

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Édila Figuerêdo Feitosa Cavalcanti

**INFECÇÃO PELO HPV EM GENITAL E BOCA DE  
GESTANTES ADOLESCENTES**

Rio de Janeiro  
2013

Édila Figuerêdo Feitosa Cavalcanti

## **INFECCÃO PELO HPV EM BOCA E GENITAL DE GESTANTES ADOLESCENTES**

Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Periodontia.

Orientadoras: Profa. Dra. Sandra Regina Torres

Profa. Dra. Maria Cynésia de Medeiros Barros Torres

Co-orientadora: Dra. Célia Regina da Silva

Rio de Janeiro

2013

Cavalcanti, Édila Figuerêdo Feitosa.

Infecção pelo HPV em genital e boca de gestantes adolescentes / Édila Figuerêdo Feitosa Cavalcanti.– Rio de Janeiro : Faculdade de Odontologia, 2013.

xvii, 153 f. : il. ; 31 cm.

Orientadores: Sandra Regina Torres, Maria Cynésia de Medeiros Barros Torres e Célia Regina da Silva.

Dissertação (mestrado) -- UFRJ, FO, Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, Periodontia, 2013.

Referências bibliográficas: f. 106-120.

1. Infecções por Papillomavirus - epidemiologia. 2. Boca - patologia. 3. Colo do Útero - patologia. 4. Prevalência. 5. Doenças Periodontais - epidemiologia. 6. Gravidez. 7. Adolescente. 8. Reação em Cadeia da Polimerase. 9. Periodontia - Tese. I. Torres, Sandra Regina. II. Torres, Maria Cynésia de Medeiros Barros. III. Silva, Célia Regina. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro, FO, Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, Periodontia. V. Título.

# INFECÇÃO PELO HPV EM BOCA E GENITAL DE GESTANTES ADOLESCENTES

**Édila Figuerêdo Feitosa Cavalcanti**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Odontologia (Mestrado), Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de concentração e, Periodontia.

Rio de Janeiro, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013.

Aprovada por:

---

Carmelo Sansone

Doutor (Presidente da Banca Examinadora)

Prof. Adjunto da Disciplina de Periodontia , Universidade Federal do Rio de Janeiro

---

Lúcio de Souza Gonçalves

Doutor (Membro da Banca Examinadora)

Prof. da Disciplina de Periodontia, Universidade Estácio de Sá

---

Dennis de Carvalho Ferreira

Doutor (Membro da Banca Examinadora)

Prof. Associado da Disciplina de Estomatologia, Universidade Veiga de Almeida

---

Sandra Regina Torres

Doutora (Orientadora)

Departamento de Medicina Oral, Disciplina de Estomatologia, Faculdade de Odontologia, UFRJ

---

Maria Cynésia de Medeiros Barros Torres

Doutora (Orientadora)

Departamento de Clínica Odontológica, Disciplina de Periodontia, Faculdade de Odontologia, UFRJ

---

## DEDICATÓRIAS

Dedico esse trabalho aos meus pais, Epaminondas Neves e Maria, o amor é incondicional; às minhas irmãs, Évila e Érica, ao meu cunhado Fábio e minha sobrinha Fernanda. A saudade é grande, mas tenho certeza de que a torcida é maior ainda.

Aos meus padrinhos Epaminondas Neto e Luiza. Vocês contribuíram para minha formação acadêmica desde o início. Nada mais justo lembrar e dedicar esse trabalho a vocês também.

Alexandre, certa vez você me disse: ‘eu trabalharei para você realizar os seus sonhos’.

Obrigada, meu marido, meu amor, meu companheiro, meu parceiro.

---

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, por tudo que tem me dado e por ter colocado pessoas receptivas e de bom coração em meu caminho.

Ao Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa, à PROAP, à FAPERJ e ao Laboratório Richet, pelo auxílio financeiro e apoio institucional concedidos para que eu pudesse realizar esse estudo.

Agradeço também à:

Equipe de professores da Disciplina de Periodontia da UFRJ: Dra. Anna Theresa Leão, Dr. Eduardo Feres Filho, Dr. Carmelo Sansone, Dr. Victor Varela e em especial à Dra. Maria Cynésia de Medeiros Barros Torres pelo apoio, orientação e atenção concedidos a mim durante esse período em que estive presente.

Equipe da Maternidade-Escola, na figura da Dra. Célia Regina da Silva, Dr. Leonídio Pereira, Dra. Maria Inês Baeta Neves, e das técnicas do laboratório de Citopatologia, Valentina e Márcia. Obrigada pela acolhida e pela atenção.

Equipe do Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa, na figura da Dra. Patrícia Rosa Vanderborght, obrigada pela receptividade nas suas instalações.

Equipe do Laboratório Richet: Dr. Hélio Magarinos Torres Filho e Dra. Cassiana da Costa F. Leite, mesmo sem me conhecer vocês abriram as portas do laboratório de biologia molecular para que eu pudesse complementar minha pesquisa. Nunca irei

esquecer que ‘fazer o bem sem olhar a quem’ só aumenta a admiração daqueles os cercam.

A todos os professores que contribuíram no incremento dos meus conhecimentos nesse período, em especial à Dra. Mirella Giongo Pereira e à Dra. Carina Boghossian. Carina sempre que te pedi ajuda você se fez prestativa, nunca esquecerei de você.

Ao professor Dr. Ronir Raggio Luiz pelos ensinamentos, pela atenção e pelo apoio na análise estatística desse estudo.

Ao Dr. Mário José Romanach Gonzalez Sobrinho, pela gentileza em realizar a captura das imagens de lâminas das pacientes desse estudo.

Meus agradecimentos especiais àqueles que estiveram nessa jornada diretamente comigo:

Dra. Sandra Regina Torres, meu respeito e admiração por você são sinceros. Sempre quero tê-la presente nas minhas conquistas. Sem saber de onde vim ou para onde eu iria, você me recebeu e me acolheu como sua orientanda. Sem conceitos ou preconceitos. Agradeço enormemente pela oportunidade de conviver com a sua tranquilidade e bom coração. Para mim, você é um exemplo de pessoa, mulher, pesquisadora e amiga. Obrigada pela confiança depositada em mim. Espero ter atingido suas expectativas.

Dra. Célia Regina da Silva, sua incessante jornada e amor pela profissão são admiráveis. Sua gana por conhecimento, compartilhamento dele, interação e integração são

características que procurarei levar em minha vida profissional. Obrigada por sua companhia e amizade nesse período. Foi muito rico e produtivo.

Mariana Monteiro de Vasconcellos, nesse período, você me cedeu suas mãos para que também fossem minhas. Sem sua ajuda teria sido muito mais difícil. Obrigada pelo compromisso assumido no meu trabalho durante todo esse tempo.

Igor, para mim será inesquecível todos os momentos, de seriedade e também de descontração. Obrigada pelos seus ensinamentos e, principalmente pela sua companhia. No que precisar, não hesite, pode contar comigo.

Dr. Dennis Carvalho Ferreira, no fim dessa jornada você foi essencial para aparar todas as arestas. Coloquialmente falando, você me ajudou a colocar a cereja no bolo. Desejo que nosso convívio não se finde aqui.

Com vocês cinco, o peso pareceu menor, a carga se mostrou suave. OBRIGADA!

Por fim, não poderia deixar de agradecer às adolescentes que fizeram parte desse estudo. Sem a autorização de vocês, minhas queridas, eu não teria realizado essa pesquisa. Desejo que, mesmo sendo mães tão jovens, o mundo se mostre sempre belo, colorido e jovial como a flor das suas idades.

Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada.

Apenas dê o primeiro passo”.

*Martin Luther King*

## RESUMO

A adolescência e a gestação representam fases influenciadas por mudanças hormonais que podem predispor à infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV) na região genital. Tem-se sugerido a ocorrência da associação da infecção entre a região genital e bucal em adolescentes e em grávidas. Entretanto, ainda não se sabe se as duas condições associadas incrementam essa predisposição e associação. Tem sido relatado que o HPV pode infectar o periodonto e potencializar a ação de bactérias periodontopatogênicas causando destruição dos tecidos de suporte dos dentes. O presente estudo foi realizado na Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro e teve como objetivo identificar a possível correlação da infecção pelo HPV em boca e em cólo do útero de 30 gestantes adolescentes (10-19 anos/OMS). Na região genital, o exame envolveu a busca visual de lesões HPV-induzidas (genitália externa, períneo e anus) e no cólo do útero foi realizada a aplicação de ácido acético 2%. Nas áreas acetobranças pigmentadas pelo ácido foram realizados esfregaços e, quando não houvesse pigmentação, o esfregaço foi realizado na entrada do canal endocervical. Para pesquisa do vírus na boca, foi realizado um exame que envolveu a busca visual de lesões HPV-induzidas na mucosa oral e aferições dos índices de placa visível, sangramento gengival, profundidade de bolsa, nível clínico de inserção e sangramento à sondagem. Foram realizados esfregaços em língua/palato e coleta de biofilme bacteriano dental supragengival (pool) e subgengival (4 sítios). Nas amostras de esfregaço, foram realizados a análise citopatológica e o teste de microarranjo (*Papillocheck*<sup>®</sup>). Nas amostras de biofilme, foram realizados os testes moleculares de PCR (MY09/11) e de microarranjo. Os resultados foram apresentados de forma descritiva e associações entre as variáveis categóricas foram realizadas utilizando-se o teste exato de Fisher. A média da idade do grupo foi de 15,2 anos ( $\pm 1,3$ ) e a média de tempo gestacional foi de 28,8 semanas ( $\pm 7,3$ ). No colo do útero, alterações celulares HPV-induzidas, identificadas pela citologia, foram visualizadas em 03 (10%) esfregaços. O teste do microarranjo identificou o vírus no colo do útero de 17 adolescentes (56,7%), sendo o mais prevalente o HPV16 ( $n=4/23,5\%$ ), de alto potencial oncogênico. Na boca, a citologia não observou alterações celulares HPV-induzidas em nenhum esfregaço e o microarranjo não detectou o vírus em nenhuma amostra. Vinte e duas (73,3%) adolescentes apresentavam gengivite no momento do exame periodontal, enquanto que 08 (26,6%) exibiram periodontite. O PCR não identificou presença do HPV em nenhuma amostra de biofilme supragengival e subgengival. O teste do microarranjo identificou a presença do vírus no biofilme subgengival em 01 adolescente grávida, sendo este o HPV6 (baixo potencial oncogênico). Houve associação estatisticamente significativa entre as adolescentes que apresentavam gengivite e presença do HPV no colo do útero ( $p=0,05$ ). Pudemos concluir que não houve associação da presença do HPV na boca e no cólo do útero na população estudada.

**Palavras-chaves:** Vírus do Papiloma Humano 16, doença periodontal, boca, biofilme dentário.

## ABSTRACT

The adolescence and pregnancy represent stages influenced by hormonal changes that may predispose to infection with the Human Papillomavirus (HPV) in the genital region. It has been suggested the association among the occurrence of infection in the genital and oral region in adolescents and in pregnant. However, it is not known if the two conditions associated increment this predisposition and this association. It has been reported that HPV can infect the periodontal tissues and potentiate the action of bacterias and can cause periodontal destruction of the tissues that supports the teeth. The aim of this study was to identify the correlation of HPV infection in mouth and cervix of 30 pregnant adolescents (10-19 years old/OMS) in Maternity-School Unit of the Federal University of Rio de Janeiro. In cervix were collected smears for cytological analysis through Bethesda system and molecular test using microarray (Papillocheck®). In mouth, a visual research of HPV-induced lesions was realized following for a complete clinical periodontal exam (visible plaque index, gingival bleeding index, probing depth, probing attachment loss, bleeding on probing). Data about visible plaque and gingival index, probing depth and bleeding on probing was collected. Smears in tongue/palate for cytological analysis through Bethesda system and molecular test were conducted by microarray assay. Subgingival (4 sites) and supragingival (pool) biofilm were collected for research of HPV infection using PCR (MY09/11) and microarray assay. The results were presented descriptively and using Fisher's exact test. The mean age of group was 15.2 years ( $SD\pm 1.3$ ) and the mean of gestational age was 28.8 weeks ( $SD\pm 7.3$ ). In cervix, citophatic cells were identified in 03 (10%) smears and 17 (56.7%) smears had HPV presence by microarray. In mouth, none smear had citophatic cells HPV-induced and absence of HPV in all samples by microarray. The subtype identified was the HPV6. Twenty two (73.3%) pregnant adolescents exhibited gingivitis while 07 (23.3%) exhibited periodontitis in periodontal exam. There is association of the HPV infection in cervix with gingivitis ( $p=0,05$ ). In biofilm, the PCR does not identified HPV in none sample of subjects. The microarray identified the HPV in one (3.3%) subgingival biofilm (HPV6, low risk). We concluded that there was no association between the presence of HPV in the mouth and on the cervix in the studied population.

**Keywords:** Human Papillomavirus 16, periodontal disease, mouth, dental plaque.

## Lista de Figuras

Figura 1 - Organização genômica do HPV, p.25.

Figura 2 - Classificação filogenética do HPV e sua correlação com manifestações clínicas, p.29.

Figura 3 - Layout da lamina que contém os chips de DNA *Papillocheck*®, p.75.

Figura 4 - Sequencia da rotina para a reação do microarranjo, p.76.

## Lista de Quadros

Quadro 1 - Classificação das anormalidades celulares, de acordo com o sistema de Bethesda, p. 31.

Quadro 2 - Estudos que buscaram a presença do HPV na região genital de adolescentes, p. 37.

Quadro 3 - Estudos que compararam a infecção pelo HPV em grávidas e não grávidas, p. 43.

Quadro 4 - Estudos que investigaram a infecção pelo HPV em boca, p. 45-47.

Quadro 5 - Estudos que buscaram a associação da infecção pelo HPV com a Doença Periodontal, p. 53.

Quadro 6 - Estudos que investigaram a associação entre a infecção pelo HPV em boca e genitália, p. 56-59.

Quadro 7 - Programação do termociclador para os ciclos de PCR determinados pelo fabricante para a técnica do microarranjo - *Papillocheck*<sup>®</sup>, p. 74.

Quadro 8 - Programação do termociclador para os ciclos de PCR convencional com os *primers* genéricos MY09/MY11, p. 79.

## **Lista de Tabelas**

Tabela 1 - Características sócio-demográficas e comportamentais das gestantes adolescentes, p. 81.

Tabela 2. Comparação dos aspectos clínico, citológico e molecular da infecção pelo HPV no colo do útero, p. 83.

Tabela 3 - Aspectos clínicos e citológicos da boca e colo do útero, p. 85.

Tabela 4 - Correlação entre exame clínico genital e citologia esfoliativa em de colo de útero, p. 86.

Tabela 5. Subtipos de HPV encontrados nos esfregaços de colo do útero (microarranjo), p. 88.

Tabela 6 - Correlação entre citologia esfoliativa e o teste do microarranjo em cólo do útero, p. 89.

Tabela 7 - Características clínicas periodontais observadas nas adolescentes grávidas do estudo, p. 91.

Tabela 8 - Associação entre a presença do vírus no colo do útero e a presença de Gengivite e Periodontite, p. 93.

## Lista de Abreviaturas e Siglas

Anti-HPV - anticorpo para o vírus do HPV

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASC-US - Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado

AIS - Adenocarcinoma *In Situ*

AGC - Células Glandulares Atípicas

AGC-NOS - Células Glandulares Endocervicais ou Endometriais Atípicas

ASC-H - Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado

CMV – Citomegalovírus

DNA HPV - Ácido Desoxirribonucleico do vírus do papiloma Humano/ *Human papillomavirus Deoxyribonucleic acid*

DP - desvio padrão

DST - Doença Sexualmente Transmissível

EBV - Vírus do Epstein Barr/ *Epstein Barr Virus*

Elisa - teste imunoenzimático/ *Enzyme linked immunosorbent assay*

EUA - Estados Unidos da América

FDA - *Food and Drug Administration*

GM/MS - Gabinete do Ministro/Ministério da Saúde

GT - Grupo de Trabalho

HIV - Vírus da imunodeficiência humana/ *Human Immunodeficiency Virus*

HPV - Vírus do Papiloma Humano/ *Human Papilloma Virus*

HSV- Vírus do Herpes Simples/*Herpes Simplex Virus*

HSIL - Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau

IARC - Agencia Internacional de Pesquisa em Câncer/ *International Agency for Research on Cancer*

ICC - Coeficiente de correlação intra-classe

IgA - Imunoglobulina A

IgG - Imunoglobulina G

Ipv - Índice de placa visível

LCR - *Long Control Region*

LSIL - Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau

nm - nanômetro, unidade de medida

NIC - Neoplasia Intra-Epitelial Cervical

Nic - Nível clínico de inserção

OMS - Organização Mundial da Saúde

OR - taxa de chances/ *Odds Ratio*

PBS - Profundidade de sulco à sondagem

PCR - Reação em Cadeia da polimerase / *Polimerase Chain Reaction*

SCC - Carcinoma de Células Escamosas/*Squamous Cell Carcinoma*

SUS - Sistema Único de Saúde

SS - Sangramento à Sondagem

VPL - Partículas Semelhantes ao Vírus /*virus-like particle*

WHO - *World Health Organization*

## Lista de Símbolos

% - Porcentagem

$\geq$  - maior ou igual

$\leq$  - menor ou igual

® - Marca registrada

$\pm$  - Mais ou menos

---

**SUMÁRIO**

Lista de Figuras .....	xii
Lista de Quadros .....	iii
Lista de Tabelas .....	iv
Lista de Abreviaturas e Siglas .....	v
Lista de Símbolos .....	vii
SUMÁRIO.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	21
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	24
2.1. Generalidades .....	24
2.2. Métodos de Diagnóstico .....	29
2.3. O HPV em região genital.....	35
2.3.1. Adolescentes.....	35
2.3.2. Grávidas .....	40
2.4. O HPV em boca .....	44
2.4.1. HPV nos tecidos bucais.....	44
2.4.2. HPV nos tecidos periodontais .....	51
2.5. Correlação da contaminação do vírus HPV em região genital e boca .....	54
2.6. Prevenção e controle .....	60
3. OBJETIVOS .....	63
3.1. Objetivo Geral: .....	63
3.2. Objetivos Específicos: .....	63
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	64
4.1. Universo Amostral.....	64
4.2. Critérios de Inclusão.....	65
4.3. Critérios de exclusão .....	65
4.4. Tamanho amostral .....	65
4.5. Coleta de dados.....	66
4.5.1. Características sócio-demográficas, comportamentais e dados da história médica .....	66
4.5.2. Dados clínicos.....	66
4.5.2.1. Exame ginecológico.....	66
4.5.2.2. Exame bucal .....	67

4.6. Coleta de material biológico.....	70
4.6.1. Genital.....	70
4.6.2. Bucal .....	71
4.7. Análise laboratorial.....	72
4.7.1. Análise citológica .....	72
4.7.2. Análise molecular.....	73
4.7.2.1. <i>Material coletado pelos esfregaços de colo do útero e boca</i> .....	74
4.7.2.2. <i>Material coletado do Biofilme dental</i> .....	77
4.8. Análise estatística .....	80
5. RESULTADOS .....	81
5.1. Dados da história médica e do exame clínico.....	82
5.2. Pesquisa do HPV nos esfregaços através de citologia.....	82
5.3. Pesquisa do HPV nos esfregaços através da técnica do microarranjo.....	87
5.4. Aspectos clínicos periodontais e pesquisa do HPV no biofilme supragengival e subgengival.....	90
6. DISCUSSÃO .....	94
7. CONCLUSÕES .....	108
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	109
ANEXO A. APROVAÇÃO DO CEP/ME- UFRJ.....	126
ANEXO B. APROVAÇÃO DO CEP/ID'Or .....	126
APÊNDICE A. TCLE.....	126
APÊNDICE B. FICHA DE COLETA DE DADOS.....	127
APÊNDICE C. FICHA DE EXAME PERIODONTAL .....	130
APÊNDICE D. Artigo 1 .....	131
APÊNDICE E. Artigo 2.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>

## 1. INTRODUÇÃO

---

A adolescência e a gestação representam fases influenciadas por mudanças hormonais que predispõem à infecção pelo Vírus do papiloma humano (HPV) na região genital (MORRISON et al., 1996; MOSCICKI et al., 1998; MOSCICKI, 2000; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005; MOSCICKI, 2007). Vários estudos buscaram determinar a natureza da associação entre a infecção pelo HPV na região genital com a boca, tanto em adolescentes (DU et al., 2012), quanto grávidas (SMITH et al., 2004; RINTALA et al., 2006). A natureza dessa associação não se mostra positiva em todos os casos e este fato levantou ainda mais o interesse sobre o entendimento dessa relação, bem como, se o fato de ser adolescente e estar grávida contribuiria essa predisposição e associação. O HPV é um vírus de DNA epiteliotrópico com a capacidade de penetrar no tecido microlesionado e provocar lesões em pele e mucosas (CASTRO; BUSSOLOTI FILHO, 2006). Na maioria dos casos, essas lesões apresentam crescimento limitado e regressão espontânea (CHRISTOPOULOS et al., 2008), no entanto, o HPV pode ser responsável por induzir lesões malignas em região anogenital (ZUR HAUSEN; DE VILLIERS, 1994) e de cabeça e pescoço (SYRJANEN et al., 2004).

