

Papilomavirus Humano HPV

HPV é a abreviatura utilizada para identificar o Papilomavirus Humano, causador do condiloma acuminado (do grego *kondilus* = tumor redondo, e do latim *acuminare* = tornar pontudo), também conhecido como crista de galo ou verruga venérea. Pode ainda ser responsável por doença subclínica e estar associado a lesões pré-malignas e mesmo a algumas neoplasias intra-epiteliais.

Atualmente, a infecção pelo Papilomavirus Humano (HPV), é a doença sexualmente transmissível viral mais freqüente na população sexualmente ativa.

A caracterização desses vírus como agentes causais das verrugas humanas, foi feita pela primeira vez em 1907, e o primeiro papilomavirus foi isolado de coelhos por Richard Shope, em 1933. Apesar destas primeiras descobertas, somente após o advento da virologia molecular nos anos 70, pôde-se conhecer melhor esse vírus.

Topografia

O resultado habitual da infecção é a formação de um crescimento benigno das células, uma verruga ou papiloma. Isto pode acontecer em qualquer lugar do corpo e são divididas em:

- ✓ *Verrugas comuns*: verrugas planas (superficiais) e verrugas plantares (mais profundas);
- ✓ *Verrugas genitais (condilomas)*: transmitidas sexualmente.

Verrugas comuns são inofensivos crescimentos na pele causados pelo HPV; podem crescer sobre uma parte do corpo, tais como a face, ao longo do antebraço ou sobre os dedos.

As verrugas genitais são em geral multicêntricas e não apresentam distribuição uniforme. As lesões múltiplas são mais freqüentes em mulheres, enquanto nos homens as lesões únicas são proporcionalmente mais comuns.

Locais de Acometimento

- **Homens** – sulco bálano-prepucial e prepúcio distal, glândula e corona e corpo do pênis.
- **Mulher** – fúrcula/intróito vaginal, lábios menores e clitoris. A cérvix está comprometida em 6% a 8% dos casos. Esse índice cai para 2% quando são consideradas verrugas após um mês de duração.

A região anal é a área extragenital mais freqüentemente envolvida.

Características do HPV

A mais específica é que o genoma viral é preservado como epissomal (não integrado ao genoma do hospedeiro) na maioria dos tumores benignos de HPV. A capacidade epissomal torna o HPV um bom candidato para vetor de terapia genética.

Relação dos Tipos de HPV e Lesões Cutâneo-Mucosas

Tipos de HPV	Morfologia da Lesão	Local da Lesão	Oncogenicidade
1, 4	Verrugas Palmares	Região Palmar / Plantar	Baixa
2	Verrugas Comuns	Extremidades	Baixa
3, 10	Verrugas Planas	Mãos e Face	Baixa
7	Verrugas de Butcher	Mãos	Baixa
5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19-29, 36-38, 47	Ca de Pele, Epidermodisplasia Verruciforme	Testa, Braços, Tronco	Alta
6, 11	Condiloma Acuminado	Urogenital, Anal, Trato Oro-respiratório	Baixa
16, 18, 30, 31, 33, 35, 39, 41-45, 51-59, 61, 62, 64, 68, 72, 73	Lesões Intra-epiteliais Carcinomas Invasivos	Urogenital, Anal, Trato Oro-respiratório	Alta
13, 32	Hiperplasias	Cavidade Oral	Baixa
30, 40	Carcinomas	Laringe	Alta

Os cientistas verificaram que existe uma associação entre vários tipos de HPV e o desenvolvimento de câncer da cérvix, vulvar, anal e do pênis.

Potencial Oncogênico do HPV em Infecções Urogenitais

Potencial Oncogênico	Tipos de HPV
Baixo	6, 11, 42, 43, 44
Intermediário	31, 33, 35, 51, 52
Alto	16, 18, 45

As infecções por HPV alcançaram proporções quase epidêmicas. Calcula-se que quase 1 milhão de casos de infecção por HPV genital sejam diagnosticados por ano, acreditando-se que 1/4 a 1/3 de todos adolescentes sexualmente ativos nos USA, já tenham sido expostos a este vírus.

