

IDENTIFICAÇÃO DE DNA-HPV EM ADOLESCENTES E MULHERES JOVENS SEM COITO VAGINAL

IDENTIFICATION OF DNA-HPV IN ADOLESCENT AND YOUNG WOMEN WITH NO INTERCOURSE

Renata Mirian N Eleutério¹, Marco Aurélio P Oliveira², Claudia Márcia A Jacyntho³, José Eleutério Jr.⁴, Josele R Freitas⁵

RESUMO

Introdução: o papilomavírus humano (HPV) é um vírus bastante prevalente no mundo. Atualmente existem em torno de 200 tipos identificados, e destes, aproximadamente 45 acometem a área anogenital. Embora se saiba da alta prevalência de infecções pelo HPV entre adolescentes com atividade sexual, poucos estudos têm conseguido demonstrar a presença do vírus entre meninas antes da coitarca. **Objetivo:** determinar a prevalência de papilomavírus humano (HPV) em adolescentes e mulheres jovens sem coitarca. **Métodos:** foram avaliadas 50 mulheres adolescentes atendidas no ambulatório de ginecologia infanto-puberal do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro com idade até 20 anos, que relatavam não ter tido coitarca e apresentavam hímen íntegro no exame físico feito por ginecologista de larga experiência, entre janeiro de 2007 a janeiro de 2009. Foi realizada coleta em região de vestíbulo vulvar e o material foi encaminhado ao laboratório de biologia molecular para detecção de DNA-HPV por método de captura híbrida de 2ª geração (hC2). **Resultados:** nas 50 pacientes testadas para DNA-HPV a idade variou de 11 a 20 anos completos (média: $15,88 \pm 2,04$) e todas negavam coito e apresentavam hímen íntegro. O teste de DNA-HPV por hC2 foi positivo em três casos (6%). Em dois casos foi detectado HPV de não alto risco e em um caso, HPV de alto risco. Após seis meses, um segundo teste de DNA-HPV foi negativo em duas das três pacientes. A terceira não foi testada. **Conclusão:** a infecção pelo HPV pode ocorrer antes da coitarca e mesmo nas situações em que não há contato genital. **Palavras-chave:** adolescente, virgem, biologia molecular, sondas DNA, HPV, DST

ABSTRACT

Introduction: the human papillomavirus (HPV) virus is an extremely prevalent in the world. Currently there are around 200 types identified, about 45 of which affect the anogenital area. Although the high prevalence of HPV infection among sexually active adolescents is known, few studies have succeeded in demonstrating the presence of the virus among girls before sexual intercourse. **Objective:** to assess the prevalence of *human papillomavirus* (HPV) in adolescents and young women prior to coitarche assisted at an outpatient gynecological unit. **Methods:** this study included 50 adolescents assisted at the gynecology unit in University Hospital Pedro Ernesto (HUPE), State University of Rio de Janeiro. The patients were below 20 years old, who reported no sexual intercourse and with intact hymen on physical examination by a gynecologist with broad experience, from January 2007 to January 2009. The material for study was collected from vulvar vestibule for detection of HPV-DNA by Hybrid Capture second generation (hC2). **Results:** in the 50 patients tested for HPV-DNA age ranged from 11 to 20 years old (mean: $15.88 + 2.04$) and all of them denied coitus and had intact hymen. The hC2 was positive in three cases (6%). In two cases non-high risk HPV was detected and in one case high-risk HPV was identified. After 6 months, a second test for HPV-DNA was negative in two out of three patients. The third one was not tested. **Conclusion:** HPV infection can occur before the first sexual intercourse and even in situations where there is no genital contact.

Keywords: adolescent, virgin, molecular biology, DNA probes, HPV, STD

INTRODUÇÃO

O papilomavírus humano (HPV) é um vírus DNA extremamente prevalente em todo o mundo. Atualmente existem mais de 200 tipos identificados, dos quais cerca de 45 acometem a área anogenital, classificados como de alto e baixo risco, dependendo da sua associação com câncer genital¹.