A transmissão do HPV ocorre por contato direto com o local infectado, sendo a forma predominante a horizontal, ou seja, através de coito genital, anal e auto-inoculação (ZUR HAUSEN, 1996), seguindo-se da transmissão vertical (COSTA et al., 2010), do contato sexual orogenital (D'SOUZA et al., 2009), beijo (KERO et al., 2012), e raramente por fômites (COSTA et al., 2010).

Dentre os grupos que apresentam alto risco de adquirir a infecção pelo HPV estão as adolescentes sexualmente ativas (MAMMAS; SOURVINOS, 2009). Grávidas também representam um grupo de risco. A gravidez causa influências hormonais características

do período e uma imunodepressão característica que predispõe à infecção pelo HPV (AUTIER et al., 1996).

Acredita-se numa provável co-infecção pelo HPV em boca e genitália em um mesmo paciente (KELLOKOSKI; et al., 1992; PANICI et al., 1992; GIRALDO et al., 2006; TERMINE et al., 2011; DU et al., 2012), muito embora, a infecção possa ocorrer com subtipos virais distintos (KELLOKOSKI et al., 1992), podendo infectar um paciente em mais de uma região com diferentes subtipos virais (BADARACCO et al., 1998; SCHLECHT et al., 2012).

Tem sido sugerido que os tecidos periodontais podem servir como reservatório para o HPV na boca (MADINIER et al., 1992; HORMIA et al., 2005). O vírus pode favorecer a instalação de bactérias periodontopatogênicas ou potencializar a ação virulenta do biofilme bacteriano, porém não foi comprovado se a presença do vírus pode contribuir para a iniciação da doença periodontal (HORMIA et al., 2005; SLOTS, 2010).

A ideia para este estudo começou com a oportunidade para se trabalhar com adolescentes que participam do ambulatório de planejamento familiar da Maternidade - Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Neste ambulatório, existe uma abordagem preventiva das DST (Doenças Sexualmente Transmissíveis) através de dinâmicas em grupo com as adolescentes grávidas. Através dessa experiência, surgiu o questionamento sobre a necessidade de comprovação das informações sobre a infecção pelo HPV na boca de adolescentes. A parceria com os laboratórios surgiu, naturalmente, pelo contato com as pessoas que participavam do programa e se interessavam na investigação.

O objetivo do presente estudo seccional foi buscar a associação da infecção pelo HPV em genital e boca (língua/palato e biofilme dental bacteriano) de adolescentes grávidas assistidas no ambulatório de pré-natal da Maternidade-Escola da Universidade Federal

do Rio de Janeiro. A hipótese nula foi de que não existe associação entre a presença do HPV na boca e no colo do útero.

---

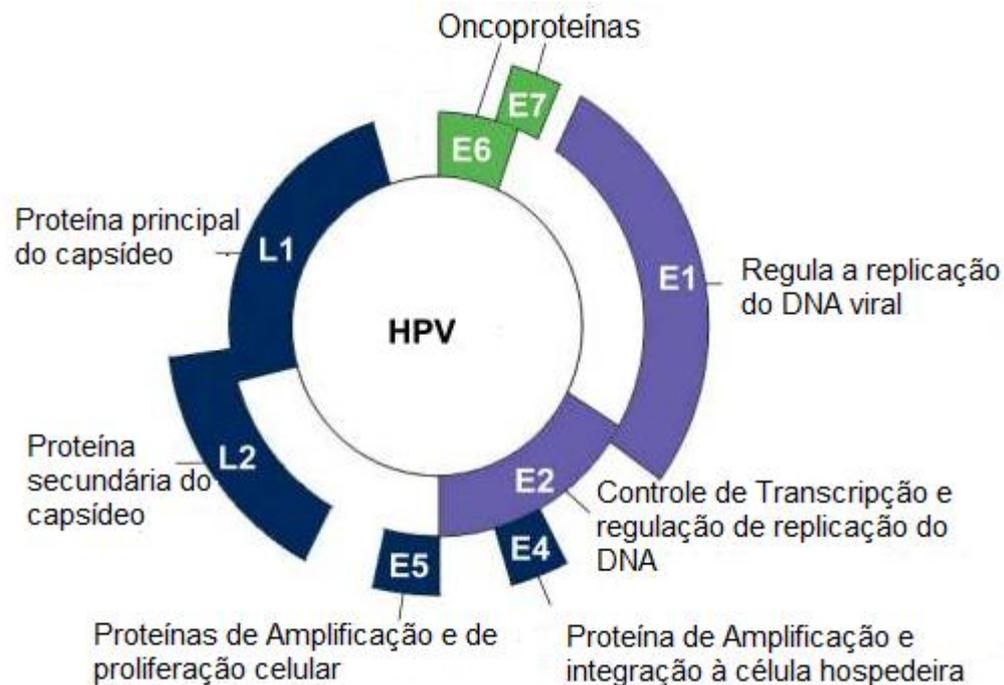
## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Generalidades

O Vírus do Papiloma Humano ou *Human Papillomavirus* (HPV) é um vírus de ácido desoxirribonucleico (DNA) pertencente à família *Papillomaviridae*. É um vírus com formato icosaédrico, encapsulado e não envelopado (DE VILLIERS et al., 2004). Possui tamanho de, aproximadamente, 50 nm em seus maiores diâmetros (SANTOS et al., 2008). Tem peso molecular de 52x10<sup>6</sup> Daltons (DE VILLIERS et al., 2004), densidade de partícula de 1,34g/cm<sup>3</sup> em gradiente de cloreto de cério (SANTOS et al., 2008) e é composto por, aproximadamente 08 mil pares de bases (DE VILLIERS et al., 2004).

A biologia genômica do HPV é regulada, molecularmente, por 07 proteínas iniciais (*Early*): E1 e E2 (modulam a transcrição e replicação do DNA viral); E3 (com função ainda desconhecida), E4 (expressa nas células diferenciadas do hospedeiro); E5, E6, E7 (conhecidas como oncogenes, responsáveis por modular o processo de transformação viral); e 02 proteínas tardias (*Late*) L1 e L2 (estruturais: modulam o processo de composição do capsídeo viral) (DE VILLIERS et al., 2004). Ainda existe na composição do genoma viral a região não-codificadora (LCR –*Long Control Region*), onde se situa a origem da replicação e onde estão os elementos para o controle da transcrição (SANTOS et al., 2008) (**Figura 1**).

O HPV tem tropismo por tecido epitelial, com predileção pelas células da camada germinativa e é capaz de provocar lesões em pele e mucosas, penetrando no tecido através de micro lesões ou micro abrasões. O HPV é incapaz de penetrar, portanto, no epitélio intacto (CASTRO & BUSSOLOTI FILHO, 2006).



**Figura 1.** Organização genômica do HPV. Adaptado de: D'ABRAMO, C.M.; ARCHAMBAULT, J. Small Molecule Inhibitors of Human Papillomavirus Protein - Protein Interactions. *The Open Virology Journal*, v. 5, p. 80-95, 2011.

Alguns estudos sugerem que o vírus penetra no ceratinócito através de receptores, como: alfa-integrinas, lamininas extracelulares, proteoglicanas (RAUTAVA & SYRJANEN, 2011). Contudo, outros estudos mencionam que o HPV pode infectar uma variedade de tipos celulares, não existindo uma ligação sítio-específica do ceratinócito para a penetração do vírus na célula; penetrando nela através de endocitose (SANTOS et al., 2008).

O ciclo de replicação do HPV é dependente do ciclo de diferenciação dos ceratinócitos. Ao penetrar no epitélio lesionado e atingir a camada basal, o vírus entra na célula assumindo forma episossomal. Nessa fase, a replicação viral é considerada não produtiva, ocorrendo apenas a expressão das proteínas precoces (E1, E2, E6 e E7), produzindo

baixo número de cópias virais (20-100 cópias/célula) (RAUTAVA & SYRJANEN, 2011). Clinicamente, essa infecção é caracterizada como **latente** ou **persistente** (ZUR HAUSEN; DE VILLIERS, 1994).

Na maioria dos casos, o HPV origina lesões de crescimento limitado e de regressão espontânea (CHRISTOPOULOS et al., 2008). O período de incubação do HPV no hospedeiro pode durar de 6 semanas a dois anos. A resposta imune celular mostra-se importante para a regressão/resolução da infecção. Já a imunidade humoral impede a disseminação da infecção, além de reduzir a probabilidade de uma nova infecção (SANTOS et al., 2008).

Quando a resolução da infecção não acontece, as células infectadas pelo HPV começam a se diferenciar e migrar para a região suprabasal. As proteínas virais oncogênicas E6 e E7 são expressas, inibindo as proteínas da célula hospedeira responsáveis pela regulação e controle do ciclo celular (p53 e pRb). Ao passo que as células atingem as camadas mais superficiais do epitélio, as proteínas virais do capsídeo (L1 e L2) são expressas e novos vírions do HPV estão prontos para serem esfoliados juntamente com os ceratinócitos (RAUTAVA & SYRJANEN, 2011). Essa liberação parece acontecer de forma passiva e não-citolítica (SANTOS et al., 2008). Nessa fase, mais de 1.000 cópias virais por célula podem estar presentes e a infecção pelo HPV é considerada **produtiva**. É denominada infecção subclínica, podendo ou não causar lesões visíveis (ZUR HAUSEN & DE VILLIERS, 1994).

Na pele, lesões benignas de aspecto plano e verrucoso podem acometer mãos, pés e face, sendo denominadas verrugas vulgares (MAMMAS & SOURVINOS, 2009). Existe uma rara desordem hereditária chamada epidermodisplasia verruciforme que altera o sistema imune e aumenta a susceptibilidade de indivíduos à infecção por vários subtipos de HPV (VAN RANST; KAPLAN; BURK, 1992; ZUR HAUSEN & DE VILLIERS, 1994).

Na região de cabeça e pescoço, o vírus pode originar lesões exofíticas na boca, de fácil identificação, localizadas em qualquer sítio da mucosa que exibem aspecto papilomatoso, denominadas papilomas; e condilomatoso, denominadas condilomas (CASTRO et al., 2009). A hiperplasia epitelial focal, caracterizada como entidade distinta, também HPV-induzida, apresenta-se como múltiplas pápulas ou placas achatadas que podem surgir na mucosa de indivíduos com deficiências nutricionais (SYRJANEN, 2003). Lesões potencialmente malignas têm sido citadas como co-infectadas pelo HPV: leucoplasia e líquen plano oral (SYRJÄNEN et al., 2012). Na orofaringe, tem sido verificada a presença do DNA HPV nas tonsilas palatinas e linguais, podendo estar associado a neoplasias nessa região (SYRJANEN, 2004). Na laringe (cordas vocais, subglote e adenoides), o crescimento de papilomas pode acontecer ocasionando o papiloma de laringe (ou papilomatose laríngea recorrente), que origina obstruções na região de trato respiratório superior (SUMMERSGILL et al., 2001; MAMMAS & SOURVINOS, 2009). Ainda na região de cabeça e pescoço, a infecção pelo HPV pode ocorrer, de forma rara, em conjuntiva ocular (SANTOS et al., 2008).

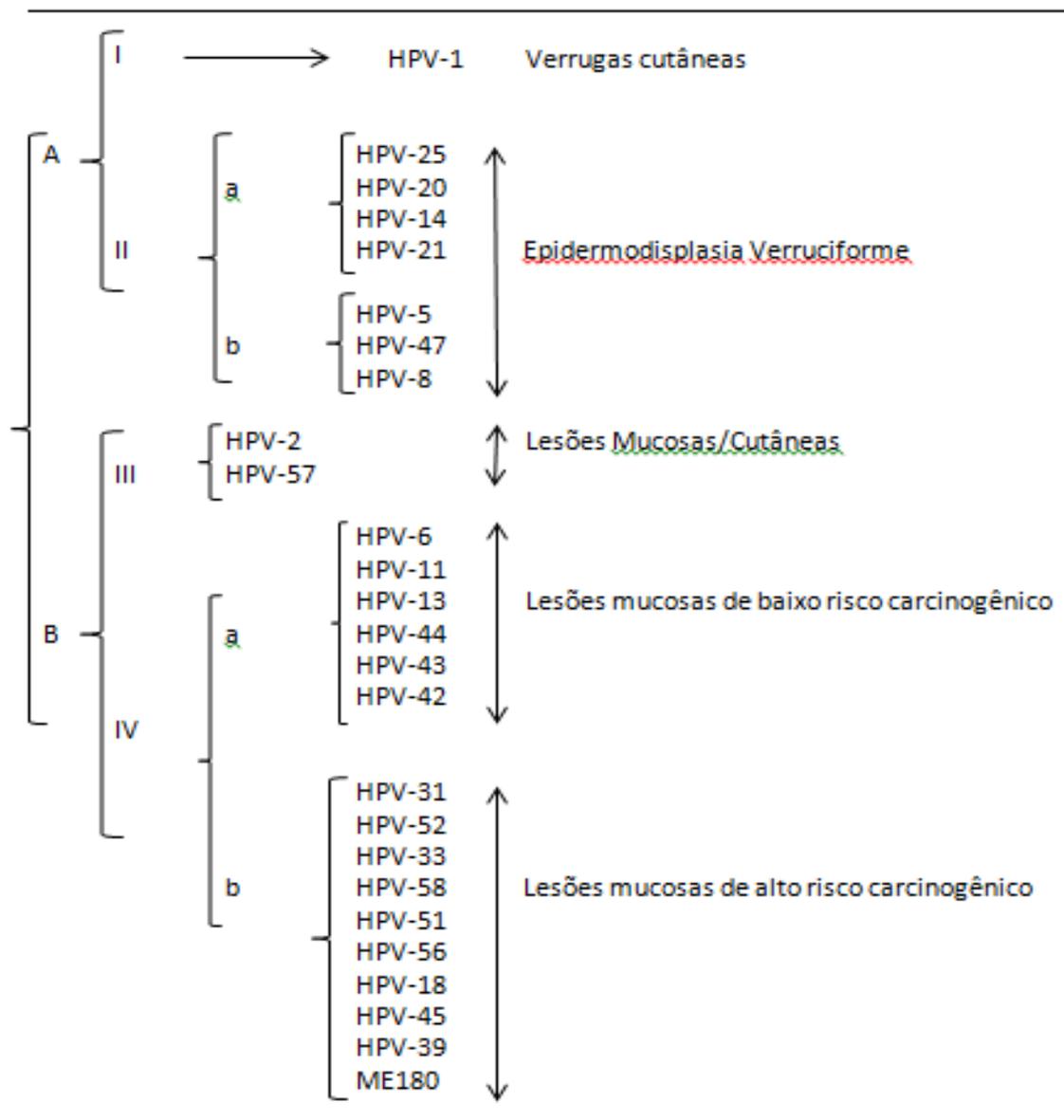
Na região genital, muitas vezes o HPV se encontra subclínicamente, podendo induzir ao aparecimento de lesões benignas, que se apresentam de forma aplainada, com característica assintomática e de curso transitório. As lesões clínicas induzidas pelo HPV possuem aspecto verrucoso denominado condiloma acuminado (ou verruga venérea). Podem acometer a região externa de trato genital, períneo, região intra ou perianal de ambos os sexos. Possuem curso transitório e assintomático, podendo apresentar, no entanto, prurido local (DOMINGO & DY ECHO, 2009). Lesões potencialmente malignas podem acometer essa região de indivíduos infectados pelo HPV, assim chamadas de lesões intraepiteliais (ZUR HAUSEN & DE VILLIERS, 1994).

Existem mais de 100 subtipos virais de HPV e esses são classificados de forma numérica. A necessidade de se classificar o HPV vem da necessidade de se estabelecer a relação (de semelhança ou de diferença) entre os subtipos, estabelecendo uma relação taxonômica de identificação com gênero e espécie, e de se associar a características biológicas e patológicas (DE VILLIERS et al., 2004).

A correlação com alguns subtipos virais de HPV e as manifestações clínicas das lesões induzidas pelo vírus pode ser visualizada na **Figura 2**.

O HPV também é dividido de acordo com seu potencial de induzir lesões benignas ou malignas: os de baixo e os de alto potencial oncogênico (VAN RANST; KAPLAN; BURK, 1992; ZUR HAUSEN, 1996). Os subtipos de baixo potencial oncogênico parecem não oferecer nenhum risco de progressão para malignidade. São responsáveis por 90% das lesões verrucosas e papilomatosas (BROWN et al., 1999). Os vírus de alto potencial são comumente encontrados em lesões potencialmente malignas, responsáveis por aproximadamente 90% das neoplasias de colo do útero (ZUR HAUSEN & DE VILLIERS, 1994; ZUR HAUSEN, 1996) e 40% das neoplasias de pênis (SHUKLA et al., 2009).

Fatores de risco, comportamentais e ambientais, podem estar relacionados com a infecção pelo HPV e assim, desenvolvimento de neoplasias (ZUR HAUSEN & DE VILLIERS, 1994; SYRJANEN, 2004; DOORBAR, 2005). São considerados fatores de risco: a troca frequente de parceiros, início precoce das atividades sexuais, infecção por outras doenças sexualmente transmissíveis, múltiplas gestações, uso de contraceptivos orais, tabagismo, imunossupressão e fatores nutricionais (CASTELLSAGUE; BOSCH; MUN, 2002; WIDDICE & MOSCICKI, 2008; MAMMAS & SOURVINOS, 2009).



**Figura 2.** Classificação filogenética do HPV e sua correlação com manifestações clínicas. Fonte: VAN RANST, M.; KAPLAN, J.B.; BURK, R.D. Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *The Journal of general virology*, v.3, p. 2653-60, out., 1992.

## 2.2. Métodos de Diagnóstico

Lesões clínicas são facilmente diagnosticadas através do exame visual, no entanto, infecções subclínicas requerem diagnóstico através de testes e exames complementares.

Estudos mostram que mulheres que não exibem características clínicas da infecção pelo

HPV podem ter o vírus detectado através de exames laboratoriais (FERNANDES et al., 2009).

