Rev Saude Publica.* 2008;42(1):123-30.
- 15 Silva TT, Guimarães ML, Barbosa MIC, Pinheiro MFG, Maia AF. Identificação de tipos de papilomavírus e de outros fatores de risco para neoplasia intra-epitelial cervical. *Rev Bras Ginecol Obst.* 2006 maio;28(5):285-91.
- 16 Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzetti MC, Silva FR, Silva BR. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. *Cad Saude Publica.* 2009 maio;25(5):953-64.
- 17 Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Estimativas 2008: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2007.
- 18 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades 2009. Rio de Janeiro: IBGE; 2009.
- 19 Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells.* 1989;7:209-14.
- 20 Greer CE, Peterson SL, Kiviat NB, Manos MM. PCR amplification from paraffin-embedded tissues. Effects of fixative and fixation time. *Am J Clin Pathol.* 1991;95:117-24.
- 21 Nobre RJ, Almeida LP, Martins TC. Complete genotyping of mucosal human papillomavirus using a restriction fragment length polymorphism analysis and an original typing algorithm. *J Clin Virol.* 2008 May;42(1):13-21.
- 22 Ayres M, Ayres Junior M, Ayres DL, Santos AA. 2007. BIOESTAT - 5.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Belém: Ong Mamiraua; 2007.
- 23 Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999 Sep;189(1):12-9.
- 24 Bauer HM, Ting Y, Greer CE, Chambers JC, Tashiro CJ, Chimera J, et al. Genital Human Papillomavirus Infection in Female University Students as Determined by a PCR-Based Method. *JAMA.* 1991 Jan;265(4):472-7.
- 25 Hildesheim A, Gravitt PE, Schiffman MH, Kurman RJ, Barnes W, Jones S, et al. Determinants of genital HPV infection in low-income women in Washington, DC. *Sex Transm Dis.* 1993 Sep-Oct;20(5):279-85.
- 26 Silva KC, Rosa MLG, Moyse N, Afonso LA, Oliveira LHS, Cavalcanti SMB. Risk factors associated with human papillomavirus infection in two populations from Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009 Sep;104(6):885-91.
- 27 Brito EB, Martins SJ, Menezes RC. Human papillomaviruses in Amerindian women from Brazilian Amazonia. *Epidemiol Infect.* 2002 Jun;128(3):485-9.
- 28 Sanjose S, Almirall R, Lloveras B, Font R, Diaz M, Muñoz N, et al. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. *Sex Transm Dis.* 2003 Oct;30(10):788-93.
- 29 Josefsson AM, Magnusson PK, Ylitalo N, Sorensen P, Qwarforth-Tubbin P, Andersen PK, et al. Viral load of human papilloma virus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma *in situ*: a nested casecontrol study. *Lancet.* 2000 Jun; 355(9222):2189-93.
- 30 Oh K, Ju H, Franceschi S, Quint W, Shin H. Acquisition of new infection and clearance of type-specific human papillomavirus infections in female students in Busan, South Korea: a follow-up study. *BMC Infect Dis.* 2008;8(13):1-6.
- 31 Eluf-Neto J, Nascimento CM. Cervical cancer in Latin America. *Semin Oncol.* 2001 Apr;28(2):188-97.
- 32 Schiffmann MH, Brinton LA. The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Cancer.* 1995 Nov;76(10 Suppl):1888-901.

- 33 Bae JH, Lee SJ, Kim CJ, Hur SY, Park YG, Lee WC. Human papillomavirus (HPV) type distribution in Korean women: a meta-Analysis. *J Microbiol Biotechnol.* 2008 Apr;18(4):788-94.
- 34 Asato T, Maehama T, Nagai Y, Kanazawa K, Uezato H, Kariva K. A large case-control study of cervical cancer risk associated with human papillomavirus infection in Japan, by nucleotide sequencing-based genotyping. *J Infect Dis.* 2004 May;189(10):1829-32.
- 35 Melo A, Montenegro S, Hooper T, Capurro I, Roa JC, Roa I. Tipificación del virus papiloma humano (VPH) en lesiones preneoplásicas y carcinoma del cuello uterino en mujeres de la IX Región-Chile. *Rev Med Chile.* 2003;131(12):1382-90.
- 36 Rabelo-Santos SH, Zeferino L, Villa LL, Sobrinho JP, Amaral RG, Magalhães AV. Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiânia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003 Mar;98(2):181-4.
- 37 Camara GNL, Cerqueira DM, Oliveira APG, Silva EO, Carvalho LGS, Martins CRF. Prevalence of human papillomavirus types in women with pre-neoplastic and neoplastic cervical lesions in the Federal District of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003 Oct;98(7): 879-83.
- 38 Lorenzato F, Ho L, Terry G, Singer A, Santos LC, Lucena BR, et al. The use of human papillomavirus typing in detection of cervical neoplasia in Recife (Brazil). *Intern J Gynecol Cancer.* 2000 Mar;10(2):143-50.
- 39 Brestovac B, Harnett GB, Smith DW, Frost F, Shellam GR. Multiplex nested PCR (MNP) assay for the detection of 15 high risk genotypes of human papillomavirus. *J Clin Virol.* 2005 Jun;33(2):116-22.
- 40 Matos E, Loria D, Amestoy GM, Herrera L, Prince MA, Moreno J, et al. Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concórdia, Argentina: a population-based study. *Sex Transm Dis.* 2003 Aug;30(8):593-9.
- 41 Giuliano AR, Papenfuss MR, Denman CA, Zapien JG, Abrahamsen M, Hunter JB. Human papillomavirus prevalence at the USA - Mexico Border among women 40 years of age and older. *Int J STD AIDS.* 2005 Mar;16(3):247-51.
- 42 Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J, et al. Population based study of hpv infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Mar;92(6):464-74.

Recibido en / Recebido em / Received: 11/6/2010
Aceito en / Aceito em / Accepted: 9/8/2010