Sem dúvida, hoje a infecção por HPV é considerada a doença sexualmente transmitida de origem viral mais frequente. Algo em torno de 300 a 400 milhões de novas infecções ocorrem em todo o mundo, na maioria dos casos na forma latente, sem indicativos subclínicos ou clínicos da infecção².

Dentre os fatores de risco considerados para infecção pelo vírus estão principalmente idade, maior prevalência entre adolescentes e adultas jovens até 24 anos³, início precoce de vida sexual^{4,5}, múltiplos parceiros sexuais^{5,6}, diferença etária em relação ao parceiro, em especial quando superior a 10 anos⁷ e outras doenças sexualmente transmissíveis⁸.

O HPV tem em sua essência situações ainda não totalmente esclarecidas. A possibilidade de infecção por transmissão não sexual é ainda um ponto não bem definido e alvo de tabus. Há discussão quanto ao papiloma de laringe e a transmissão perinatal^{9,10}, assim como infecção através da placenta e do cordão umbilical¹¹. Além destas, a transmissão por autoinoculação e de mãos para genitais¹², bem como por fômites¹³ estaria associada a possível via não sexual, uma vez que estudos demonstram a possibilidade de manutenção de infecciosidade em temperatura ambiente¹⁴.

Embora se saiba da alta prevalência de infecções pelo HPV entre adolescentes com atividade sexual, onde o ectrôpion, ou seja, a presença de epitélio cilíndrico endocervical na ectocérvice, expõe células jovens (células parabasais e de reserva) mais receptivas à infecção pelo vírus, a maioria destas infecções tende a desaparecer espontaneamente, sendo transitória^{15,16}. No entanto, poucos estudos têm conseguido demonstrar a presença do vírus entre meninas antes da coitarca sem história de abuso sexual¹⁷⁻¹⁹.

O objetivo deste estudo é avaliar a frequência de DNA-HPV genital por biologia molecular entre mulheres adolescentes antes da coitarca e sem história de abuso sexual.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar a frequência de DNA-HPV genital por biologia molecular entre mulheres adolescentes antes da coitarca e sem história de abuso sexual.

¹ Especialização/Mestrado em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) – Farmacêutica bioquímica.

² Doutorado em Saúde Coletiva – Professor Adjunto da UERJ.

³ Doutorado em Ciências Médicas pela Universidade Estadual de Campinas, Responsável pelo Setor de Colposcopia do Hospital dos Servidores do Estado do Rio de Janeiro.

⁴ Doutorado em Tocoginecologia pela Universidade Estadual de Campinas – Professor Adjunto da Universidade Federal do Ceará.

⁵ Mestrado em Ciências Médicas – Responsável pelo Ambulatório de Ginecologia Infanto-Puberal do Hospital Universitário Pedro Ernesto. Trabalho realizado no Hospital Universitário Pedro Ernesto, da UERJ.

MÉTODOS

Foi realizado estudo de prevalência de DNA-HPV em 50 pacientes adolescentes (de 12 a 20 anos) que buscaram, por motivos como corrimento e dismenorrea, o ambulatório de ginecologia infanto-puberal do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, e que relatavam não ter tido coitarca ou abuso sexual e apresentavam hímen íntegro no exame físico feito por ginecologista de larga experiência, entre janeiro de 2007 a janeiro de 2009. Foram considerados como critérios de inclusão: idade de até 20 anos, relato de não ter vida sexual e hímen íntegro ao exame ginecológico. Os critérios de exclusão foram: idade superior a 20 anos, histórico de coito vaginal ou anal, queixas vulvovaginais, gravidez, uso de drogas e imunocomprometimento.

No ambulatório especializado as pacientes foram submetidas ao interrogatório, onde foram anotados dados sociodemográficos e de anamnese. O exame físico, inspeção vulvar, foi realizado pela ginecologista infanto-puberal, para confirmação da integridade himenal. Foi então realizada a coleta da região vestibular com *swab* específico que em seguida foi colocado no tubete coletor para preservação das amostras (*specimen transportation medium* [STM] da Qiagen®).