Testes inespecíficos podem não identificar alterações celulares que ainda não aconteceram mediante uma infecção latente, por isso a combinação com testes específicos parece ser importante. São citados como testes inespecíficos: a colposcopia com aplicação de ácido acético e esfregaço de Papanicolaou, a citopatologia e a histopatologia. Os específicos são a microscopia eletrônica, a imunocitoquímica e testes para detecção de DNA viral (SANTOS et al., 2008). Métodos de cultura para o HPV ainda não existem (BRINK; SNIJDERS; MEIJER, 2007; ESQUENAZI et al., 2010) pelo fato do vírus se replicar no epitélio escamoso estratificado em diferenciação (SANTOS et al., 2008).

A citopatologia com o esfregaço de Papanicolaou e a biópsia para a avaliação histopatológica são amplamente utilizados como método de rastreamento do câncer na região de colo uterino (ESQUENAZI, 2009). Esses exames podem identificar tanto alterações benignas quanto as características celulares e teciduais potencialmente malignas e malignas (SANTOS et al., 2008).

No teste de Papanicolaou, são identificadas alterações celulares sugestivas de infecção pelo HPV na região genital. Essas alterações são caracterizadas pela presença de coilocitose clássica ou, pelo menos, pela presença de seis dos nove critérios não-clássicos, como: coilocitose leve, diceratose leve, clareamento citoplasmático, grânulos ceratohialinos, estriação citoplasmática, células paraceratóticas, hipercromasia celular, binucleação ou multinucleação, halo perinuclear (SCHNEIDER et al., 1987). O **Quadro 1** mostra a classificação dessas alterações, de acordo com o sistema de Bethesda (“National Cancer Institute Bethesda System,” 2001; SOLOMON et al., 2002).

<i>Diagnóstico</i>		<i>Interpretação</i>
<i>Acrônimo</i>	<i>Descrição</i>	
<b><i>Anormalidades nas células escamosas</i></b>		
<b>ASC-US</b>	Células escamosas atípicas de significado indeterminado	Anormalidades celulares não suficientes para categorizar lesão intraepitelial. Podem ser atribuídas tanto por infecção pelo HPV, como a processos inflamatórios, com outras etiologias. É melhor qualificado com testes de DNAHPV.
<b>ASC-H</b>	Células escamosas atípicas de significado indeterminado - não se pode excluir lesão intraepitelial escamosa de alto grau	Achado similar ao encontrado nas lesões de alto grau (HSIL), mas ainda não satisfazem os critérios para essa lesão. Há chances de uma biópsia da região ter como resultado uma displasia intraepitelial de alto grau de malignidade (NIC 2 ou 3).
<b>LSIL</b>	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau	Alterações celulares consistentes com a infecção pelo HPV. Pode-se sugerir uma displasia intraepitelial de baixo grau de malignidade (NIC1).
<b>HSIL</b>	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau	Alterações celulares pronunciadas. Sugere-se displasia intraepitelial de alto grau de malignidade (NIC 2 ou 3), ou carcinoma <i>in situ</i> .
<b>SCC</b>	Carcinoma de células escamosas	Invasão da membrana basal epitelial
<b><i>Anormalidades nas células glandulares</i></b>		
<b>AGC-NOS</b>	Células glandulares endocervicais ou endometriais atípicas - sem outras especificações	Não existe a clara presença de alterações celulares malignas. Os núcleos das células estão anormais. É exigido acompanhamento.
<b>AGC</b>	Células glandulares atípicas, possivelmente neoplásicas	Alterações de difícil avaliação, pois não se visualiza o canal cervical. Recomenda-se biópsia excisional.
<b>AIS</b>	Adenocarcinoma <i>in situ</i>	Nesses casos, é recomendado colpocitotopia e biópsia excisional.

**Quadro 1.** Classificação das anormalidades celulares, de acordo com o sistema de Bethesda. Fonte: SOLOMON, D. et al. The 2001 Bethesda System Terminology for Reporting Results of Cervical Cytology. **JAMA**, v. 287, p. 2114-2119, 2002.

Na mucosa oral, a aplicação do ácido acético não se constitui como um método bem aceito, uma vez que a boca pode apresentar áreas de hiperqueratinização caracterizadas pelo fumo e trauma mastigatório fisiológico causando confusão diagnóstica (KELLOKOSKI et al., 1990).

Diferente da região genital, onde lesões especificamente HPV-induzidas podem ser diagnosticadas conclusivamente através da análise histológica, em boca, o exame histopatológico não identifica exclusivamente infecção pelo HPV (KELLOKOSKI et al., 1992; CASTRO et al., 2009; XAVIER et al., 2009), uma vez que desordens benignas e potencialmente malignas da cavidade bucal podem exibir alterações citopáticas semelhantes às HPV-induzidas (SYRJÄNEN et al., 2012).

Testes sorológicos permitem detectar anticorpos anti-HPV no plasma em pacientes que tem ou que já tiveram infecção, no entanto, apresenta a desvantagem de ser inespecífico para o sítio do corpo infectado, não faz correlação com tipo específico, além de não ser confiável, visto que é relatado que pacientes que passam pela história natural da doença podem não produzir anticorpos contra a infecção viral (HO et al., 1998; CLIFFORD et al., 2007; RAUTAVA & SYRJANEN, 2011).

A imunocitoquímica procura antígenos de HPV em esfregaços através do emprego de anticorpos específicos para as proteínas virais, no entanto com sensibilidade limitada (SANTOS et al., 2008).

A imuno-histoquímica possui a vantagem de detectar a expressão das oncoproteínas do HPV em células de tecidos. A desvantagem advém da inespecificidade da marcação histoquímica, com uma média de 2% de resultados falso-positivos. (RAUTAVA & SYRJANEN, 2011).

Alguns testes laboratoriais para detecção de DNA viral são realizados através de reações moleculares e considerados “padrão-ouro”, e são Denominadas técnicas de hibridização

do DNA-HPV, que são métodos de hibridização baseados na identificação de DNA viral através de espécimes preparados para histopatologia. Essas técnicas podem ser as de hibridização *in situ*, slot blot, dot blot, southern blot (BRINK; SNIJDERS; MEIJER, 2007; HUBBARD, 2003).

O teste de captura híbrida indica a presença do DNA do vírus através de sinais de amplificação, indicando se o tipo viral presente é de alto ou baixo potencial oncogênico, porém não identifica o subtipo presente (HUBBARD, 2003). É um teste validado e aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o uso em rastreamento de lesões HPV-induzidas de colo do útero (HESSELINK et al., 2010).

A Reação em Cadeia da polimerase (PCR) tem sido considerada como um teste sensível e de excelente desempenho, visto que identifica o genoma do vírus e permite que se saiba seu subtipo com uma simples reação (CASTRO & BUSSOLOTI FILHO, 2006). Foi desenvolvida para identificar subtipos de HPV e utiliza *primers* genéricos extraídos de sequências genéticas comuns a vários subtipos de HPV (ZUR HAUSEN & DE VILLIERS, 1994; BRINK; SNIJDERS; MEIJER, 2007). Os *primers* mais conhecidos e utilizados são GP51/GP61, SPF10, MY09/MY11 e PGMY (HUBBARD, 2003) e também são aprovados pela FDA para o rastreamento de lesões em colo do útero (HESSELINK et al., 2010).

Outras tecnologias para detecção de DNA HPV têm se mostrado mais sensíveis e específicas, uma vez que, além de identificar e genotipar, semi-quantifica ou quantifica a carga viral existente no espécime (HUBBARD, 2003), e identificam múltiplos subtipos virais, caso existam no espécime (BRINK; SNIJDERS; MEIJER, 2007; SHUKLA et al., 2009). São eles: o PCR em tempo real, o microarranjo, o linear array e o luminex.

O microarranjo apresenta-se como uma técnica que parece ser mais sensível quando comparado às técnicas de PCR, pois tem maior poder de identificar o DNA HPV mesmo com baixo número de cópias virais no espécime (SHUKLA et al., 2009). A vantagem da utilização da técnica do microarranjo é sua fácil execução, a presença de controles internos que identificam possíveis erros de execução (controle de amostra, de hibridização, de orientação e de PCR), além da pesquisa de vários subtipos de HPV de maneira simultânea, através de uma única reação. No entanto, tem-se como desvantagem o fato de ser uma tecnologia de alto custo devido à necessidade de ferramenta de bioinformática específica para a leitura e interpretação do teste.

Estudo publicado em 2010 comparou as técnicas de PCR e microarranjo em amostras de colo do útero. No estudo, foram utilizados os *primers* GP51/GP61 para o PCR e foi observado que o microarranjo mostrou índice de sensibilidade/especificidade tão alto quanto o PCR e alto índice de concordância entre si (HESSELINK et al., 2010). Outro estudo que comparou o microarranjo com o PCR (*primers* SPF10, MY09/MY11) e captura híbrida em amostras de colo do útero mostrou que as técnicas possuem sensibilidade e especificidade concordantes entre si (SCHOPP et al., 2009). Tais estudos pontuam o diferencial da técnica de microarranjo o de identificar subtipos de HPV que o PCR não consegue identificar, além de vários subtipos simultaneamente, identificando com maior precisão infecções múltiplas em amostras infectadas por mais de um subtipo (SCHOPP et al., 2009; HESSELINK et al., 2010).

As técnicas de microarranjo e linear array também são comparadas em amostras de colo do útero e parecem fornecer resultados concordantes entre si, no entanto, a dificuldade em se comparar os subtipos virais presentes em cada técnica sugere a necessidade de padronização das técnicas (DALSTEIN et al., 2009; KOIDL et al., 2009).

Na boca, o PCR é uma técnica amplamente utilizada e o microarranjo tem sido mostrado como uma técnica pouco explorada, porém com grande utilidade na odontologia no diagnóstico/acompanhamento de lesões e diagnóstico de infecções de origem viral (GOVINDARAJAN et al., 2012) e bacteriana (HUYGHE et al., 2013).

## **2.3. O HPV em região genital**

### **2.3.1. Adolescentes**

A idade precoce para o início das atividades sexuais tem sido estudada como variável de risco para o aumento da vulnerabilidade em adquirir a infecção pelo HPV (HO et al., 1998; KAHN; ROSENTHAL; JIN, 2008; MAMMAS; SOURVINOS, 2009). No entanto, sugere-se que o aumento da vulnerabilidade em adolescentes meninas não pode apenas ser atribuído a esse comportamento de risco (HWANG et al., 2011). A taxa de incidência entre crianças e adolescentes na região genital é, em média, 38,9% entre adolescentes virgens e 38,8% entre adolescentes sexualmente ativas, sendo sugerido como justificativa para essa equivalência de prevalência outras formas de transmissão como a auto-inoculação, contato sexual sem penetração e sexo orogenital (WINER et al., 2003).

Diferenças biológicas existentes no colo do útero, no que diz respeito à sua composição/maturidade tecidual, parecem influenciar na vulnerabilidade de adolescentes sexualmente ativas em adquirir a infecção pelo HPV em relação às mulheres adultas. O ‘epitélio imaturo’ do colo do útero é aquele que exhibe padrão tecidual com células colunares, enquanto, que o ‘epitélio maduro’ refere-se a um epitélio escamoso (HWANG et al., 2011). Com o avançar da idade, o microambiente

uterino sofre um processo fisiológico de maturação tecidual através da metaplasia escamosa, transformando células colunares em células escamosas (MOSCICKI, 2007).

Mulheres mais jovens possuem maiores taxas de prevalência da infecção pelo HPV em colo do útero do que mulheres com idades mais avançada (WIDDICE; MOSCICKI, 2008). No geral, a aquisição do vírus ocorre, predominantemente, na adolescência com pico da prevalência da infecção com idades igual ou inferior a 25 anos (KREIMER et al., 2004; SMITH et al., 2008; WIDDICE; MOSCICKI, 2008; SCHLECHT et al., 2012). A incidência da infecção pelo HPV em adolescentes varia de 43% (HO et al., 1998) a 70% (MOSCICKI et al., 1998), com uma taxa de risco crescente para a aquisição de novas infecções pelo HPV de aproximadamente 2,9% a cada mês (GIULIANO et al., 2002). A prevalência mostra uma ampla variação, indo de 5,9% (MURTA et al., 2001) a 81,7%, dependendo da população estudada e os meios de diagnóstico utilizados (BROWN et al., 2005).

O **Quadro 2** mostra os estudos que buscaram determinar a incidência e a prevalência em diversas populações de adolescentes, bem como, as características de cada estudo. Cabe observar que a maioria dos estudos considerou a faixa etária que envolve a adolescência diferente daquela considerada pela Organização Mundial de Saúde (2007).

<i>Referência</i>	<i>Tipo de estudo</i>	<i>Tamanho amostral</i>	<i>Faixa etária</i>	<i>Técnica utilizada</i>	<i>Subtipo pesquisado</i>	<i>P (%)</i>
ROSENFELD et al., 1989	seccional	249	13-20	Southern blot	6,11,16 e 18	38,2
MOSCICKI et al., 1990	seccional	661	13-19	Dotblot	16,18,31, 33,35	60
FISHER E ROSENFELD, 1991	seccional	107	14-23	Southern blot	6,11,18, 31,42,45, 56	32
ROSENFELD et al.,1992	seccional	51	13-21	Southern blot	-	56,9
JAMISON et al., 1995	seccional	634	12-19	H. Assay	-	24
MOSCICKI et al., 1998	observacional	618	13-22	Dotblot	-	70
HO et al., 1998	observacional	608	média 20±3	Southern blot	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e W13b	43
MOUNT e PAPILO, 1999	seccional	10.296	10-19	Citologia	-	30
MURTA et al., 2001	retrospectivo	6.498	< 20	Citologia	-	5,9
GIULIANO et al., 2002	observacional	331	18-35	PCR	6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51-59, 66, 68, 73, 82, 83 e 84	42,9
TARKOWSKI et al., 2004	seccional	312	12-19	Citologia e PCR	16,59, 52,35, 58, 39,18, 68, 31,83, 82, 45,51, 55,73, 33,56, 26	51,6
BROWN et al., 2005	observacional	60	14-17	Hibridização reversa	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56,58, 59, 68, 73, 82, 83, e 84	81,7
RAMA et al., 2006	seccional	541	15-25	Citologia e Elisa	16 e 18	20,5
KAHN et al., 2008	seccional	409	13-26	Linear array	6,11, 16 e 18	68
MICALA et al., 2012	seccional	149	13-19	Micro array	6, 11,40, 42,43, 44, 16,18,31, 33, 35,39, 45,51,52, 53, 56,58, 59, 66,68,70, 73, 82	42

**Quadro 2.** Estudos que investigaram a presença do HPV na região genital de adolescentes. P:prevalência, I: incidência

A presença da infecção pelo HPV tem sido associada ao histórico de múltiplos parceiros sexuais ao longo da vida ( $\geq 4$  parceiros) (ROSENFELD et al., 1989; MOSCICKI et al., 1990; JAMISON et al., 1995; COUtlÉE et al., 1997; HO et al., 1998; MOSCICKI et al., 1998; MICHALA et al., 2012). A troca de parceiros em períodos inferiores a um ano também tem sido mostrado como fator comportamental de risco para a infecção pelo HPV (GIULIANO et al., 2002).

O uso de contraceptivos orais também é considerado como fator de risco associado à infecção pelo HPV (MURTA et al., 2001; WIDDICE & MOSCICKI, 2008; SANFILIPPO & LARA-TORRE, 2009). Entretanto, a maioria dos estudos sugere que esse fator não parece determinar a aquisição da infecção viral, sugerindo os demais fatores de risco (MOSCICKI et al., 1990; VAN DOORNUM et al., 1992; JAMISON et al., 1995; MOSCICKI et al., 1998; WINER et al., 2003; MICHALA et al., 2012).

A presença de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), como a tricomoníase, gonorréia e clamídia, é apontada como fator de risco para a infecção pelo HPV em adolescentes (JAMISON et al., 1995; COUtlÉE et al., 1997; KREIMER et al., 2004; SCHLECHT et al., 2012). Embora alguns autores não considerem as DST como risco para a infecção pelo HPV (MOSCICKI et al., 1998).

Ainda em relação aos fatores de risco para o HPV na adolescência, o tabagismo não tem sido considerado como um hábito social de risco para infecção pelo HPV (JAMISON et al., 1995; MOSCICKI et al., 1998; MURTA et al., 2001; SCHLECHT et al., 2012), e a condição socioeconômica também não parece ser uma variável significativa que influencia na infecção pelo vírus (FISHER; ROSENFELD, 1991; COUtlÉE et al., 1997). Em estudos envolvendo adolescentes, o histórico de gestações também não parece ser fator de risco significativo para a infecção pelo HPV (JAMISON et al., 1995; MOSCICKI et al., 1998; MURTA et al., 2001).

O tempo médio de resolução da infecção pelo HPV em adolescentes é variável e mostra diferenças temporais quando se associa o subtipo viral que esta infectando o local. Sugere-se que a infecção pelo vírus apresenta característica transitória em pacientes jovens (ROSENFELD et al., 1992), atribuindo-se à capacidade do sistema imunológico em resolver espontaneamente o curso infeccioso viral (BROWN et al., 2005). Adolescentes podem apresentar a infecção pelo HPV de forma latente, muitas vezes não exibindo lesões genitais induzidas ou alterações celulares através do exame de citologia (ROSENFELD et al., 1989; JAMISON et al., 1995; MOSCICKI et al., 1998; MOUNT; PAPILO, 1999; MURTA et al., 2001; TARKOWSKI et al., 2004; RAMA et al., 2006).

Estima-se que o período médio de resolução ocorre em torno de 08 meses (HO et al., 1998), podendo alcançar 24 a 36 meses (MOSCICKI et al., 1993, 1998). A média do tempo de resolução da infecção pelo HPV de subtipos de alto potencial oncogênico se mostra mais longo, aproximadamente 9 meses, do que a infecção por subtipos de baixo potencial, aproximadamente 4 meses (GIULIANO et al., 2002).

Vários são os subtipos virais pesquisados e identificados, porém, os vários tipos de testes existentes, possuem sondas genômicas distintas, não havendo uma padronização nas pesquisas e, assim, ocorre uma certa dificuldade em se identificar os subtipos mais prevalentes. Sabe-se que, nos estudos que pesquisam um número maior de subtipos virais, os de alto potencial oncogênico podem estar presentes em um número maior de indivíduos (MOSCICKI et al., 1990; FISHER; ROSENFELD, 1991; BROWN et al., 2005; MICHALA et al., 2012), mostrando-se mais persistentes e com maior risco de induzir alterações celulares em relação aos subtipos com baixo potencial oncogênico (HO et al., 1998).

### 2.3.2. Grávidas

No início do período gestacional ocorrem alterações na região genital que culminam com a hipertrofia do colo uterino e migração da zona de transformação. Por volta de 20 semanas de gestação, a junção epitelial escamo colunar torna-se evertida e completamente exposta (MURTA et al., 2001; LOOMIS et al., 2009). Além dessa maior exposição física do colo do útero, influências hormonais e uma imunodepressão características desse período predis põem grávidas à infecção pelo HPV (AUTIER et al., 1996).

Têm-se demonstrado que a prevalência do HPV aumenta com o avançar da idade gestacional, evidenciando-se menores taxas no primeiro trimestre gestacional e pico no terceiro trimestre (SMITH et al., 1991; MORRISON et al., 1996; MURTA et al., 2001). Pode haver a diminuição da carga viral no período puerperal, seguindo-se de auto-resolução da infecção (VERESS et al., 1996; BANURA et al., 2008).