Muitas mulheres infectadas com HPV não apresentam sintomas óbvios. Devido a propriedade do vírus permanecer latente na pele e, muitas vezes não causar sintomas visíveis, pessoas infectadas com HPV podem não estar cientes de sua infecção e do potencial risco de complicação. Verrugas genitais visíveis são geralmente diagnosticadas pelo exame visual direto. Para alterações menos óbvias, vários testes têm sido empregados: colposcopia (exame das áreas com alterações suspeitas, empregando um instrumento de aumento semelhante ao binocular), tipificação do vírus e biopsia.

A possível presença de infecção de HPV na cérvix também pode ser indicada pelo teste de esfregaço Papanicolaou. Testes virais sofisticados de laboratório podem ser empregados para identificar os tipos de HPV. Tais exames podem ser úteis para determinar se a infecção tem probabilidade para progredir para lesões pré-cancerosas ou ser transmitida para o recém-nascido.

Métodos de Detecção

Com as mudanças comportamentais, principalmente as sexuais, observou-se aumento na incidência das doenças de transmissão sexual. Conseqüentemente, há grande interesse em diagnosticá-las e tratá-las adequadamente. Se não forem diagnosticadas com precisão, podem ocorrer sérias complicações, como por exemplo, a esterilidade e o câncer do colo uterino.

Em virtude da dificuldade diagnóstica com os métodos morfológicos e sorológicos, a biologia molecular teve grande avanço nos últimos cinco anos. As técnicas de biologia molecular, detectando diretamente o DNA/RNA de diversos agentes infecciosos, apresentam alta acurácia, permitindo diagnóstico seguro e conduta terapêutica efetiva.

Hoje há grande preocupação em relação ao correto diagnóstico das doenças.

Comparação Entre os Métodos de Diagnóstico Laboratorial

Exame	Grau de Dificuldade	Sensibilidade	Especificidade	Discriminação dos Tipos de HPV	Quantificação Viral
Citológico	Baixa	Baixa	Baixa	Não	Não
Histológico	Baixa	Baixa	Baixa	Não	Não
Imuno- histoquímico	Moderada	Moderada	Alta	Sim	Sim
Captura Híbrida	Baixa	Alta	Alta	Sim	Sim
HIS	Moderada	Alta	Alta	Sim	Não
PCR Extraído	Alta	Alta	Alta	Sim	Não
PCR In Situ	Muito Alta	Alta	Alta	Sim	Não
Hibridização	Muito Alta	Alta	Alta	Sim	Não

SOUTHERN BLOT

Fragmentos individuais de DNA são gerados por uma técnica de restrição através de digestão enzimática, separados em gel por eletroforese e transferidos a um filtro inerte.

DNA DOT BLOT

Nesta técnica, o DNA total é imobilizado em um suporte inerte por aplicação direta.

HIBRIDIZAÇÃO IN SITU

Sondas virais são acopladas à biotina ou digoxigenina em vez de um radioisótopo como fósforo radioativo. A molécula de biotina é então detectada por uma série de reações citoquímicas que resultam na ligação de um complexo enzimático (avidina-peroxidase).

PCR - AMPLIFICAÇÃO GÊNICA PELA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

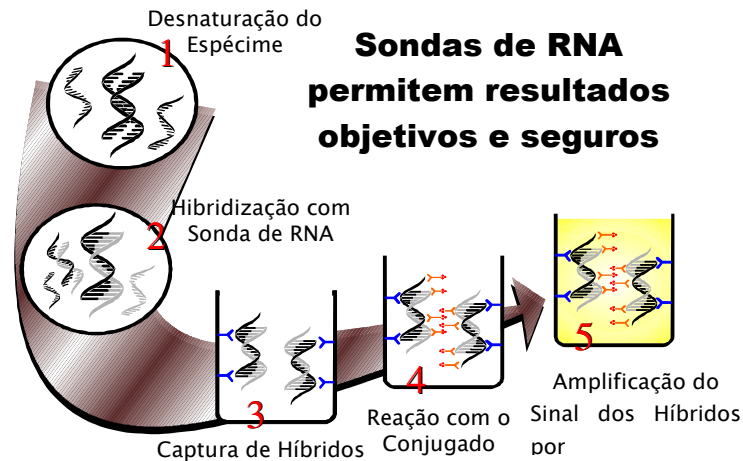
Um pequeno segmento de DNA é amplificado mais de 100.000 vezes pelo uso de primers de oligonucleotídeos complementares a fitas opostas de DNA.