Os tubetes devidamente identificados foram enviados ao laboratório de biologia molecular para teste de DNA-HPV de alto e baixo risco. A pesquisa do DNA-HPV de alto e baixo risco foi realizada através de técnica de captura híbrida de 2ª geração (ch2) (Qiagen®) em amostra preservada em meio fixador (STM®). O material foi processado conforme orientações do fabricante para identificação de DNA-HPV de alto risco, que compreende HPV dos tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 e de DNA-HPV de baixo risco, tipos 6, 11, 42, 43, 44. A análise foi qualitativa e quantitativa, sendo a última expressa em unidade relativa de luz (RLU), que sugere a carga viral. Cada teste foi processado com controles positivos e negativos em triplicata. O teste foi considerado positivo quando a taxa de unidade de luz relativa para vírus do grupo pesquisado (RLU do espécimen/média da RLU de dois controles positivos) foi igual ou maior que 1 pg/mL. Foi avaliada a prevalência de DNA-HPV e os dados sociodemográficos foram confrontados. Casos positivos foram seguidos com novo teste após 6 meses.

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual do Rio de Janeiro e os responsáveis pelas participantes assinaram o termo de consentimento livre e informado.

RESULTADOS

Entre janeiro de 2007 a janeiro de 2009 foram avaliadas 50 mulheres que preenchiam os critérios de inclusão, com idades variando de 11 a 20 anos completos (média: $15,88 \pm 2,04$). A maioria das pacientes era estudante. A menarca variou de 9 a 15 (média: $11,52 \pm 1,53$). Todas negavam ter tido coito e apresentavam hímen íntegro (**Tabela 1**).

Das 50 pacientes testadas, ocorreu positividade do teste de DNA-HPV em três pessoas (6%) (**Tabela 2**), uma tinha 20 anos e as outras duas tinham 14 anos (**Tabela 3**). Foi critério de exclusão qualquer referência de coito; no entanto, observou-se, em uma segunda entrevista, que dentre os casos positivos para HPV, duas pacientes (com 20 e 14 anos), embora negassem coito, relataram contato genital. Um caso foi de DNA-HPV de alto risco e o outro, de baixo risco oncogênico. Na paciente que continuou negando coito (14 anos) foi identificado HPV de baixo risco oncogênico.

As três pacientes com resultado positivo para o teste foram seguidas durante 6 meses. Dentre as que referiram ter algum tipo de contato genital com o parceiro sem penetração, uma que foi positiva para HPV de alto risco relatou ter tido coitarca e estava com suspeita de gestação, não tendo sido colhido material para o teste nesta oportunidade. A segunda que referiu contato genital e a terceira, que continuou negando qualquer contato, tiveram o teste negativo para HPV de alto e baixo risco após 1 semestre (**Tabela 3**).

DISCUSSÃO

A infecção pelo HPV genital tem sido bastante estudada, em especial nestes tempos de vacina contra o vírus. A doença genital induzida pelo HPV traz intenso sofrimento psicológico^{20,21}, em especial se ocorre em crianças, onde se interroga a questão do abuso sexual. Alguns autores têm levantado a questão sobre a transmissibilidade não sexual^{22,23}, podendo justificar os casos em que não se refere contato genital.

No presente estudo a infecção genital por HPV entre as meninas que não tinham tido coito foi evidenciada em 6%, mas em

Tabela 1 – Dados sociodemográficos de 50 pacientes testadas para DNA-HPV por captura híbrida de segunda geração.

Dados sociodemográficos	N	%
Idade (anos)		
11-14	14	28
15-17	24	48
18-20	12	24
Profissão		
Estudante	50	100
Menarca (anos)		
< 10	5	10
10-12	32	64
> 12	13	26
Contato genital sem penetração		
Sim	2	4
Não	48	96

Tabela 2 – Pesquisa de DNA-HPV por captura híbrida de segunda geração em 50 adolescentes sem atividade sexual.