Durante a gestação, a prevalência de lesões condilomatosas pode aumentar com o avançar da idade gestacional, diminuindo significativamente no período pós-parto (SINGHAL; NASWA; MARFATIA, 2009).

Na maioria dos casos, as alterações citopáticas HPV-induzidas são evidenciadas na segunda metade da gestação (MURTA et al., 2001), muitas vezes causadas por subtipos de alto potencial oncogênico (ARMBRUSTER-MORAES et al., 2000).

Grávidas podem estar infectadas pelo vírus apresentando-se assintomáticas, sendo consideradas portadoras do DNA HPV (VERESS et al., 1996; MURTA et al., 2001; LOOMIS et al., 2009; KERO et al., 2011). Aquelas mais jovens ( $\leq 24$  anos) podem apresentar maior ocorrência da infecção (CHANG-CLAUDE et al., 1996; MORRISON et al., 1996; MURTA et al., 2001; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005), mostrando

prevalências entre 49% (ARMBRUSTER-MORAES et al., 2000; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005) e 60% (BANURA et al., 2008).

A presença de outras DST, tais como: infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), sífilis, tricomoníase, clamídia, tem sido descrita como contribuinte para infecção pelo HPV em grávidas (BANURA et al., 2008). No entanto, para um estudo conduzido nos EUA, a presença de outras DST não parece influenciar na aquisição do HPV (LOOMIS et al., 2009).

A etnia, o fator sócio educacional, a idade de início das atividades sexuais, o número de parceiros e histórico de gestações anteriores não se mostram como variáveis de risco para infecção pelo vírus em grávidas (MORRISON et al., 1996; TENTI et al., 1997; KJELLBERG et al., 2000; MURTA et al., 2001; CHAN et al., 2002; SMITH et al., 2004; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005; LOOMIS et al., 2009). Em relação ao tabagismo, os estudos são contraditórios em mostrar esse fator de risco no período gestacional (TENTI et al., 1997; KJELLBERG et al., 2000; CHAN et al., 2002; SMITH et al., 2004; LOOMIS et al., 2009).

Alguns autores compararam a prevalência da infecção pelo HPV em grávidas e não grávidas e tentaram exibir características dessa infecção entre esses dois grupos. Os resultados observados pelos autores são controversos. Alguns sugerem que a taxa de replicação do HPV é maior no período gestacional, exibindo maior razão de chance de grávidas apresentarem a infecção em relação às não grávidas (SCHNEIDER A, HOTZ M, 1987; SOARES et al., 1990 SMITH et al., 1991; GOPALKRISHNA et al., 1995; CHANG-CLAUDE et al., 1996; MORRISON et al., 1996; KJELLBERG et al., 2000; HERNÁNDEZ- MURTA et al., 2001; CHAN et al., 2002; GIRÓN et al., 2005; BANURA et al., 2008; AYDIN et al., 2010; DINC et al., 2010;). No entanto, em um estudo caso-controle em uma população de grávidas italianas foi observado que o

período gestacional se apresenta como fator protetor para a infecção pelo HPV (TENTI et al., 1997). Para outros autores, embora a resposta imunológica à infecção pelo HPV seja menor no período gestacional em relação ao pós-parto (VERESS et al., 1996; SETHI et al., 1998), as diferenças na prevalência da infecção pelo HPV entre mulheres grávidas e não grávidas é muito pequena, dificilmente influenciada por esse período (DE RODA et al., 1995). O **Quadro 3** mostra as características dos estudos acima descritos, bem como os locais de realização dos mesmos e as medidas de associação encontradas.

<i>Referência</i>	<i>Tipo de estudo</i>	<i>Tamanho amostral</i>	<i>Média de Idade<sup>1</sup></i>	<i>Técnica utilizada</i>	<i>P(% G e NG)</i>	<i>MA</i>
SCHNEIDER; HOTZ, 1987	seccional	<b>188</b> 92 G 96 NG	27	Citologia e Southern blot	28 e 12,5	OR=2,2
SOARES et al., 1990	seccional	<b>1.308</b> 748 G 560 NG	33 G e 32 NG	Dot blot	9,6 e 8,9	OR=1
SMITH et al., 1991	seccional	<b>123</b> 69 G e 54 NG	24,7 G e 25,8 NG	Dot blot	15,9 e 14,8	OR=1
DE RODA et al., 1995	seccional	<b>4.657</b> 709 G e 3.948 NG	30	PCR	3,1 e 2,9	OR=1
GOPALKRISHNA et al., 1995	seccional	<b>200</b> 100 G e 100 NG	29	Southern blot	44 e 21	OR=2,1
VERESS et al., 1996	seccional	<b>209</b> 101 G e 108 NG	28	H. <i>in situ</i>	34,6 e 20,4	OR=1,7
CHANG-CLAUDE et al., 1996	seccional	<b>300</b> 108 G e 192 NG	30	H. <i>in situ</i>	13,9 e 15,1	OR=1
MORRISON et al., 1996	seccional	<b>187</b> 114 G e 74 NG	16,9	Southern blot	34,2 e 18,9	OR=2,2
TENTI et al., 1997	caso-controle	<b>1.256</b> 752 G e 504 NG	30 G e 29 NG	PCR	5,4 e 11,3	OR=0,5
ARMBRUSTER-MORAES et al., 2000	seccional	<b>125</b>	NI	Slot-blot	48 (G)	NA
CHAN et al., 2002	seccional	<b>616</b> 308 G e 308 NG	28,9 G e 29,1NG	PCR	5,8 e 7,8	OR=1
HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005	seccional	<b>1.334</b> 274 G e 1060 NG	25,7 G e 26,2 NG	Captura híbrida	36,8 e 14,2	OR=2,6
DINC et al., 2010	seccional	<b>233</b> 134 G e 99 NG	27 G e 24 NG	PCR em tempo real	2,2 e 00	NA
AYDIN et al., 2010	seccional	<b>317</b> 164 G e 153 NG	-	-	29,2 e 19,6	OR=1,5

**Quadro 3.** Estudos que compararam a infecção pelo HPV no colo do útero em grávidas e não grávidas. G: grávidas; NG: não-grávidas; H. *in situ*: Hibridização *in situ*; PCR: Reação da Cadeia em Polimerase; <sup>1</sup>:Em anos; MA: medida de associação; OR: razão de chances; NI: não informado; NA: não aferido.

## 2.4. O HPV em boca

### 2.4.1. HPV nos tecidos bucais

A maioria dos estudos mostra que a boca exibe baixa incidência (PICKARD; XIAO; BROUTIAN, 2012; KREIMER et al., 2013) e baixa prevalência da infecção pelo HPV (LAMBROPOULOS et al., 1997; SUMMERSGILL et al., 2001; KREIMER et al., 2004; KUROSE et al., 2004; DO SACRAMENTO et al., 2006; SMITH et al., 2007a; ESQUENAZI et al., 2010; SAINI et al., 2010; DURZYŃSKA et al., 2011; TURNER et al., 2011; FLAKE et al., 2012; GILLISON et al., 2012; MAMMAS et al., 2012; MARTINELLI et al., 2012; SANDERS; SLADE; PATTON, 2012; TRISTÃO et al., 2012). No entanto, outros observaram uma alta prevalência do DNA do HPV na mucosa clinicamente normal de pacientes saudáveis (LAWTON et al., 1992; TERAJ et al., 1999; GONZÁLEZ-LOSA et al., 2008).

A prevalência da infecção pelo HPV na boca varia de 0 (ESQUENAZI et al., 2010) a 81% (TERAJ et al., 1999). Acredita-se que a boca sirva como reservatório para o vírus, apresentando curso transitório (MADINIER et al., 1992; KUROSE et al., 2004; HORMIA et al., 2005), estando na maioria das vezes de forma latente na mucosa, com baixo número de cópias e de forma assintomática (TERAJ et al., 1999; SHETTY; CHATTOPADHYAY; LEIGH, 2005; GONZÁLEZ-LOSA et al., 2008; FELLER et al., 2009; SAINI et al., 2010; GICHKI et al., 2012; TRISTÃO et al., 2012). O **Quadro 4** mostra estudos realizados que buscaram a infecção pelo HPV em boca, bem como suas características.

<i>Referência</i>	<i>país</i>	<i>Desenho do estudo</i>	<i>Tamanho da amostra</i>	<i>Idade(i)</i>	<i>Tipo de coleta</i>	<i>Método de detecção</i>	<i>Infecção múltipla</i>	<i>Genótipos</i>	<i>I(%)</i>	<i>P(%)</i>
LAWTON et al., 1992	Austrália	CS	60	NR	bochecho esfregaço biópsia	NR	-	-	-	51% 45% 12%
LAMBROPOULOS et al., 1997	Grécia	CS	169	14-85	esfregaço	hibridização DNA-DNA	-	-	-	9.5%
COUPLÉE et al., 1997	Canadá	CS	315: 201 HIV <sup>+</sup> 114 HIV <sup>-</sup>	16-60 média 36,7±9,3	esfregaço	PCR	01 paciente	16, 33, 35	-	10.2% 14.4% 2.6%
TERAI et al., 1999	Japão	CS	37	22-48 Média 32	esfregaço biópsia de verrugas	PCR	17 pacientes	18, 61, 59,16, 6	-	81%
SUMMERSGILL et al., 2001	EUA	CS	268	2 ≤ i ≤ 13 a 20	bochecho	hibridização DNA-DNA	-	6, 17, 16, 18	-	6% 0.8% ≤ 2 5.2% ≥ 13-20
KUROSE et al., 2004	EUA	CS	586: 396 HIV <sup>+</sup> 190 HIV <sup>-</sup>	0 ≤ i ≤ 60 Mediana 40.6	esfregaço bochecho	PCR, Elisa, hibridização DNA-DNA	-	Alto potencial, NR	-	2.1% 6.3%
SHETTY; CHATTOPADHYAY; LEIGH, 2005	EUA	CS	379 HIV <sup>+</sup>	32 ≤ i ≤ 48	biópsia de verrugas	PCR	01 paciente	7, 32	-	3.1%
DO SACRAMENTO et al., 2006	Brasil	CS	50	16-52	esfregaço	hibridização DNA-DNA	-	16, 18, 52, 61	-	5.2%
SOSORBARAM et al., 2006	Mongólia	CS	192	01-20	esfregaço	PCR	37 pacientes	16, 4 18	-	25%

**Quadro 4.** Estudos que investigaram a infecção pelo HPV em boca. CS: seccional; CC: caso-controle; R: retrospectivo; FU: longitudinal; HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana; DNA: Ácido Desoxirribonucleico; EUA: Estados Unidos da América; PCR: Reação de cadeia em polimerase; I: incidência; P: prevalência; NR: Não Reportado.

SMITH et al., 2007	EUA	CS	1235	<01-20	bochecho esfregaço	hibridização DNA-DNA	-	6, 16, 18, 56, 58, 70	-	1.9%
GONZÁLEZ-LOSA et al., 2008	México	CS	77	19-64 Média 34	esfregaço	Captura híbrida	-	Alto potencial (NR)	-	1,2%
ESQUENAZI, 2010	Brasil	CS	60	20-31	esfregaço	PCR	-	-	-	00%
SAINI et al., 2010	Malásia	CS	70 mães 46 filhos	mães (30-60) filhos (1-18)	esfregaço	Captura híbrida	-	-	-	5,71% mães 2,17% filhos
DURZNSKA et al., 2011	Polônia	CS	4150	10-18	bochecho	PCR	-	6, 11, 12, 57	-	1,0%
PINHEIRO et al., 2011	Brasil	CC	100: 50 HIV <sup>+</sup> 50 HIV <sup>-</sup>	03-13	esfregaço	PCR	01 paciente	6,11	-	12% HIV <sup>+</sup> 6% HIV <sup>-</sup>
TURNER et al., 2011	EUA	CS	151	18-64	saliva estimulada	PCR	-	16	-	2.6%
TRISTÃO et al., 2012	Brasil	CS	125	17-54	esfregaço	PCR	-	-	-	23.2%
STEINAU et al., 2012	EUA	CS	100	Média 42	bochecho gargarejo	<i>Linear array</i>	17 pacientes	84, 83, 89, 55, 69, 62, 72, 35	-	39% 12.9%
GILLISON et al., 2012	EUA	CS	5579	14-69	bochecho gargarejo	<i>Linear array</i>	-	16,18, 41, 37, 35	-	6.9%

Continuação: **Quadro 4.** Estudos que investigaram a infecção pelo HPV em boca. CS: seccional; CC: caso-controle; R: retrospectivo; FU: longitudinal; HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana; DNA: Ácido Desoxirribonucleico; EUA: Estados Unidos da América; PCR: Reação de cadeia em polimerase; I: incidência; P: prevalência; NR: Não Reportado.

BEACHLER et al., 2012	EUA	CS	645: 379 HIV <sup>+</sup> ; 266 HIV <sup>-</sup>	Média 42	bochecho gargarejo	hibridização DNA-DNA	90 pacientes	16	-	34%
MAMMAS et al., 2012	Creta	R	190	12-14	biópsia	PCR	-	11, 16	-	8.4%
MARTINELLI et al., 2012	Itália	CS	177	0-6 meses	esfregaço	<i>Nested-PCR</i>	-	16,18 31,33 58, 81 84,27	-	14.1%
PICKARD et al., 2012	EUA	FU	1000	18-30	bochecho	PCR	-	NR	5.7%	2.4%
SANDERS et al., 2012	EUA	CS	4846	14-69	bochecho gargarejo	Luminex	-	16, 55 62, 66	-	7.3%
FLAKE et al., 2012	EUA	R	118	02-17	saliva estimulada	PCR	-	16,18	-	2.5%
READ et al., 2012	Austrália	CS	500: 249 HIV <sup>+</sup> ; 251 HIV <sup>-</sup>	27-45	esfregaço bochecho	PCR	21 pacientes	16, 18	-	33.6% 13.2%
GICHKI et al., 2012	Paquistão	CS	200	18-69	esfregaço	PCR tempo real	01 paciente	16, 18	-	24.5%
CHEN et al., 2013	EUA	CS	524: 349 saudáveis; 156carcinoma;	19-89	saliva	PCR tempo real	-	16	-	0% 16,7%
KREIMER et al., 2013	Brasil, México e EUA	FU	1626	18-73	bochecho gargarejo	<i>Linear array</i>	-	16	-	4,4%

Continuação: **Quadro 4.** Estudos que investigaram a infecção pelo HPV em boca. CS: seccional; CC: caso-controle; R: retrospectivo; FU: longitudinal; HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana; DNA: Ácido Desoxirribonucleico; EUA: Estados Unidos da América; PCR: Reação de cadeia em polimerase; I: incidência; P: prevalência; NR: Não Reportado.

A incidência do DNA HPV em boca de adolescentes tem sido relatada entre 0 (WINER et al., 2003) e 37% (RINTALA et al., 2005), exibindo taxa de prevalência de baixa à nula (WINER et al., 2003; SCHLECHT et al., 2012).

Os estudos tem se mostrado controversos quando tentam mostrar a idade mais vulnerável para a infecção do vírus na boca. Alguns autores relataram uma maior prevalência do HPV na boca entre os mais jovens, com idade <18 anos (SMITH et al., 2007a; DURZYŃSKA et al., 2011; MAMMAS et al., 2012; SCHLECHT et al., 2012), com diminuição da prevalência do vírus com o avançar da idade (CAÑADAS et al., 2004). Outros autores encontraram a maior prevalência ocorrendo em pacientes com mais de 45 anos (LAWTON et al., 1992; LAMBROPOULOS et al., 1997).

Ainda não se conhece a real forma de aquisição do vírus na boca. Os estudos que buscaram encontrar as formas de transmissão encontraram o beijo francês (beijo de língua), o contato sexual orogenital (PICKARD; XIAO; BROUTIAN, 2012) e o número de parceiros (KREIMER et al., 2004; DO SACRAMENTO et al., 2006; D'SOUZA et al., 2009; HECK et al., 2010; BEACHLER et al., 2012; GILLISON et al., 2012; PICKARD; XIAO; BROUTIAN, 2012; READ et al., 2012; SANDERS; SLADE; PATTON, 2012; SCHLECHT et al., 2012; STEINAU et al., 2012). Existem, entretanto, estudos que não observaram associação positiva do sexo orogenital com a infecção pelo HPV em boca (COUTLÉE et al., 1997; WINER et al., 2003; GIRALDO et al., 2006; TERMINE et al., 2009, 2011; BEACHLER et al., 2012; TRISTÃO et al., 2012), nem com o alto número de parceiros (GIRALDO et al., 2006; TERMINE et al., 2011; GILLISON et al., 2012).

A infecção pelo HPV na boca parece não mostrar predileção pelo gênero (DU et al., 2012; GICHKI et al., 2012). No entanto, tem sido observado que indivíduos do gênero masculino apresentam risco maior de aquisição da infecção, não explicado por fatores

sociais e comportamentais como status educacional, tabagismo, início precoce das atividades sexuais (COUPLÉE et al., 1997; DURZYŃSKA et al., 2011; GILLISON et al., 2012; SANDERS; SLADE; PATTON, 2012). Contudo, quando uma população jovem foi analisada, as meninas pareceram mostrar maior prevalência do vírus na boca quando foram comparadas com os meninos (SMITH et al., 2007a).

O tabagismo e o consumo de álcool são variáveis também observadas nos estudos em busca de hábitos sócio - comportamentais que expõem o meio oral à infecção pelo HPV. A maioria dos autores não encontrou o DNA do HPV em amostras de boca de pacientes que bebiam (DO SACRAMENTO et al., 2006; KUROSE et al., 2004; TERMINE et al., 2011) ou fumavam (KUROSE et al., 2004; GIRALDO et al., 2006; DO SACRAMENTO et al., 2006; SMITH et al., 2007b; CASTRO et al., 2009; TERMINE et al., 2011; BEACHLER et al., 2012; GILLISON et al., 2012; PICKARD; XIAO; BROUTIAN, 2012; TRISTÃO et al., 2012; ZONTA et al., 2012). No entanto, dois estudos encontraram a associação do fumo com a presença do vírus na boca (GICHKI et al., 2012); um deles observou que o tabagismo aumentava as chances de aquisição do HPV em 2,2 vezes em relação a pacientes que não fumavam (READ et al., 2012).

Estudos sugerem que na região de cabeça e pescoço, a infecção pelo vírus ocorre em maior frequência na região de orofaringe (DO SACRAMENTO et al., 2006), uma vez que os tumores infectados pelo HPV desta região estão na base de língua e tonsilas (CHANG et al., 1991; HECK et al., 2010; RAUTAVA; SYRJANEN, 2011; PICKARD; XIAO; BROUTIAN, 2012).

Embora seja comum a presença de múltiplos subtipos co-infectando a região genital, na boca poucos estudos mostram a presença de mais de um subtipo viral co-infectando a mucosa bucal (COUPLÉE et al., 1997; TERAJ et al., 1999; SHETTY; CHATTOPADHYAY; LEIGH, 2005; PINHEIRO et al., 2011; BEACHLER et al.,

2012; READ et al., 2012;; STEINAU et al., 2012). Os estudos que identificaram a presença de HPV na boca e que realizaram genotipagem dessas amostras observaram que os subtipos de alto potencial oncogênico estão entre os mais presentes (COUTLÉE et al., 1997; DU et al., 2012; SANDERS; SLADE; PATTON, 2012). O HPV16 mostra-se como o mais prevalente seguido do subtipo HPV18 (SUMMERSGILL et al., 2001; KUROSE et al., 2004; KREIMER et al., 2004; DO SACRAMENTO et al., 2006; SOSORBARAM et al., 2006; SMITH et al., 2007a; BEACHLER et al., 2012; DU et al., 2012; GILLISON et al., 2012). Apenas dois estudos identificaram o HPV18 como o mais prevalente (TERAI et al., 1999; GICHKI et al., 2012).