CAPTURA HÍBRIDA

A Captura Híbrida é um sofisticado teste de hibridização molecular, com amplificação do sinal dos híbridos formados, que são detectados através de reação enzima-substrato com leitura por quimioluminescência. O material para análise passa por cinco procedimentos: Desnaturação; Hibridização; Captura dos Híbridos; Reação dos Híbridos com o Conjugado e Detecção dos Híbridos por Quimioluminescência. A leitura é totalmente automatizada. Os critérios para interpretação dos resultados do teste DNA-HPV são:

- ✓ espécies com relação RLU/"cut-off" > 1,0 da sonda A para HPV, são considerados positivos para um ou mais tipos de HPV: 6, 11, 42, 43 ou 44;

- ✓ espécies com relação RLU/"cut-off" > 1,0 da sonda B para HPV, são considerados positivos para um ou mais tipos de HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.



Vantagens

- ✓ **Sensibilidade:** possui sensibilidade analítica de 1pg/ml, equivalente 0,1 cópia de virus por célula.
- ✓ **Especificidade:** utiliza sondas de RNA altamente específicas para detectar 18 tipos virais que são agrupados em dois pools de sondas. Uma que contém 5 tipos não oncogênicos (6, 11, 42, 43 e 44), e outra com 13 tipos de HPVs de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68).
- ✓ **Execução:** com operacionalidade e custo-benefício positivos, a amplificação do sinal em microplaca permite resultados seguros em curto espaço de tempo.
- ✓ **Precisão:** a eficácia permite seu uso desde a triagem até o rastreamento das doenças HPV induzidas, diminuindo, para o sistema de saúde, em até 40% o custo total da prevenção.
- ✓ **Praticidade:** com apenas uma amostra pode-se analisar 3 agentes de transmissão sexual, a Clamídia, o Gonococos e o HPV, propiciando a detecção das mesmas.

Guia de Orientação para a Coleta

HPV Coletor → Specimen Cervical Sampler. O lab.São Camilo fornecerá um kit composto de:

- ✓ Um tubete com 1ml de solução conservadora. Contém externamente um rótulo para se anotar a data da coleta e os dados de identificação do médico(a) e da paciente.
- ✓ Uma escova com haste longa.

➤ **Na Mulher**

Esfoliado Celular de Colo Uterino e/ou Vagina:

- ✓ É necessário abstinência sexual de 3 dias e a paciente não deve estar menstruada.
- ✓ Não efetuar exame digital (toque), colposcopia ou assepsia prévia.
- ✓ A presença de sangue (não menstrual) ou de conteúdo vaginal anômalo não altera o resultado.
- ✓ Quando necessária (solicitada), a coleta de citologia cérvico-vaginal deve preceder a da Captura Híbrida.
- ✓ Introduzir toda a escova no canal cervical e rodá-la 5 vezes no sentido horário. A seguir, escovar a ectocervix e, se desejar, as paredes vaginais.
- ✓ Imediatamente após a coleta inserir a escova no tubete, dentro da solução tampão.
- ✓ Quebrar a haste da escova, fechar o tubete e agitar o coletor durante aproximadamente 30 segundos para homogeneizar a amostra.
- ✓ O material colhido dessa forma deverá ser enviado ao laboratório o mais breve possível. À temperatura ambiente sua viabilidade é de 15 dias.