DNA-HPV	N	%
Negativo	47	94
Baixo risco	2	4
Alto risco	0	0
Baixo e alto risco	1	2
Total	50	100

Tabela 3 – Seguimento em 6 meses dos casos positivos para DNA-HPV em adolescentes sem atividade sexual por captura híbrida de segunda geração.

Caso	Idade	Contato genital sem penetração	Grupo de HPV	de hC2 após 6 meses
1	20	Sim	Alto risco	Não colhido
2	14	Sim	Não alto risco	Negativo
3	14	Não	Não alto risco	Negativo

duas destas (uma com 20 anos e outra com 14 anos) identificou-se história de contato genital com o parceiro, definido por elas como “namorar”, sem penetração. Apesar de o coito ser um fator importante na transmissão do vírus, sabe-se que contato genital pode ser suficiente para a transmissão do HPV²⁴. Isto pode justificar dados de outro trabalho em que os pesquisadores tomaram apenas o coito como variável e que tiveram níveis até mais elevados para pesquisa de DNA-HPV entre adolescentes e adultas jovens²⁵. Entretanto, outro estudo falhou em evidenciar DNA-HPV entre meninas sem história de contato sexual²⁶.

Nos casos positivos foi interessante observar que, após 6 meses, duas negataram, conforme se esperava baseando-se em estudos anteriores que mostram haver, com grande frequência, eliminação espontânea do vírus²⁷. A origem de infecção no caso sem contato genital é motivo para muitas hipóteses. Outras pessoas do convívio da criança (pai, irmãos etc.) não foram testados e todos poderiam ser veículos temporários e mesmo persistentes do vírus²⁸. Devido às dificuldades para acesso a todos os que coabitavam com a paciente, apenas a mãe foi testada, o que pode ser uma abordagem insuficiente.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que a infecção pelo HPV pode ocorrer antes da coitarca e mesmo nas situações em que não há contato genital relatado. Sabemos que o número de casos estudados ainda é pequeno, havendo necessidade de trabalhos de estudo populacional para conclusões mais robustas, no entanto nossos dados se somam àqueles que têm demonstrado a possibilidade da transmissão não sexual da infecção pelo HPV entre meninas.

Conflito de interesses

Declaramos não haver conflito de interesses neste trabalho. Apoio: Laboratório Professor Eleutério da Costa (Fortaleza/CE).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munõz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88(1): 63-73.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005; 55(2): 74-108.
3. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55(4): 244-65.
4. Kahn JA, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GY, Burk RD. Mediators of the association between age of first sexual intercourse and subsequent human papillomavirus infection. *Pediatrics* 2002; 109(1): E5.
5. Fernandes JV, Meissner RV, de Carvalho MG, Fernandes TA, de Azevedo PR, Villa LL. Prevalence of HPV infection by cervical cytologic status in Brazil. *Int J Gynaecol Obstet* 2009; 105(1): 21-4.
6. Rousseau MC, Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Termini L, Prado JM et al. A cumulative case-control study of risk factor profiles for oncogenic and nononcogenic cervical human papillomavirus infections. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(5): 469-76.
7. 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 Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(2): 101-6.
8. Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, Powell K, Jay N, Hanson E et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 2001; 285(23): 2995-3002.