Assim como na região genital, a infecção pelo HPV na boca parece ser mais comum em indivíduos imunologicamente comprometidos (HIV positivos) do que em indivíduos que são imunocompetentes (COUTLÉE et al., 1997; KREIMER et al., 2004; BEACHLER et al., 2012; STEINAU et al., 2012). Nos indivíduos HIV positivos, parece haver uma maior persistência da infecção viral na boca (READ et al., 2012) e o surgimento de lesões induzidas pelo vírus, mesmo naqueles que fazem uso de terapia anti-retroviral, parece ser mais comum do que em indivíduos saudáveis (LEIGH, 2000; GREENSPAN et al., 2001; KING et al., 2002; SHETTY; CHATTOPADHYAY; LEIGH, 2005). Entretanto, um estudo realizado no Brasil, os autores não encontraram associação significativa da presença do HPV na boca de crianças HIV positivas em relação as crianças HIV negativas (PINHEIRO et al., 2011).

Diferentes métodos de coleta (através de esfregaços, bochechos com e sem gargarejo, e saliva) dificultam a comparação entre os estudos e a chegada de um consenso e em relação a região específica que onde o vírus tenha preferência na boca (LAWTON et al., 1992). Amostras de bochecho parecem fornecer maior quantidade e qualidade celulares, no entanto, caso a amostra tenha a presença do vírus, nesse tipo de coleta, não se tem

como saber qual a origem da célula infectada pelo vírus, dificultando a identificação do local da mucosa que está infectado pelo HPV (STEINAU et al., 2012; TRISTÃO et al., 2012).

#### **2.4.2. HPV nos tecidos periodontais**

A doença periodontal é caracterizada por ser uma entidade infecto-inflamatória, ocasionada por bactérias específicas que interagem entre si, culminando na destruição dos tecidos de suporte do dente (LINDHE; LANG; KARRING, 2010).

Já é estabelecido que o biofilme bacteriano dental é o fator etiológico primário da doença periodontal (LINDHE; HAMP; LOE, 1973). A susceptibilidade do indivíduo, bem como características sistêmicas são fatores associados à instalação, a progressão, e a gravidade da doença periodontal (LINDHE; LANG; KARRING, 2010).

Sabe-se que as células gengivais possuem receptores específicos para os hormônios ovarianos (progesterona e estrógeno). O modelo de doença periodontal, durante surtos hormonais como os que acontecem na adolescência, no ciclo menstrual e na gestação, está amparado na ação dos hormônios esteroidais nos receptores dessas células (KUMAR, 2013) e na resposta imunomoduladora indutora desses hormônios influenciando na susceptibilidade e na resistência à infecções (KLEIN, 2000). No entanto, não existem dados que evidenciam a alteração da composição do biofilme subgengival frente aos picos hormonais nessas fases da vida da mulher (KUMAR, 2013).

Os vírus têm sido sugeridos como facilitadores da instalação e da ação de bactérias periodontopatogênicas no periodonto, alterando mecanismos de autodefesa, favorecendo a multiplicação e desenvolvimento da doença periodontal em indivíduos susceptíveis (SLOTS, 2010).

Da família do *Herpesviridae*, os Herpes simples vírus, Citomegalovírus e Epstein-Barr vírus têm sido associados com a doença periodontal. O DNA desses vírus tem sido detectado no tecido gengival, fluido gengival crevicular e no biofilme subgengival de sítios periodontais doentes (CAPPUYNS; GUGERLI; MOMBELLI, 2005).

Tem sido sugerido que os tecidos periodontais podem servir como reservatório para o HPV na boca (MADINIER et al., 1992), estabelecendo-se de forma latente no local, estando habitualmente em baixo número de cópias virais/célula (CONTRERAS et al., 1999; HORMIA et al., 2005). A presença do HPV pode favorecer a instalação de bactérias periodontopatogênicas ou potencializar a ação virulenta do biofilme bacteriano subgengival (SLOTS, 2010). O HPV pode residir silenciosamente (em baixos níveis) como membro da microbiota subgengival (LINDHE; LANG; KARRING, 2010).

Em indivíduos com gengivite, os resultados são controversos, pois alguns autores relatam que o HPV parece não estar presente em sítios exibindo gengivite (PARRA; SLOTS, 1996) e outros relatam que o HPV pode estar presente em até 100% dos sítios de inflamação gengival (MADINIER et al., 1992). Vale ressaltar que nesse último estudo que a amostra era composta de apenas 02 pacientes com gengivite.

Pacientes com periodontite, nas formas crônica e agressiva, podem exibir o HPV em 16,6% e 50% em fluido gengival crevicular de sítios inflamados, respectivamente (MADINIER et al., 1992; PARRA; SLOTS, 1996; HORMIA et al., 2005). Entretanto, em outro estudo, uma prevalência nula do vírus foi observada em tecido gengival biopsiado de pacientes com periodontite (HOREWICZ et al., 2010).

Pacientes com imunossupressão sistêmica (HIV positivos, transplantados) ou fazendo uso de agentes imunossupressores (ciclosporina) mostram-se mais propensos a

infecções pelo HPV em sítios periodontais (MADINIER et al., 1992; SAĞLAM et al., 1996; BUSTOS et al., 2001; ESCALONA et al., 2011).

Sugere-se que a coleta do fluido gengival crevicular também possa servir como um meio não invasivo de se identificar a infecção pelo HPV (PARRA E SLOTS, 1998; ESCALONA et al., 2012). O **Quadro 5** mostra as características dos estudos que objetivaram encontrar algum tipo de relação entre a doença periodontal e a infecção pelo HPV.

<i>Referência</i>	<i>Característica da doença/Tamanho da Amostra</i>	<i>Tipo da amostra</i>	<i>Método de detecção</i>	<i>Prevalência da Doença periodontal (%)</i>	<i>Associação</i>
MADINIER et al., 1992	Gengivite/ 02 Periodontite agressiva/ 02 Periodontite crônica/ 02 Gengivite em paciente HIV +/- 10	Biópsia gengiva	H. DNA-DNA	Gengivite:100 Periodontite agressiva:50 periodontite crônica:16,6 Gengivite HIV+:20	<b>positiva</b>
PARRA e SLOTS, 1998	Gengivite/ 26 Periodontite/30	Fluido gengival	<i>Nested-PCR</i>	Gengivite:00 Periodontite:17	<b>positiva</b>
BUSTUS et al., 2001	Gengivite hiperplásica/ 13 Gengiva sadia de grupo controle/ nº não reportado	Biopsia gengiva	<i>H. in Situ</i>	Gengivite:92 Gengiva saudável: 00	<b>positiva</b>
HORMIA et al., 2005	Periodontite crônica/ 38	Biopsia gengiva	<i>H. in Situ</i>	26	<b>positiva</b>
HOREWICZ et al., 2010	Periodontite crônica/ 66 Gengivite/ 26 Periodonto saudável/ 22	Biópsia gengiva	PCR tempo real	00	negativa
ESCALONA et al., 2011	Periodontite em paciente HIV+/20 Periodontite em paciente HIV-/07 Periodonto saudável e HIV-/07	Fluido gengival	PCR	Periodontite em paciente HIV+:30 Periodontite em paciente HIV-:00 Periodonto saudável e HIV-:00	negativa

**Quadro 5.** Estudos que buscaram a associação da infecção pelo HPV com a Doença Periodontal. P:prevalência; H.: Hibridização; HIV +: Vírus da Imunodeficiência Humana positivo; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase.

## 2.5. Associação da infecção pelo HPV em região genital e boca

A associação da contaminação do vírus HPV entre a boca e a região genital em um mesmo paciente foi pela primeira vez estudada da década de 1990. Um estudo transversal de validação analisou, através de testes moleculares, a boca de mulheres com história de infecção genital pelo vírus (KELLOKOSKI et al., 1990). Um por cento das amostras de citologia e 10% de amostras de tecido de boca apresentavam o DNA HPV, identificado através da hibridização *dot blot* e mostrou que a infecção pelo HPV na região genital não mostrava associação com a infecção em boca (KELLOKOSKI et al., 1990). Alguns estudos que se seguiram obtiveram resultados semelhantes (KELLOKOSKI et al., 1992; VAN DOORNUM et al., 1992; XAVIER et al., 2007; CASTRO et al., 2009; TERMINE et al., 2009; XAVIER et al., 2009; SAINI et al., 2010). Em grávidas, também parece não ocorrer a associação da presença do HPV nos tecidos bucais e genitais (SMITH et al., 2004).

Em contrapartida, alguns outros estudos encontraram uma provável associação positiva da infecção pelo HPV em boca e genitália (KELLOKOSKI; et al., 1992; PANICI et al., 1992; GIRALDO et al., 2006; TERMINE et al., 2011; DU et al., 2012; ADAMOPOULOU et al., 2013; BEDER RIBEIRO et al., 2013), muito embora, a infecção possa ocorrer com subtipos virais distintos (KELLOKOSKI et al., 1992), podendo infectar um paciente em mais de uma região com diferentes subtipos virais (BADARACCO et al., 1998; SCHLECHT et al., 2012). Isto sugere mecanismos diferentes de aquisição viral nos dois locais (WINER et al., 2003).

A auto inoculação e práticas de sexo orogenital têm sido sugeridos como fatores responsáveis pela associação da presença do DNA HPV em boca e genitália em um mesmo paciente (KELLOKOSKI et al., 1992; ZONTA et al., 2012). A associação pode acontecer não apenas por fatores externos e comportamentais, estando essa relação de

prevalência e concordância viral influenciados pela resposta imunológica do indivíduo (TERMINE et al., 2011). Pacientes que produzem altos níveis de anticorpos possuem maior capacidade imunológica contra a persistência da infecção pelo HPV e proteção contra nova incidência da infecção do que pacientes que produzem baixos níveis de anticorpos que, por conseguinte, tornam-se mais susceptíveis à uma nova incidência de infecção quando ocorre nova exposição ao vírus (PAASO et al., 2011).

Para Rintala et al. (2005), a persistência da infecção em boca e genitália de indivíduos jovens acontece em, aproximadamente, 11% dos casos e, em boca parece ter um tempo maior de duração da infecção do que em genital. No entanto, a auto resolução da infecção parece seguir curso similar nas duas regiões: aproximadamente 30 meses após a incidência da infecção.

Entre casais, a concordância da infecção pelo HPV em boca e genital parece não existir (KERO et al., 2011; PAASO et al., 2011) e, quando ocorre, fica associado ao histórico de contato sexual com mais de seis parceiros ao longo da vida (KERO et al., 2011). O uso de camisinha entre casais parece ser um método de prevenção da infecção (BEDER RIBEIRO et al., 2013). A razão de chances do mesmo subtipo de HPV infectar a boca de cônjuges é 4,3 vezes maior do que em indivíduos que não tem parceiros fixos, muito embora não exista a associação da infecção entre a região genital e a boca, em ambos os sexos (RINTALA et al., 2006).

O quadro 6 mostra detalhes dos estudos que comparam a região genital e bucal, exibindo características do desenho, da população e testes laboratoriais utilizados para a identificação viral.

Referência	País	Desenho do estudo	População	Tamanho da amostra	idade (média±DP)	Tipo de coleta e sítio anatômico		Método de Detecção	Associação
						Boca	Genital		
KELLOKOSKI et al., 1990	Finlândia	seccional	Mulheres	315	20-57 (30,8±7,5)	esfregaços e biópsias na mucosa normal orientada pela coloração obtida após aplicação de ác. acético 3%	infecção diagnosticada anteriormente	Citologia, Histologia, DB e SB	Negativa
KELLOKOSKI et al., 1992a	Finlândia	seccional	Mulheres	272	NR	biópsia de mucosa normal (212)/ Lesões HPV-induzidas (60)	infecção diagnosticada anteriormente	Histologia e SB	<b>Positiva</b>
KELLOKOSKI et al., 1992b	Finlândia	seccional	Mulheres	309	NR	esfregaços de mucosa normal	infecção diagnosticada anteriormente	Citologia e DB	<b>Positiva</b>
PANICI et al., 1992	Itália	seccional	Homens e mulheres	101	NR	esfregaços e biópsias de verrugas	biópsias de verrugas	Histologia e IH	<b>Positiva</b>
VAN DOORNUM et al., 1992	Holanda	longitudinal	Homens e mulheres	176	mulheres: (28) homens: (39)	esfregaços de língua e mucosa bucal	esfregaços/ mulheres: colo do útero, lábios menores e reto. Homens: uretra, sulco coronal e reto.	PCR	Negativa
SARRUF AND DIAS, 1997	Brasil	seccional	Homens e mulheres	77	13-70	esfregaços orientados pela aplicação do ácido acético 2% / biópsias de lesões	casos: histórico de infecção pelo HPV controles: sem história de infecção	Citologia e IH	-

**Quadro 6.** Estudos que investigaram a associação da infecção pelo HPV em boca e região genital. DB: hibridização dot blot; SB: hibridização southern blot; PCR: Reação em Cadeia da polimerase; IH: hibridização *In situ*; RH: hybridization reversa; RT-PCR: Reação em cadeia da Polimerase em tempo real; HC: Captura Híbrida; N-PCR: Reação em Cadeia da polimerase; II: Imunofluorescência Indireta.

BADARACCO et al., 1998	Itália	seccional	Mulheres	29	21-48 (34)	esfregaços, dorso de língua e palato	esfregaços, vulva, vagina e colo do útero	dot blot reverso	Negativa
WINER et al., 2003	EUA	longitudinal	Mulheres	553	18-20 (19,2 ± 0,5)	escovação da mucosa bucal normal	esfregaços, vulva, vagina e colo do útero	DB	Negativa
CAÑADAS et al., 2004	Espanha	seccional	Mulheres profissionais do sexo	188	19-49	escovação da mucosa bucal normal	esfregaços, vulva, vagina e colo do útero	PCR	Negativa
SMITH et al., 2004	EUA	seccional	Mulheres grávidas e parceiros	577	18-45	bochecho e gargarejo	esfregaços, vulva, vagina e colo do útero	DB	Negativa
RINTALA et al., 2005	Finlândia	longitudinal	Crianças	324	0-3	esfregaços, boca sem tocar na língua	esfregaços meninas: lábios meninos: escroto e prepúcio	N- PCR	<b>Positiva</b>
RINTALA et al., 2006	Finlândia	longitudinal	Mulheres grávidas e parceiros	462	mulheres 25,5 ± 3,4 homens 28,8 ± 5,0	esfregaços, mucosa bucal	esfregaços mulheres: colo do útero homens: uretra	N-PCR	Negativa
GIRALDO et al., 2006	Brasil	seccional	Mulheres	140	27,7 ± 6,5	esfregaços:mucosa bucal	casos: lesões HPV-induzidas no colo do útero Controles: Ausência de lesões no colo do útero	Citologia e PCR	<b>Positiva</b>

Continuação: **Quadro 6.** Estudos que investigaram a associação da infecção pelo HPV em boca e região genital. DB: hibridização dot blot; SB: hibridização southern blot; PCR: Reação em Cadeia da polimerase; IH: hibridização *In situ*; RH: hybridization reversa; RT-PCR: Reação em Cadeia da polimerase em tempo real; HC: Captura Híbrida; N-PCR: Reação em Cadeia da polimerase *Nested*; II: Imunofluorescência Indireta.

XAVIER et al., 2007	Brasil	seccional	Homens	10	15-60 (31,4 ± 10)	em lesões presentes: biopsia ausência de lesões: sfregações na língua, palato e mucosa jugal	biopsia, condilomas	line blot	Negativa
XAVIER et al., 2009	Brasil	seccional	Homens	30	18-56 (29,3)	em lesões presentes: biopsia ausência de lesões: sfregações na língua, palato e mucosa jugal	biopsia, condilomas anogenitais	RH	Negativa
CASTRO et al., 2009	Brasil	seccional	Mulheres	30	14-51	esfregações: palato mole, úvula, tonsilas, dorso de língua, região sublingual e mucosa jugal	esfregações colo do útero, vulva e vagina de acordo com a indicação após a aplicação de ácido acético 5% ou biópsia de condilomas	PCR	Negativa
TERMINE et al. 2009	Itália	seccional	Mulheres	140	19-55 (36)	esfregações: gengiva, bordos e dorso lingual e palato duro	colo do útero	PCR	Negativa
SAINI et al. 2010	Malásia	seccional	Mulheres com câncer de colo do útero	70	30-60 (55,21)	esfregações de boca	câncer de colo do útero HPV positivo	HC	Negativa
SÁNCHEZ- VARGAS et al., 2010	México	seccional	Mulheres	46	19-63 (35)	esfregações: palato, gengivas, mucosa jugal	histórico de lesões HPV-induzidas	PCR	<b>Positiva</b>

Continuação: **Quadro 6.** Estudos que investigaram a associação da infecção pelo HPV em boca e região genital. DB: hibridização dot blot; SB: hibridização southern blot; PCR: Reação em Cadeia da polimerase; IH: hibridização *In situ*; RH: hybridization reversa; RT-PCR: Reação em Cadeia da polimerase em tempo real; HC: Captura Híbrida; N-PCR: Reação em Cadeia da polimerase *Nested*; II: Imunofluorescência Indireta.

TERMINE et al., 2011	Itália	seccional	Mulheres	98	19-55 (29,5)	bochecho	lesões, confirmadas histologicamente e com teste molecular confirmado	RT-PCR	<b>Positiva</b>
PEIXOTO et al., 2011	Brasil	seccional	Mulheres	100	20-40 (30)	esfregaços ou biópsias de lesões	esfregaços: colo do útero ou condilomas	PCR II	<b>Positiva</b>
PAASO et al., 2011	Finlândia	longitudinal	Mulheres	323	(25,5)	esfregaços mucosa jugal e região vestibular superior e inferior dos dentes	esfregaços: colo do útero	N-PCR	Negativa
ZONTA et al., 2012	Brasil	seccional	Mulheres	409	18-60	esfregaços: local não citado	esfregaços: colo do útero	PCR	<b>Positiva</b>
DU et al., 2012	Suécia	seccional	Homens e mulheres	500	15-23	bochecho	esfregaços: colo do útero	Luminex	<b>Positiva</b>
BEDER RIBEIRO et al., 2013	Brasil	seccional	Casais heterossexuais	31	20-62 (32)	esfregaços mucosa jugal e dorso e ventre lingual	esfregaços: colo do útero e em pênis	PCR	<b>Positiva</b>
ADAMOPOULOU et al., 2013	Grécia	seccional	Mulheres	43	20-57 (33,8 ± 10)	bochecho e gargarejo	esfregaços: colo do útero	PCR e N-PCR	<b>Positiva</b>

Continuação: **Quadro 6.** Estudos que investigaram a associação da infecção pelo HPV em boca e região genital. DB: hibridização dot blot; SB: hibridização southern blot; PCR: Reação em Cadeia da polimerase; IH: hibridização *In situ*; RH: hybridization reversa; RT-PCR: Reação em Cadeia da polimerase em tempo real; HC: Captura Híbrida; N-PCR: Reação em Cadeia da polimerase *Nested*; II: Imunofluorescência Indireta.

## 2.6. Prevenção e controle

A citologia, o esfregaço de Papanicolaou e a biópsia para a avaliação histopatológica são indicados como métodos de controle e rastreamento do câncer da anogenital (ESQUENAZI, 2009).