Vulva:

- ✓ Material do intróito vulvar pode ser obtido diretamente com a escova.
- ✓ Imediatamente após a coleta, inserir a escova no tubete dentro da solução tampão.
- ✓ Quebrar a haste da escova, fechar o tubete e agitar o coletor durante aproximadamente 30 segundos para homogeneizar a amostra.
- ✓ Nas outras regiões, deve-se umedecer a área com solução fisiológica e efetuar um raspado com lâmina de vidro ou bisturi. A seguir, com o auxílio da escova, coloca-se o material e a escova no interior do tubo, efetuando-se o passo anterior.

Biópsia:

- ✓ Não deve ter mais que 5mm de diâmetro.
- ✓ Caso o material não seja entregue ao laboratório dentro de 24 horas, deve-se congelá-lo (-20°C) e assim encaminhá-lo para análise.

➤ **No homem**

HPV Coletor → é sua opção utilizar o coletor que contém a escova ou aquele com o swab.

Esfoliado Celular:

- ✓ É necessária abstinência sexual por 3 dias.
- ✓ O material da glândula, sulco bálano-prepucial, uretra e bolsa testicular pode ser coletado com a escova.
- ✓ Para a coleta uretral com escova, indica-se a utilização prévia por 5 minutos, de solução líquida de lidocaína a 2% sem vaso-constritor. Preferencialmente, este material deve ser colhido com o Kit Swab Digene que, ao invés de escova, contém um cotonete especial de Dacron.
- ✓ Imediatamente após a coleta inserir a escova/cotonete no tubete, dentro da solução tampão.
- ✓ Quebrar a haste da escova/cotonete, fechar o tubete e agitar o coletor durante aproximadamente 30 segundos para homogeneizar a amostra.
- ✓ Nas outras regiões do pênis, deve-se umedecer a área com solução fisiológica e efetuar um raspado com lâmina de vidro ou bisturi. A seguir, com o auxílio da escova/cotonete, coloca-se o material e a escova/cotonete no interior do tubete.
- ✓ O material colhido dessa forma deverá ser enviado ao laboratório o mais breve possível. À temperatura ambiente sua viabilidade é de 15 dias.

Biópsia:

- ✓ Não deve ter mais que 5mm de diâmetro.
- ✓ Caso o material não seja entregue ao laboratório dentro de 24 horas, deve-se congelá-lo (-20°C) e assim encaminhá-lo para análise.

Urina:

- ✓ Esta coleta deve ser realizada no laboratório.
- ✓ O laboratório colherá de 20 a 30 mL de urina em recipiente estéril, sem conservante. O paciente não deve urinar pelo menos uma hora antes da coleta e incluirá o 1º jato urinário.
- ✓ Para que o teste seja processado, após esta coleta, a urina será transferida para o kit de urina da Digene.

Quais as indicações dos Testes de Captura Híbrida para HPV?

- ✓ Citologia com diagnóstico de ASCUS/AGUS.
- ✓ Nas lesões de Baixo Grau.
- ✓ No controle terapêutico.
- ✓ Na prevenção do câncer de colo uterino.

Por que prescrever os Testes de Captura Híbrida?

- ✓ Alta correlação clínica.
- ✓ Não apresenta risco de contaminação na coleta do material ou no processamento laboratorial.
- ✓ Resultados objetivos e mais consistentes por não sofrerem a influência da subjetividade do examinador.
- ✓ A presença de enzimas proteolíticas no material não causa alteração do resultado final (falso-negativo).
- ✓ A Captura Híbrida é aprovada e reconhecida pelo Ministério da Saúde do Brasil e pelo F.D.A. dos Estados Unidos.



Desenvolvido para coletar células do aparelho genital feminino e masculino, não permitindo a agregação de DNA ao cotonete, evitando resultado falso-negativo. É o coletor apropriado para a autocoleta feminina. Pode ser usado para coletar espécimes para a detecção de HPV, Clamídia, Gonococos e futuramente Herpes.



Desenvolvido para coletar maior número de células do aparelho genital feminino e masculino, não permitindo a agregação de DNA da amostra na escova, evitando resultado falso-negativo. Pode ser usado para coletar espécimes para a detecção de HPV, Clamídia, Gonococos e futuramente Herpes.