9. Tseng CJ, Liang CC, Soong YK, Pao CC. Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: relationship between infection rate and mode of delivery. *Obstet Gynecol* 1998; 91(1): 92-6.
10. Medeiros LR, Ethur AB, Hilgert JB, Zanini RR, Berwanger O, Bozzetti MC et al. Vertical transmission of the human papillomavirus: a systematic quantitative review. *Cad Saúde Pública* 2005; 21(4): 1006-15.
11. Sarkola ME, Grenman SE, Rintala MA, Syrjanen KJ, Syrjanen SM. Human papillomavirus in the placenta and umbilical cord blood. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008; 87(11): 1181-8.
12. Hernandez BY, Wilkens LR, Zhu X, Thompson P, McDuffie K, Shvetsov YB, et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(6): 888-94.
13. Ferenczy A, Bergeron C, Richart RM. Human papillomavirus DNA in fomites on objects used for the management of patients with genital human papillomavirus infections. *Obstet Gynecol* 1989; 74(6): 950-4.
14. Roden RBS, Kirnbauer R, Jenson AB, Lowy DR, Schiller JT. Interaction of Papillomaviruses with the Cell Surface. *J Virol* 1994; 68(11): 7260-6.
15. Moscicki AB. HPV infections in adolescents. *Dis Markers* 2007; 23(4): 229-34.
16. Eleutério Jr J, Cavalcante DIM, Teixeira FM, Eleutério RMN. Carga viral de HPV de alto risco por captura híbrida e lesões intra-epiteliais escamosas cervicais. *Rev Bras Anál Clín* 2002; 34(4): 193-4.
17. Shin HR, Lee DH, Herrero R, Smith JS, Vacarella S, Hong SH et al. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Busan, South Korea. *Int J Cancer* 2003; 103(3): 413-21.
18. Bezns G, Coates V, Focchi J, Omar HA. Biomolecular study of the correlation between papillomatosis of the vulvar vestibule in adolescents and human papillomavirus. *Scientific World Journal* 2006; 6(1): 628-36.
19. Frega A, Cenci M, Stentella P, Cipriano L, De Ioris A, Alderiso M et al. Human papillomavirus in virgins and behaviour at risk. *Cancer Lett* 2003; 8: 194(1): 21-4.
20. Ashing-Giwa KT, Marjorie KS, Padilla GV, Tejero JS, Hsiao E, Chhabra R et al. The impact of cervical cancer and dysplasia: A qualitative, multi-ethnic study. *Psychooncology* 2004; 13(10): 709-28.
21. Insinga RP. Annual productivity costs due to cervical cancer mortality in the United States. *Womens Health Issues* 2006; 16(5): 236-42.
22. Ferizi M, Gercari A, Pajaziti L, Blyta Y, Kocinaj A, Dobruna S. Condyloma acuminata in child end laser therapy: a case report. *Cases J* 2009; 2(1): 123.
23. Sinclair KA, Woods CR, Kirse DJ, Sinal SH. Anogenital and respiratory tract human papillomavirus infections among Children: Age, Gender, and Potential Transmission Through Sexual Abuse. *Pediatrics* 2005; 116(4): 815-25.
24. Frega A, Cenci M, Stentella P, Cipriano L, De Ioris A, Alderiso M et al. Human papillomavirus in virgins and behaviour at risk. *Cancer Lett* 2003; 194(1): 21-4.
25. Doerfler D, Bernhaus A, Kottmel A, Sam C, Koelle D, Joura EA. Human papillomavirus infection prior to coitarche. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200(5): 487.e1-e5.
26. Shimada T, Miyashita M, Miura S, Nakayama D, Miura K, Fukuda M et al. Genital human papilloma virus infection in mentally-institutionalized virgins. *Gynecol Oncol* 2007; 106(3): 488-9.
27. Elfgrén K, Kalantari M, Moberger B, Hagmar B, Dillner J. A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183(3): 561-7.
28. Rintala MAM, Grénman SE, Puranen MH, Isolaari E, Ekblad U, Kero PO et al. Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infants: a prospective study of HPV in families in Finland. *J Clin Microbiol* 2005; 43(1): 376-81.

Endereço para correspondência:

RENATA MIRIAN NUNES ELEUTÉRIO

Av. Padre Antônio Tomás, 3.885, apto 202, Cocó.

Fortaleza-CE CEP: 60192-120

Tel.: (85) 3262-6531 / (85) 9969-2536

Fax: (85) 3253-0100

E-mail: renatamirian@hotmail.com

Recebido em: 10.07.2011

Aprovado em: 17.08.2011