Vacinas produzidas com partículas semelhantes ao vírus HPV (*VPL: virus-likeparticle*) foram desenvolvidas para prevenir a contaminação dos subtipos mais comuns do HPV. São idealmente indicadas para pacientes antes de iniciar o período de atividade sexual, com idade entre 9 e 26 anos (KIM; GOLDIE, 2008). A vacina bivalente (Cervarix<sup>®</sup>/GSK) imuniza pacientes contra os HPV16 e 18. A vacina quadrivalente humana (Gardasil<sup>®</sup>/MSD) imuniza contra o HPV6, 11, 16 e 18. A vacina nonavalente, ainda não comercializada, imuniza contra os subtipos HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58, e parece apresentar um maior potencial de reduzir os riscos de lesões potencialmente malignas por abranger maior número de subtipos virais (VAN DE VELDE et al., 2012).

Ensaios clínicos têm observado que pacientes que são imunizados contra os subtipos virais produzem anticorpos contra eles e podem apresentar uma proteção cruzada contra outros subtipos (COMBITA et al., 2002; FLEURY; TOUZ, 2006). Anticorpos produzidos contra o HPV16 podem ser efetivos contra os subtipos 31,33 e 58. O mesmo ocorre entre o HPV 18 e 45 (BONANNI; BOCCALINI; BECHINI, 2009; BROWN et al., 2009) É válido ressaltar que indivíduos não imunizados que passam pela história natural da doença parecem não desenvolver a mesma proteção cruzada (PALMROTH et al., 2010).

A partir do registro e regulamentação da vacina pela Agência Nacional Vigilância Sanitária (ANVISA), em 2006, constituiu-se um Grupo de Trabalho Especial (GT) pelas diferentes áreas do Ministério da Saúde, com objetivo de assessorar as decisões sobre a incorporação da vacinação contra HPV na rede SUS (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Em 2010, a portaria MS nº 310 instituiu o GT com objetivo de realizar análise do Programa Nacional do Controle do Câncer de Colo de Útero, para formular propostas de aprimoramento e suas ações Brasil (BRASIL, 2010). Destacou-se a ênfase nas ações que visam à melhoria da atenção à saúde da mulher, não devendo essa ser substituída pela vacinação. Concluiu-se no relatório final do GT que uma nova geração de vacinas, mais complexas, com maior espectro de ação e menos onerosas se encontra em desenvolvimento, com propósito de repasse de tecnologia a países em desenvolvimento.

Em 2013, a ANVISA reconheceu a importância da vacina para prevenção do câncer de anus baseado em um estudo que observou redução do risco da infecção pelo vírus HPV em região anal em 54% e redução da persistência da infecção na mesma região em 59% (PALESFSKY et al., 2011).

Ainda em 2013, o Ministério da Saúde incorporou ao Sistema Único de Saúde (SUS) a vacina contra o HPV para a prevenção das doenças causadas pelo vírus, sendo apenas as meninas com idades entre 10 e 11 anos contempladas pelo programa de vacinação.

No setor privado brasileiro, as vacinas já estão disponíveis e está indicada para mulheres em qualquer faixa etária e homens na faixa etária de 9 a 26 anos, sendo administrada em três doses (0-2-6 meses). A vacina possui indicação profilática, e pode ser administrada também com indicação no auxílio ao tratamento da infecção viral.

Estudos sugerem que o benefício profilático da vacina para boca ainda requer seguimento, pois os dados observados ainda são poucos, com proteção conferida à adolescentes vacinados em relação aos não-vacinados em torno 8% (SCHLECHT et al., 2012).

De acordo com esta revisão da literatura, o papel da prevenção da infecção pelo HPV como medida de promoção de saúde é fundamental, considerando a disponibilização da informação e da imunização através da vacina. Neste contexto é essencial a participação do cirurgião-dentista na cadeia de profissionais envolvidos no processo promotor de saúde.

---

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral:

Observar se existe associação entre a infecção pelo HPV no colo do útero e na boca de gestantes adolescentes.

#### 3.2. Objetivos Específicos:

Verificar na população estudada:

- A prevalência da infecção pelo HPV em colo do útero obtido através de exame clínico, esfregaços para análise de citopatologia e teste molecular de microarranjo, bem como a concordância entre os dois testes;
- A prevalência da infecção pelo HPV em língua e palato obtida através de exame clínico, esfregaços para análise de citopatologia e teste molecular de microarranjo, bem como a concordância entre os dois testes;
- A prevalência da infecção pelo HPV no biofilme dental supra e subgingival e sua correlação com parâmetros clínicos periodontais;
- A concordância entre os testes moleculares de PCR e de microarranjo para identificação de HPV nas amostras de biofilme dental.
- Se o(s) subtipo(s) encontrado(s) na boca é(são) semelhante(s) aos encontrados em colo do útero em gestantes adolescentes.

---

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal onde se buscou a possível associação da presença de infecção pelo HPV na boca e no colo do útero. Este estudo foi desenvolvido através de uma parceria multi-institucional envolvendo a Faculdade de Odontologia (FO) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), a Maternidade-Escola da UFRJ, o Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa, o Laboratório Richet e o Laboratório de Infecção Hospitalar do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes da UFRJ.

O projeto do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (Anexo A), sob número de protocolo ME/UFRJ 10/2010 e CAAE: 0011.0.361.000-10 e, posteriormente, endossado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa (Anexo B).

### 4.1. Universo Amostral

Todas as adolescentes grávidas atendidas no ambulatório de pré-natal da Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), no período de agosto de 2010 a março de 2012, foram convidadas a participar desse estudo. As adolescentes foram abordadas durante o exame ginecológico de rotina.

O critério para definir a adolescência seguiu o conceito preconizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) que caracteriza essa fase dentro da faixa etária de 10 a 19 anos, justificado pelo processo de maturidade física, psicológica e social em andamento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2007). De acordo com a OMS (2007), de uma forma geral, a lei não concede aos pais ou responsáveis o poder de veto sobre as

decisões que adolescentes possam ter ao participar de investigações sobre sua saúde reprodutiva, mesmo não estando em idade legal para responder por si próprios.

Todas as adolescentes foram esclarecidas verbalmente sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice A). Todo procedimento e informações dadas pelas pacientes e colhidas de seus prontuários foram mantidos em sigilo, em armários trancados na instituição, no intuito de preservar a integridade dos sujeitos participantes do estudo. Apenas os investigadores principais tiveram acesso a estes dados.

#### **4.2. Critérios de Inclusão**

Adolescentes grávidas incluídas na faixa etária proposta pela OMS (10-19anos) que realizavam acompanhamento de pré-natal na Maternidade-Escola.

#### **4.3. Critérios de exclusão**

Adolescentes não-grávidas;

Mulheres grávidas atendidas no ambulatório de pré-natal da Maternidade-Escola da UFRJ com idade superior a 19 anos;

Adolescentes que se recusassem a participar do estudo.

#### **4.4. Tamanho amostral**

O cálculo do tamanho amostral foi realizado através do programa Epi-Info 6.0 (*Center for Diseases Control and Prevention, Atlanta, GA, USA*) utilizando-se a frequência da presença do HPV em carcinomas cervicais e orais (SHUKLA et al., 2009), com

intervalo de confiança de 95% e considerando-se poder de 80%. Assim, a proposta da amostra foi de 30 adolescentes grávidas.

#### **4.5. Coleta de dados**

##### **4.5.1. Características sócio-demográficas, comportamentais e dados da história médica**

Os dados sócio-demográficos coletados foram: idade, cor da pele, escolaridade, renda mensal familiar e comportamento social. Esses dados foram coletados do prontuário médico da instituição e através de entrevista estruturada realizada pelo autor do estudo. Todos os dados coletados foram registrados em formulário confeccionado para esse estudo (Apêndice B) e, posteriormente, repassados para o banco de dados do programa SPSS 17.0 (IBM Software©, Armonk, EUA). A cor da pele foi registrada segundo a classificação de Cuvier (AVILA, 1958) e definida como: leucoderma, melanoderma, feoderma e xantoderma.

Foram coletados dados referentes à saúde das pacientes diretamente dos prontuários da instituição, incluindo: informações sobre exames pré-natais anteriormente realizados relacionados à gestação em questão, e esfregaços previamente realizados.

##### **4.5.2. Dados clínicos**

###### *4.5.2.1. Exame ginecológico (Apêndice B)*

O exame consistiu de uma inspeção visual e tátil, realizado uma única vez por uma ginecologista calibrada no ambulatório da Maternidade-Escola da UFRJ. O objetivo do

exame da região genital foi identificar a possível presença de lesões HPV-induzidas, ou outras possíveis lesões locais. Caso fossem encontradas lesões (HPV-induzidas ou não) que necessitassem intervenção, o dado seria computado na ficha de protocolo da pesquisa e a paciente seria tratada na unidade, seguindo o protocolo institucional.

As lesões induzidas pelo HPV foram separadas de acordo com a localização em lesões de genitália externa e interna. Foram consideradas lesões na região genital externa quando fossem observadas lesões em lábios maiores e menores, no períneo e no anus, com aspecto de formações condilomatosas, com base séssil ou pediculada, e com coloração esbranquiçada ou da mucosa, podendo ser únicas ou múltiplas, coalescentes ou não (LACEY et al., 2012).

Na região genital interna, foram consideradas lesões genitais HPV-induzidas quando ocorressem os seguintes critérios:

- I. Lesões visualizadas clinicamente e/ou quando após a aplicação do ácido acético 2% fossem observadas áreas esbranquiçadas através da colposcopia da mucosa genital;
- II. No exame citológico, fossem visualizadas alterações celulares sugestivas de infecção pelo HPV através da utilização da técnica de Papanicolaou. A classificação das alterações citológicas seguiu os critérios sugeridos por Bethesda (“National Cancer Institute Bethesda System,” 2001).

#### 4.5.2.2. Exame bucal (Apêndice B)

O exame bucal consistiu de uma inspeção visual e tátil, realizado uma única vez por uma cirurgiã-dentista treinada, com a adolescente deitada na maca onde foi realizado o exame ginecológico e com o auxílio de luz halógena (refletor frontal).

O objetivo do exame da cavidade bucal foi identificar a possível presença de lesões HPV-induzidas, ou outras possíveis alterações bucais. Foram consideradas lesões orais induzidas pelo HPV quando:

I. Clinicamente, ocorriam lesões na mucosa com aspecto de formações verrucóides, papulares, polipóides, com base séssil ou pediculada, e coloração esbranquiçada ou da mucosa (ESQUENAZI, 2009);

II. Confirmadas através do exame histopatológico, após o procedimento de biópsia da lesão existente.

Aquelas pacientes que apresentassem lesões bucais associadas ou não ao HPV seriam encaminhadas para a Clínica de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da UFRJ para tratamento.

Após a inspeção, foi realizado o exame periodontal completo que consistiu da coleta de informações referentes ao índice de placa visível (IPV), índice de sangramento gengival (IG), sondagem periodontal para profundidade de bolsa à sondagem (PBS), nível clínico de inserção (NCI) e sangramento à sondagem (SS) dos dentes presentes.

O registro foi realizado em ficha própria (Apêndice C). A descrição de cada parâmetro clínico periodontal coletado nessa etapa está detalhado a seguir:

Índice de Placa Visível (IPV):

Presença (1) ou ausência (0) de placa visível (supragengival). Seis superfícies de cada dente foram examinadas, três por vestibular e três por lingual/palatina (mésio-vestibular, disto-vestibular, vestibular, mésio-lingual, disto-lingual e lingual). Este índice é citado

na literatura como variante simplificada do índice de Placa de Silness & Løe de 1964 (AINAMO; BAY, 1975). O resultado desse índice está representado para cada indivíduo como a frequência de sítios com placa visível clinicamente. Posteriormente, foi calculada a média da frequência de IPV para o grupo.

Índice gengival (IG):

Presença (1) ou ausência (0) de sangramento, após 15 segundos, à sondagem da margem gengival. Seis superfícies foram examinadas: méso-vestibular, disto-vestibular, vestibular, méso-lingual, disto-lingual e lingual. O resultado desse índice está representado para cada indivíduo como a frequência de sítios com sangramento. Posteriormente, foi calculada a média da frequência de IG para o grupo.

Profundidade de Bolsa à Sondagem (PBS):

A profundidade de bolsa em milímetros (mm) corresponde à medida que vai da base clínica do sulco gengival (ou da bolsa periodontal) à margem gengival (ARMITAGE, 1995). A medida de profundidade de bolsa foi obtida utilizando uma sonda periodontal milimetrada (*Hu-Friedy®*, Manufacturing Co., Chicago, IL, USA). O resultado está representado como a média de profundidade de sondagem com desvio padrão para cada indivíduo, posteriormente para o grupo.

Nível Clínico de Inserção (NCI):

O nível clínico de inserção corresponde à medida, em milímetros, que vai da base da bolsa à junção cimento - esmalte (JCE) (RAMFJORD; ASH, 1979). As aferições clínicas de PBS e NCI foram realizadas em 06 sítios de cada dente, em todos os dentes

presentes, com exceção dos terceiros molares. Os sítios: méso-vestibular, vestibular, disto-vestibular, méso-lingual, lingual, disto-lingual.

#### Sangramento a sondagem (SS):

Definido como presença (1) ou ausência (0) de sangramento após a sondagem da bolsa ou sulco periodontal. As aferições foram realizadas em 06 sítios de cada dente (méso-vestibular, vestibular, disto-vestibular, méso-lingual, lingual, disto-lingual), em todos os dentes presentes, com exceção dos terceiros molares. O resultado desse índice está representado para cada indivíduo como a frequência de sítios com SS. Posteriormente, foi calculada a média da frequência de SS para o grupo.

As avaliações do exame periodontal foram realizadas a partir da categorização das medidas de PBS e NCI em rasa, média e profunda. Os valores para essas categorias consistiram em PSB ou NCI = 1 a 3 mm (rasa), PBS ou NCI = 4 a 6 mm (média) e PBS ou NCI  $\geq$  7 mm (profunda).

O diagnóstico de **Gengivite** foi considerado se a adolescente apresentasse >10% dos sítios com sangramento à sondagem (PRESHAW, 2009).

Foi considerado como apresentando **Periodontite** os indivíduos com, pelo menos, 4 sítios com nível clínico de inserção  $\geq$  5mm e com sangramento à sondagem, em pelo menos, 3 dentes diferentes.

## **4.6. Coleta de material biológico**

### **4.6.1. Genital**

Foi realizado um exame de colposcopia com a aplicação de ácido acético à 2% na região de colo de útero. Foi realizado um esfregaço com o auxílio de uma escova de esponja para citologia (*PapilloCheck® Collection Kit, GreinerBio-OneGmbH, Germany*), guiado pela presença de alteração da cor (esbranquiçamento). Nos casos em que não houve esbranquiçamento de nenhuma região após a aplicação do ácido acético, o esfregaço foi realizado na entrada do canal endocervical. O esfregaço realizado seguiu as recomendações do fabricante do kit de coleta (*PapilloCheck® Collection Kit, GreinerBio-OneGmbH, Germany*) e foi obtido com seis voltas completas. O conteúdo deste esfregaço foi colocado em lâminas e fixado em álcool 70% para análise citológica.

Um segundo esfregaço com a mesma escova foi novamente realizado no mesmo local e colocado em solução tampão STM (*Specimen Transport Medium*). O tubo foi refrigerado (4°C) para posterior análise laboratorial através da técnica do microarrajo.

#### **4.6.2. Bucal**

Após o exame completo da boca, inclusive informações do exame periodontal, a adolescente foi inquirida se consumiu algum alimento num período inferior a 30 minutos; se isso tivesse ocorrido, seria aguardado esse período antes de serem realizadas coletas da boca através de esfregaços. Foi realizado então um esfregaço da boca nas regiões de dorso lingual e região entre o palato duro e mole com o auxílio de uma escova de esponja (*PapilloCheck® Collection Kit, GreinerBio-OneGmbH, Germany*). O esfregaço realizado seguiu as recomendações do fabricante e foi obtido com seis voltas completas com a escova de esponja. Esse esfregaço foi colocado em uma lâmina e fixado em álcool etílico 70% para análise citológica por uma única citopatologista calibrada.

Um segundo esfregaço foi realizado com a mesma escova, e nas mesmas regiões, sendo a escova acondicionada em um tubo contendo tampão STM. O tubo foi refrigerado para posterior análise laboratorial através da técnica do microarranjo.

Na sequência, um *pool* de biofilme supragengival foi obtido de cada adolescente com auxílio de uma cureta tipo Gracey estéril. Quatro amostras de biofilme subgengival foram obtidas de cada adolescente, dos sítios mais profundos, identificados através da sondagem periodontal. Para as coletas dos biofilmes subgengivais, os depósitos de biofilme supragengival foram removidos previamente da superfície dentária com gaze estéril. Cada amostra de biofilme subgengival foi coletada com cureta tipo Gracey 11-12 ou 13-14 estéril. Foi utilizada uma ponta ativa estéril para cada amostra subgengival coletada. As amostras foram armazenadas a seco em microtubos, e refrigeradas a uma temperatura de -20°C (FENG et al., 2010) até a análise laboratorial. Para as amostras de biofilme foram realizados os testes de PCR e microarranjo, no intuito de comparar as duas técnicas entre si.

#### **4.7. Análise laboratorial**

##### **4.7.1. Análise citológica**

As lâminas contendo os esfregaços de boca e de colo do útero foram encaminhadas ao Laboratório de Citologia da Maternidade Escola da UFRJ para preparo e coloração utilizando-se a técnica de Papanicolaou. O material fixado foi submetido a lavagens com etanol em concentrações decrescentes (de absoluto até 70%), submetido a ação do corante nuclear hematoxilina de Harris, e posteriormente, a lavagem com álcoois, e corantes citoplasmáticos (o orange G e a eosina amarelada-EA36). O passo final

consistiu da ação desidratante de álcool e xilol. As lâminas foram montadas com bálsamo do Canadá. A avaliação citopatológica de cada lâmina corada foi realizada no microscópio ótico, utilizando-se como referência para classificação os critérios de Bethesda, de acordo com o descrito no **Quadro 1**.

#### **4.7.2. Análise molecular**

A análise molecular dos espécimes coletados aconteceu em três laboratórios distintos: Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa, Laboratório Richet e Laboratório de Infecção Hospitalar do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes da UFRJ. Inicialmente, o Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa se comprometeu em realizar todos os testes das amostras que seriam coletadas para o presente estudo. No entanto, no transcorrer das coletas, o setor de Biologia Molecular do Instituto foi extinto e apenas os esfregaços foram processados. Entretanto, através de um pedido formal ao diretor científico do laboratório Richet foi autorizada a realização do teste de microarranjo das amostras de biofilme neste laboratório. O laboratório Richet foi contatado, pois se tratava da instituição que utilizava a mesma tecnologia comercial proposta para o presente estudo. Por fim, os testes realizados no biofilme foram repetidos através da reação de PCR no laboratório de Infecção Hospitalar da UFRJ para comparação dos resultados.

#### 4.7.2.1. Material coletado pelos esfregaços de colo do útero e boca:

Todos os tubos de coleta contendo amostras dos esfregaços de colo do útero e boca foram submetidos a extração de DNA, utilizando-se o kit QIAamp® DNA Mini Kit (Quiagen Inc., Valencia, CA), e realização da técnica de microarranjo. A reação foi realizada no laboratório de biologia molecular do Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa.

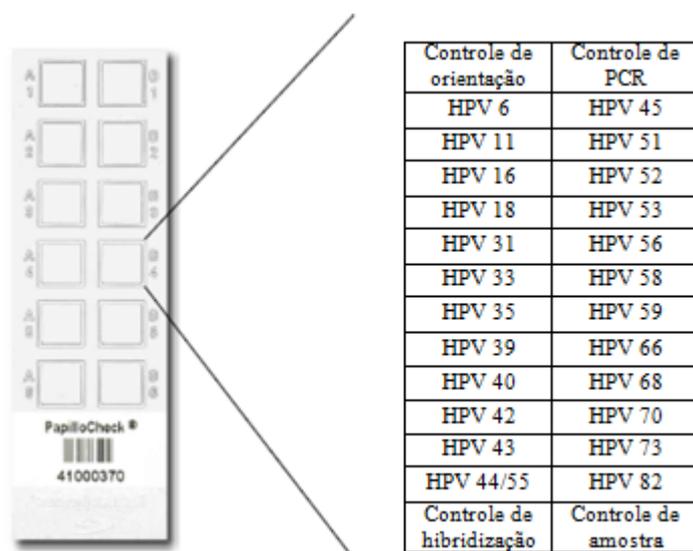
Foi utilizado o kit comercial *PapilloCheck*® (GreinerBio-One GmbH, Germany) para a detecção do HPV e genotipagem, que é capaz de detectar DNA de 24 subtipos de HPV simultaneamente. Tal kit possui a tecnologia baseada na técnica de amplificação de PCR e de hibridização em lâmina (chip) de DNA revestidas com *probes* específicas. Em cada lâmina do *Papillocheck*® é possível testar 12 amostras distintas. A reação teve como alvo o fragmento do gene E1 do HPV comum aos subtipos pesquisados.

A amplificação do DNA viral foi realizada com um volume final de 25 µl para cada amostra. O mix do PCR foi composto de: 0,2 µl de Taq-polimerase e 19,8 µl do master mix *Papillocheck*®. A esse mix foi adicionado 5 µl de DNA purificado e colocado no termociclador, seguindo-se a programação proposta pelo fabricante (**Quadro 7**).

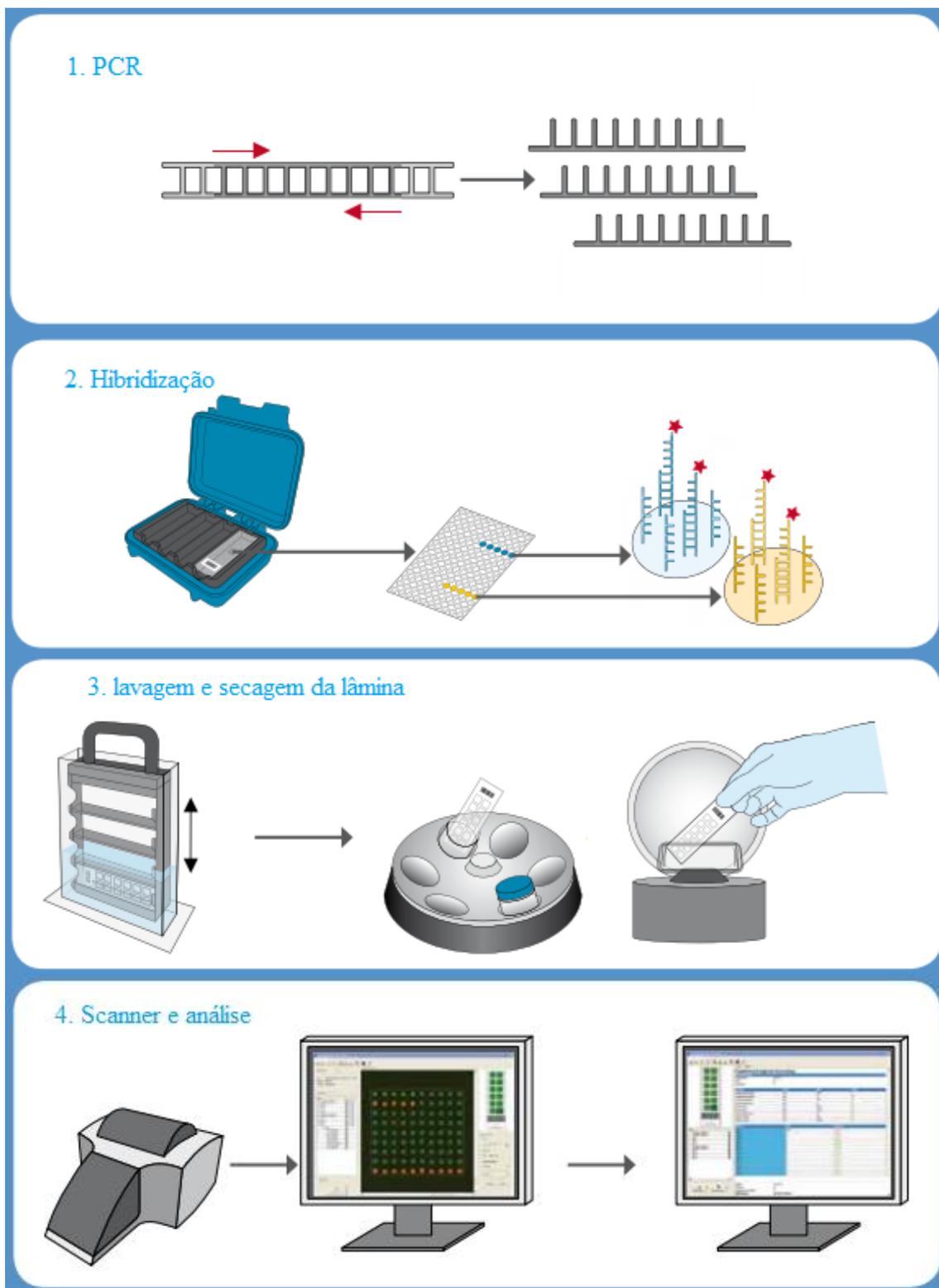
Tempo	Temperatura (° C)	Nº de ciclos
20 minutos	37	1
15 minutos	95	1
30 segundos	95	40
25 segundos	55	
45 segundos	72	
30 segundos	95	15
45 segundos	72	
estabilidade	10	

**Quadro 7.** Programação do termociclador para os ciclos de PCR determinados pelo fabricante para a técnica do microarranjo - *Papillocheck*®. ° C: graus Celsius. Fonte: Manual *Papillocheck*®

Controles internos contidos na lâmina garantem a eficiência da reação e indicam possíveis falhas que possam ocorrer durante o processamento. São eles: **controle de amostra**, que contém oligonucleóides de  $\beta$ -globina humana (ADAT-1: Adenosina Deaminase 1); **controle de PCR**, que indica se houve alguma falha no processo de amplificação da amostra; **controle de hibridização**, que identifica qualquer falha no processo de hibridização do produto de PCR com os *primers* específicos utilizados no kit; e **controle de orientação**, que identifica os sinais de fluorescência em cada ponto do chip. A **Figura 3** mostra o layout da lamina que contém os chips de DNA do *Papillocheck*®. Cada quadrado existente no chip corresponde a uma amostra, ou seja, em cada lâmina do *Papillocheck*, pode ser realizada pesquisa do HPV em 12 amostras diferentes.



**Figura 3.** Layout da lamina que contém os chips de DNA *Papillocheck*®. Fonte: Manual *Papillocheck*®



**Figura 4.** Sequencia da rotina para a reação do microarranjo. Fonte: Manual Papillocheck ®

Após a PCR e hibridização, a lâmina é submetida à lavagens e leitura em *scanner* específico (*CheckScanner*<sup>TM</sup>). O *scanner* é conectado à um computador que contém o *CheckReport*<sup>TM</sup>, um software específico, que interpreta os sinais identificando os subtipos virais presentes na amostra e a semi-quantificação deles (**Figura 4**). Os subtipos contidos no chip do kit utilizado são: HPV6, 11, 40, 42, 43 e 44/45 (baixo potencial oncogênico), e HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82 (alto potencial oncogênico). O resultado final do teste mostra os subtipos presentes em cada amostra, bem como a carga viral aproximada do subtipo identificado.

#### 4.7.2.2. Material coletado do Biofilme dental:

Todos os tubos contendo amostras de biofilme (supragengival e subgengival), que estavam congeladas a -20°C e no seco, foram resfriadas, suspensas em 500µl de soro fisiológico estéril e submetidas a extração de DNA utilizando-se o kit *QIAamp*<sup>®</sup> *DNA Mini Kit* (*Quiagen Inc., Valencia, CA*), e seguindo-se as instruções do fabricante.

Foram realizadas duas técnicas de biologia molecular para pesquisa do HPV no biofilme: através de microarranjo e através de PCR, utilizando os *primers* genéricos MY 09 e MY 11.

A reação de microarranjo foi realizada no laboratório Richet, utilizando-se o kit comercial *Papillocheck*<sup>®</sup>, de acordo com o protocolo do fabricante, anteriormente descrito. A reação de PCR foi realizada no laboratório de Infecção Hospitalar do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo Góes/UFRJ.

A reação de PCR foi realizada utilizando-se *primers* genéricos a partir da região mais conservada do genoma do HPV, a L1: o MY09 (CGTCCMARRGGAWACTGATC) e o MY11 (GCMCAGGGWCATAAYAATGG). Antes de realizar a rotina, todos os DNA purificados das amostras de biofilme foram submetidas à quantificação utilizando-se o equipamento Nanodrop (NanoVue Plus, *GE Healthcare*<sup>®</sup>) e posteriormente à amplificação por polimerase Phi29, usando o kit de amplificação GenomiPhi V2 (*GE Healthcare*<sup>®</sup>), de acordo com o protocolo do fabricante: 1 µl de DNA purificado adicionado a 9 µl de solução tampão, incubada a 95°C durante 3 minutos e arrefecida em gelo (aproximadamente 4°C); em seguida, foi adicionado 10 µl (9 µl tampão + 1 µl do mix), que contém a enzima Phi29 polimerase, incubando-se à 30°C por 1 hora e meia; por fim, a amostra teve sua temperatura elevada à 65°C por 10 minutos e resfriada a 4°C .

A amplificação do DNA viral foi realizada com um volume final de 20 µl para cada amostra. O DNA genômico foi amplificado utilizando-se a PCR com iniciadores para o gene constitutivo da betaglobina. O mix do PCR foi composto de: 1,55 µl de Taq-polimerase, 2,5 µl do *primer* F, 2,5 µl do *primer* R, 2 µl solução MgCl<sub>2</sub> (4mM), 4 µl de dNTP (200 µmol contendo dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 2,75 µl de H<sub>2</sub>O e 5 µl de solução tampão. A esse mix foi adicionado 5 µl de DNA amplificado e colocado no termociclador, com a programação exposta no **Quadro 8**. Para garantir a fidelidade da reação, foi utilizada água destilada como controle negativo e linhagens de células contendo HPV18 contendo cerca de 1.000 cópias de DNA viral.

Tempo	Temperatura (° C)	Nº de ciclos
3 minutos	95	1
1 minuto 1 minuto 2 minutos	94 55 72	1
1 minuto 1 minuto 2 minutos	94 55 72	34
7 minutos	72	1
estabilidade	4	-

**Quadro 8.** Programação do termociclador para os ciclos de PCR com os *primers* genéricos MY09/MY11. ° C: graus Celsius.

Após a amplificação, o produto da amplificação da PCR foi aplicado em gel de agarose a 2% a pós a corrida eletroforética foram corados com Brometo de Etídio. Foi adicionado 10 µl do produto amplificado a 2 µl de tampão de carga (0,25% de azul de bromofenol, 0,25% xilenocianol em 40% de agarose/água). A função do tampão teve como objetivo aumentar a densidade da amostra, facilitando sua deposição e visualização das bandas no gel devido à coloração diferente de acordo com a migração elétrica devido à diferenças de carga. Os produtos foram analisados pela eletroforese no gel, com o auxílio de um transiluminador de luz ultravioleta e as amostras positivas foram identificadas por bandas (455 nm) com pequenas faixas fluorescentes.

#### **4.8. Análise estatística**

Foi realizada a análise de variáveis qualitativas e quantitativas. A avaliação das variáveis qualitativas ocorreu através da descrição dos dados sócio-demográficos catalogados, explanados em tabelas. As variáveis quantitativas foram descritas em números absolutos e percentuais, com médias e desvios-padrão. Para armazenar, analisar os dados e realizar os procedimentos estatísticos foi utilizado o *software* SPSS 17.0 para Windows. O índice de coeficiente intraclasse foi calculado para obtenção do índice de reprodutibilidade do dentista que realizou o exame clínico periodontal (PBS e NCI). Para analisar a associação das variáveis categóricas foi utilizado o teste exato de Fisher, considerando-se nível de significância estatística de 5%.

## 5. RESULTADOS

Trinta adolescentes grávidas foram incluídas no estudo. A média da idade das adolescentes foi de 15,2 anos (DP  $\pm$  1,3) e variação de 12 a 18 anos. A média de tempo gestacional foi de 28,8 semanas (DP  $\pm$  7,3), com variação de 13 a 39 semanas. As características sócio-demográficas e comportamentais estão apresentadas na **Tabela 1**.

**Tabela 1.** Características sócio-demográficas e comportamentais das adolescentes.

<b>Característica</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Cor da pele</b>		
Leucoderma	09	30
Melanoderma	06	20
Feoderma	15	50
<b>Escolaridade</b>		
1º grau	21	70
2º grau	09	30
<b>Renda mensal familiar*</b>		
01-03 salários mínimos	19	64
03-06 salários mínimos	04	13
Não soube informar	07	23
<b>Consumo de substâncias lícitas</b>		
Cafeína		
sim	13	43,3
não	17	56,7
Fumo		
Sem exposição prévia	25	83,3
Fumou antes da gestação	05	16,3
Fuma	00	00
Álcool		
Sem exposição prévia	17	56,6
Antes bebia socialmente	13	43,3
Bebe na fase gestacional	00	00
<b>Consumo de substâncias ilícitas (antes da gestação)</b>		
Maconha		
Sem exposição prévia	29	96,6
Já experimentou	01	3,4
Cocaína		
Sem exposição prévia	30	100
Já consumiu	00	00

\*no Brasil - salário mínimo mensal: R\$ 678,00.

O relato do número de parceiros sexuais ao longo da vida entre as adolescentes variou entre 1 e 10 parceiros, com média de  $2,4 \pm 2,3$  e mediana de 2. Dezoito (60%) adolescentes relataram prática de coito orogenital, enquanto que 12 (40%) relataram nunca ter feito. Das que relataram ser praticantes de coito orogenital, apenas uma soube informar a frequência do hábito: uma vez por semana, tendo sido o último realizado 4 dias antes da data da consulta de pré-natal.

### **5.1. Dados da história médica e do exame clínico**

Na história médica foi encontrado que 23,3% (n=7) das gestantes adolescentes não possuíam nenhuma doença existente. Apenas 3,3% (n=1) apresentou sífilis, em tratamento na instituição; e 3,3% (n=1), apresentou candidíase vaginal. 20% (n=6) apresentavam vaginose bacteriana (dados não demonstrados).

Na região genital, 23,3% (n=7) das adolescentes grávidas apresentavam lesões HPV-induzidas (condilomas) visualizadas ao exame clínico. Dentre elas, 20% (n=6) exibiam lesões condilomatosas apenas em genitália externa (vulva, pequenos lábios, grandes lábio, clitóris, e região perianal), e uma adolescente exibiu lesões condilomatosas tanto na genitália externa quanto no colo do útero (dados não demonstrados).

Na boca, os exames clínicos das 30 adolescentes grávidas não apresentaram nenhum tipo de lesão relacionada ao HPV e 13,3% (n=4) delas exibiram língua saburrosa (dados não demonstrados).

### **5.2. Pesquisa do HPV nos esfregaços através de citologia**

Os esfregaços realizados para avaliação citopatológica totalizaram 60 (30 em boca e 30 em colo do útero). Todos apresentaram amostra adequada para a análise de citologia pelos critérios do sistema de Bethesda (**Quadro 1**).

A **Tabela 2** mostra as diferenças entre os exames clínico, citológico e molecular para o diagnóstico da infecção pelo HPV na região genital das adolescentes. Observar a diferença da prevalência da infecção pelo vírus entre os diferentes métodos de diagnóstico.

**Tabela 2.** Comparação dos aspectos clínico, citológico e molecular da infecção pelo HPV no colo do útero.

<i>N<sup>o</sup> Paciente</i>	<i>Clínico</i>	<i>Citológico</i>	<i>Molecular</i>
01	-	+	+
02	-	+	+
03	+	-	-
04	-	-	+
05	-	-	-
06	-	-	+
07	+	-	+
08	-	-	+
09	-	-	-
10	-	-	+
11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	-	-	+
15	-	-	-
16	+	-	+
17	+	-	+
18	+	-	+
19	-	-	-
20	-	-	+
21	+	+	+
22	-	-	-
23	-	-	+
24	-	-	+
25	-	-	+
26	-	-	-
27	+	-	+
28	-	-	-
29	-	-	-
30	-	-	-
<b>Total</b>	<b>7 (23,3%)</b>	<b>3 (10%)</b>	<b>17 (56,7%)</b>

-: negativo para o Vírus do Papiloma Humano; +: positivo para o Vírus do Papiloma Humano.

Os resultados da citologia dos tecidos bucais não apresentaram características celulares sugestivas de infecção pelo HPV, concordando com os achados clínicos ao exame visual. No colo do útero, 90% (n=27) esfregaços exibiram células de caráter não neoplásico. Os achados citológicos intra-bucais das pacientes mostraram que 93% esfregaços (n=28) exibiam células com características de benignidade e 7% dos esfregaços (n=2) apresentaram células com ativação nuclear leve, de caráter reacional. As características observadas no exame clínico intra-bucal e ginecológico, bem como, a citologia esfoliativa de cada caso podem ser visualizadas na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Aspectos clínicos e citológicos da boca e colo do útero.

<i>N<sup>o</sup> Paciente</i>	<i>Boca</i>		<i>Colo do útero</i>	
	<i>Aspecto clínico</i>	<i>Aspecto citológico</i>	<i>Aspecto clínico</i>	<i>Aspecto citológico</i>
01	normal	CN	AAP	LSIL, NIC1
02	normal, saburro lingual	CN, <i>Candida</i> sp	AAP	LSIL, NIC1
03	normal	CN	AAN	CN, células inflamatórias reacionais
04	normal	CN	AAN	CN
05	normal	CN	AAN	CN, metaplasia celular, células inflamatórias reacionais
06	normal	CN	AAN, candidíase	CN, <i>Candida</i> sp
07	normal, saburro lingual	CN, <i>Candida</i> sp	AAN	CN
08	normal	CN	AAN	CN
09	normal	CN	AAN	CN
10	normal	CN	AAN	CN
11	normal	CN	AAN	CN
12	normal	CN	AAN	CN
13	normal	CN	AAN	CN
14	normal	CN	AAN	CN
15	normal	CN	AAN	CN, células inflamatórias reacionais
16	normal	CN	AAN	CN
17	normal	CN	AAN	CN
18	normal	ativação nuclear	AAN	CN, células inflamatórias reacionais
19	normal	CN	AAN	CN
20	normal	CN	AAN	CN
21	normal, saburro lingual	CN	AAP, condiloma	ASC-US,SOE, células inflamatórias reacionais
22	normal	CN	AAN	CN
23	normal	CN	AAN	CN
24	normal	CN	AAN	CN
25	normal	CN	AAN	CN, células inflamatórias reacionais
26	normal, saburro lingual	CN	AAN	CN
27	normal	CN	AAN	CN
28	normal	CN	AAN	CN, células inflamatórias reacionais
29	normal	ativação nuclear	ANN	CN, células inflamatórias reacionais
30	normal	CN	ANN	CN

CN: negativo para neoplasia; AAP: ácido acético -positivo; AAN: ácido acético-negativo; LSIL: lesão escamosa de baixo grau de malignidade; ASC-US,SOE: células escamosas de significado indeterminado, sem outras especificações.

A **Tabela 4** mostra a correlação entre o exame clínico genital (externo e interno) e a citologia do colo do útero. Das seis adolescentes que apresentaram lesões condilomatosas no exame da genitália externa, nenhuma apresentou atipia celular sugestiva de infecção pelo HPV no exame de citologia esfoliativa do colo do útero.

**Tabela 4.** Correlação entre exame clínico genital e citologia esfoliativa em colo de útero.

	<i>Lesões clínicas na genital (externa e interna)</i>		Total
	<i>ausente</i>	<i>presente</i>	
<i>Citologia do colo do útero</i>			
Células não neoplásicas	21	06	27
ASC-US,SOE	0	01	01
LISL, NIC1	02	0	02
<b>Total</b>	23	07	30

ASC-US,SOE: células escamosas atípicas de significado indeterminado; LISL, NIC1: lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.

De acordo com os critérios de Bethesda (2001), as anormalidades celulares que não são suficientes para categorizar lesão intraepitelial, são mais adequadamente qualificadas com auxílio de teste moleculares para pesquisa de DNA HPV.

### 5.3. Pesquisa do HPV nos esfregaços através da técnica do microarranjo

Das 27 adolescentes grávidas que apresentaram células sem alterações citopáticas HPV-induzidas no esfregaço do colo do útero, 51,9% (n=14) exibiram a presença do DNA HPV no teste do microarranjo (Tabela 6).

Houve uma paciente que exibiu condilomas clinicamente e foi positiva para o HPV11 pelo teste do microarranjo, mas não apresentou o resultado da citologia esfoliativa no colo do útero conclusivo para o HPV (ASC-US, SOE).

Das 17 adolescentes apresentavam o HPV identificado pelo microarranjo, 47,1% delas (n=8) apresentavam múltiplos subtipos virais, tanto de alto potencial oncogênico quanto subtipos de baixo potencial oncogênico. Uma, em especial, chamou atenção por ter 05 subtipos virais (todos de alto potencial oncogênico) detectados, simultaneamente, na amostra de colo de útero e nenhuma alteração citopáticas HPV-induzida observada através da citologia esfoliativa. Os subtipos virais que estiveram presentes nas amostras de colo do útero podem ser visualizados na **Tabela 5**.

**Tabela 5.** Subtipos de HPV encontrados nos esfregaços de colo do útero (microarranjo).

<i>N ° Paciente</i>	<i>HPV de baixo potencial oncogênico</i>	<i>HPV de alto potencial oncogênico</i>
01	HPV 44/55	HPV 59
02	-	HPV 56
03	-	-
04	-	HPV 52
05	-	-
06	-	HPV 52, 58
07	-	HPV 68
08	-	HPV 16
09	-	-
10	-	HPV 51
11	-	-
12	-	-
13	-	-
14	-	HPV 56, 68
15	-	-
16	HPV 11	-
17	HPV 42	HPV 51
18	HPV 11	-
19	-	-
20	-	HPV 16
21	HPV 6	HPV 66
22	-	-
23	-	HPV 35
24	-	HPV 16, 68
25	HPV 42	HPV 31, 59
26	-	-
27	-	HPV 16, 31, 58, 39, 73
28	-	-
29	-	-
30	-	-

HPV: Vírus do Papiloma Humano

O subtipo mais presente foi o HPV16 (alto potencial), exibido por 23,5% das adolescentes grávidas ( $n=4$ ), seguido pelo HPV68 em 17,6% ( $n=3$ ).

Os HPV31, 51, 52, 56, 58, 59 (alto risco) e 11 (baixo potencial) exibiram a mesma prevalência (11,7%), com cada subtipo identificado em 02 adolescentes grávidas.

Os HPV66, 35 (alto risco), 6, 42, 44/45 mostraram-se menos prevalentes, com 5,8% das adolescentes infectadas ( $n=1$ ).

Observamos que a única adolescente que estava no primeiro trimestre (até 12 semanas de gestação) apresentou o DNA HPV no colo do útero; das 08 adolescentes que se encontravam no segundo trimestre (até 24 semanas) nenhuma teve o DNA HPV identificado nos seus esfregaços de colo; e das 21 adolescentes que estavam no terceiro trimestre gestacional (até 39 semanas), 16 tiveram DNA HPV detectado no colo do útero.

A correlação entre os resultados da citologia esfoliativa e do teste do microarranjo em colo do útero podem ser observados na **Tabela 6**.

**Tabela 6.** Correlação entre a citologia esfoliativa e o teste do microarranjo em colo do útero.

		<i>Microarranjo</i>		Total
		<i>negativo</i>	<i>positivo</i>	
<b><i>Citologia do colo do útero</i></b>				
Células não neoplásicas	n (%)	13 (48,1%)	14 (51,8%)	27 (90%)
ASC-US,SOE	n (%)	0 (0)	01 (100%)	01 (3,4%)
LSIL, NIC 1	n (%)	0 (0)	02 (100%)	02 (6,6%)
		13 (43,3%)	17 (56,7%)	30 (100%)

ASC-US,SOE: células escamosas atípicas de significado indeterminado; LISL, NIC1: lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.

Na mucosa bucal, o teste molecular do microarranjo não identificou o DNA HPV em nenhuma amostra coletada. Este resultado foi compatível com os exames clínico e citológico.

Não foi observado, portanto, a presença da associação entre a infecção pelo HPV no colo do útero e na mucosa bucal das adolescentes grávidas desse estudo, uma vez que todas as amostras de esfregaço de boca tiveram ausência do DNA HPV, enquanto que, 56,7% (n=17) das amostras de esfregaço de colo de útero tiveram o DNA HPV detectado.

#### **5.4. Aspectos clínicos periodontais e pesquisa do HPV no biofilme supragengival e subgengival**

O exame clínico periodontal foi realizado por um examinador devidamente calibrado. A calibração consistiu em um treinamento de como executar o exame de forma a garantir a reprodutibilidade dos achados, para tanto, o examinador realizou o exame periodontal completo em 03 pacientes com Periodontite. Esse exame foi repetido em uma segunda ocasião nos mesmos pacientes. O índice de correlação intra-classe (ICC) obtido foi de 99%. Em virtude do exame clínico periodontal ter sido realizado nas adolescentes grávidas em condições adversas ao ideal, sem a utilização de luz própria e equipo odontológico, uma segunda calibração foi realizada nas mesmas condições em que o exame clínico iria ocorrer na população desse estudo (com o auxílio de um refletor frontal e em maca). Dessa vez, três mulheres em idade gestacional tiveram seu exame periodontal completo realizado e repetido em uma segunda ocasião. O

coeficiente de correlação intra-classe obtido nessa segunda calibração foi de 88%, sendo esse o índice de reprodutibilidade considerado para o estudo.

A **Tabela 7** apresenta as características dos parâmetros clínicos periodontais observadas no grupo.

**Tabela 7.** Características clínicas periodontais observadas nas gestantes adolescentes do estudo.

<i>Parâmetros periodontais</i>	<i>Média ± desvio padrão</i>
Índice de placa visível (% dos sítios)	44,86 ± 21,0
Índice gengival (% dos sítios)	8,43 ± 8,5
Profundidade de sondagem (mm)	2,31 ± 0,20
Nível clínico de inserção (mm)	2,52 ± 0,20
Sangramento à sondagem (% dos sítios)	26,4 ± 15,2
<i>Profundidade de bolsa</i>	<i>(% dos sítios)</i>
1-3 mm	95,50 ± 3,40
4-6 mm	2,00 ± 0,70
≥ 7 mm	2,50 ± 0,70
<i>Nível clínico de inserção</i>	<i>(% dos sítios)</i>
1-3 mm	86,30 ± 4,32
4-6 mm	11,20 ± 0,09
≥ 7 mm	2,50 ± 1,60

Utilizando-se o critério proposto para o diagnóstico de Gengivite foi observado que 73,3% (n=22) das adolescentes apresentavam gengivite e que 26,6% (n=8) adolescentes gestantes apresentavam Periodontite.

Foram obtidas 30 amostras de biofilme dental supragengival referente a um *pool* de cada adolescente e 120 amostras de biofilme dental bacteriano subgengival, referentes às coletas realizadas nos quatro sítios mais profundos de cada uma delas.

Utilizando-se a técnica de PCR, observamos que nenhuma adolescente teve o HPV identificado no biofilme supragengival e subgengival. Através da técnica do microarranjo, apenas 0,08% (n=1) amostra de biofilme subgengival foi positiva para o vírus, sendo o subtipo encontrado o HPV6 (baixo potencial oncogênico). A adolescente que teve o HPV detectado no biofilme fazia parte do grupo das 17 adolescentes que tiveram a presença do vírus no colo do útero. Observou-se, portanto, 5,8% das adolescentes com infecção no colo do útero com presença do HPV no biofilme dental.

Analisando a presença da infecção genital em relação aos parâmetros clínicos periodontais, foi observado que a presença do vírus no colo do útero esteve associada à presença de Gengivite, com significância estatística. Porém, não houve a associação da Periodontite com a presença do vírus no colo do útero. Tais achados podem ser observados na **Tabela 8**.

**Tabela 8.** Associação entre a presença do vírus no colo do útero e a presença de Gengivite e Periodontite.

<b>Diagnóstico</b>		<b>Presença do HPV no colo do útero (microarranjo)</b>	<b>Análise estatística*</b>
<b>Gengivite</b>	<i>Presença</i>	54,5 % (n=22)	<b><i>p = 0,05</i></b>
	<i>Ausência</i>	62,5 % (n=8)	
<b>Periodontite</b>	<i>Presença</i>	62,5 % (n=8)	<b><i>p = 1,00</i></b>
	<i>Ausência</i>	54,5 % (n=22)	

\* Teste Exato de Fisher; HPV: Vírus do Papiloma Humano.

A adolescente que teve o HPV identificado no biofilme pela técnica do microarranjo tinha 16 anos, apresentava Gengivite, pois apresentou 18% dos sítios com sangramento após a sondagem, mas não apresentava Periodontite de acordo com os critérios utilizados.

Em relação às características do sítio gengival onde se encontrou o HPV, identificamos que o dente em questão foi o canino inferior esquerdo e observamos presença de biofilme supragengival, sangramento marginal e profundidade de sondagem de 4mm.

Outras características apresentadas pela adolescente foram: histórico de infecções genitais ou de transmissão sexxual, como sífilis e vaginose bacteriana (tratadas de forma adequada na Maternidade-Escola), início das atividades sexuais aos 13 anos, com histórico aproximado de 10 parceiros desde o início da coitarca. Esta foi a adolescente que relatou contato com maior número de parceiros na amostra desse estudo. Relatou frequência semanal de coito vaginal, sendo o último ocorrido há um dia, e coito orogenital há quatro dias. Relatou não fazer uso de maconha, cocaína, cigarro e bebidas alcoólicas.

## 6. DISCUSSÃO

---

No presente estudo foi pesquisado o HPV na boca e no colo do útero de 30 gestantes adolescentes. Dentre os principais resultados, observamos que no exame bucal não foram encontradas lesões HPV-induzidas, bem como foram negativos os testes de citologia e teste molecular de identificação do HPV (microarranjo) nas amostras de esfregaço de boca. No colo do útero, foram evidenciadas lesões clínicas HPV-induzidas em 23,3% dos casos, alterações celulares sugestivas de infecção pelo HPV indicadas pela citologia em 10% dos esfregaços e o DNA do HPV foi identificado através do microarranjo em 56,7% dos esfregaços. Não foi evidenciada assim, qualquer associação da presença da infecção pelo HPV na boca e no colo do útero na população estudada de gestantes adolescentes, tanto em relação às características clínicas, quanto em nível celular e em nível molecular. Poucos estudos na literatura avaliaram a possível presença da associação da infecção pelo HPV em boca e genital de grávidas (SMITH et al., 2004; RINTALA et al., 2006). Tais estudos mostraram resultados semelhantes aos nossos.

Inúmeros outros estudos já foram realizados tentando mostrar a provável evidencia da associação entre a infecção pelo HPV em boca e genital, encontrando resultados controversos (KELLOKOSKI et al., 1990; KELLOKODKI et al., 1992; VAN DOORNUM et al., 1992; BADARACCO et al., 1998; CAÑADAS et al., 2004; CASTRO et al., 2009; GIRALDO et al., 2006; PAASO et al., 2011; PANICI et al., 1992; WINER et al., 2003; RINTALA et al., 2005; XAVIER et al., 2007; TERMINE et al., 2009, SAINI et al., 2010; SÁNCHEZ-VARGAS; DÍAZ-HERNÁNDEZ; MARTINEZ-MARTINEZ, 2010; PEIXOTO et al., 2011; TERMINE et al., 2011; DU et al., 2012; ZONTA et al., 2012; ADAMOPOULOU et al., 2013). Desses estudos, cinco

foram realizados no Brasil. Em três deles, os autores não observaram a associação da infecção em boca e genital em mulheres adultas (não grávidas)(CASTRO et al., 2009), em homens (XAVIER et al., 2009) e entre casais heterossexuais (BEDER RIBEIRO et al., 2013). No entanto, dois outros estudos realizados no Brasil encontraram evidência de associação da infecção em boca e colo do útero de mulheres. Giraldo e cols. (2006) observaram que 37,1% das mulheres infectadas pelo HPV no colo do útero eram positivas para o vírus em boca, enquanto que, apenas 4,3% das mulheres que eram HPV negativas no colo uterino tiveram o DNA viral detectado na boca. O outro estudo brasileiro que encontrou a associação do HPV em boca e colo do útero foi conduzido em uma unidade prisional (ZONTA et al., 2012). Os autores observaram que 6,67% dos esfregaços de colo do útero eram positivos para o DNA HPV e desses 11,1% tiveram o DNA HPV detectado na boca.

A ausência do DNA HPV em 100% dos esfregaços de boca das adolescentes do presente estudo está em relativa concordância com estudos que mostraram que a boca de adolescentes exibe prevalência baixa da infecção pelo HPV, próximo de zero (SUMMERSGILL et al., 2001; SMITH et al., 2007a; SAINI et al., 2010; DURZYŃSKA et al., 2011; FLAKE et al., 2012). Poucos são os estudos em que os adolescentes estão incluídos, e estes mostram presença do DNA HPV em até 25% dos casos (SOSORBARAM et al., 2006; GICHKI et al., 2012; TRISTÃO et al., 2012). Entretanto, diferentemente da maioria, um estudo realizado no Japão encontrou uma alta prevalência da infecção pelo HPV (81%) na boca numa amostra de 37 indivíduos adultos (média de idade 42 anos) oriundos de uma unidade dermatológica e com história de lesões HPV-induzidas na pele (verrugas) (TERAI et al., 1999).

Existem diferentes informações quanto à idade mais vulnerável para a infecção pelo vírus. Os estudos diferem entre si na forma de classificar a idade de sua população, dividindo suas amostras em faixas etárias diferentes em relação à preconizada pela OMS. De acordo com a OMS, a classificação de uma população de acordo com a faixa etária é: criança (0-9 anos), adolescente (10-19 anos), jovem (20-24 anos), adulto (25-59 anos) e idoso ( $\geq 60$  anos). Embora exista essa diferença metodológica, a prevalência da infecção pelo HPV no colo do útero das adolescentes do presente estudo (56,7%) se mostrou semelhante da maioria dos estudos de prevalência já realizados em adolescentes, que variou entre 3,9 e 81% (**Quadro 2**).

Fazendo-se especial referência ao estudo conduzido no Brasil por Esquenazi e cols. (2010), os autores verificaram que o DNA do HPV não foi encontrado na boca de indivíduos saudáveis. A amostra utilizada pelos autores era composta de uma população de jovens adultos de 20 a 30 anos, ou seja, uma década conseguinte à faixa etária abordada nesse estudo. O que se pode sugerir é que existe no Brasil uma faixa etária compreendida entre a adolescência e o início da fase adulta aonde a presença do HPV mostra-se em níveis muito baixos ou nulos. Talvez exista alguma característica nessa fase de vida que proteja o indivíduo desta infecção viral.

Existe, na literatura, uma grande variação no que diz respeito à idade em que se mais identifica o HPV na boca. Numa população da Mongólia foi encontrada uma prevalência de 25% de DNA do HPV na boca de jovens (1 a 20 anos de idade) (SOSORBARAM et al., 2006). Estudos envolvendo populações nos Estados Unidos e Polônia mostraram que os adolescentes são menos vulneráveis para a infecção pelo HPV na boca, evidenciando baixa taxa de prevalência (2,5% e 1,08%, respectivamente)

(DURZYŃSKA et al., 2011; FLAKE et al., 2012). Apenas um estudo mostrou a faixa etária em que se insere o jovem como a mais prevalente para infecção pelo vírus (SMITH et al., 2007b). Dois estudos evidenciaram a fase adulta como a mais vulnerável para a infecção pelo HPV (LAMBROPOULOS et al., 1997; GILLISON et al., 2012). Os idosos estiveram infectados pelo HPV na boca em maior número nos estudos de Kurose et al. (2004) e Lawton et al. (1992).

O fato da nossa amostra não ter exibido a presença do HPV na boca pode ter sido causado por inúmeros aspectos: dentre eles, a baixa média de parceiros experimentados pela maioria das adolescentes desse estudo. Apenas uma paciente relatou contato com 10 parceiros e a mesma teve o DNA HPV detectado no esfregaço do colo do útero, mas não no esfregaço de boca, entretanto relatou prática de coito orogenital. A experiência do contato sexual orogenital tem sido sugerida como o principal meio de aquisição do vírus na boca (D'SOUZA et al., 2009; PICKARD; XIAO; BROUTIAN, 2012; CIARROCCA; JACKSON; DE ROSSI, 2013). Ainda não se conhece o real mecanismo para a aquisição do vírus na boca, nem os fatores de risco determinantes para a infecção. A adolescência é uma fase de experimentação, mas de difícil aferição de acúmulo de experiência de vida. No presente estudo, 60% das adolescentes relataram prática de coito orogenital, enquanto que, 40% delas relataram nunca ter feito. Portanto, o coito orogenital não pôde ser associado com a infecção pelo HPV nessa população.

O tempo após o coito orogenital pode ter influência na presença do vírus na boca. A maioria das adolescentes do presente estudo (96,6%) relatou não saber quando tempo transcorreu desde a última relação orogenital. Particularmente, isso sugere que o coito possa ter acontecido há tanto tempo que elas não lembravam. Hipotetizando-se que o

coito orogenital possa ter acontecido associado com o coito vaginal, acreditamos que esse possa ser o tempo do último contato íntimo realizado entre as pacientes com seus parceiros.

Estudos afirmam que quanto maior o número de parceiros experimentados ao longo da vida, maiores as chances de ser infectado pelo HPV na boca (D'SOUZA et al., 2009; HECK et al., 2010; GILLISON et al., 2012; READ et al., 2012). Essa chance, segundo esses estudos, apresenta taxa aumentada exponencialmente à medida que o número de parceiros é acrescentado na experiência de vida do indivíduo. Outros estudos, porém, não observaram qualquer evidência estatisticamente significativa do número de parceiros orais e a infecção pelo HPV (PICKARD; XIAO; BROUTIAN, 2012). Curiosamente, o estudo desenvolvido por Schlecht e cols. (2012) que buscou associação da infecção do HPV em regiões genital, anal e oral de adolescentes, conseguiu estabelecer o risco envolvendo o número de parceiros para a infecção viral em região genital e anal, mas não conseguiu estabelecer o mesmo para a boca.

Para se conseguir ampliar os conhecimentos sobre os fatores de risco associados à infecção pelo HPV na boca, é necessário não apenas obter dados pontuais de hábitos gerais e sexuais do indivíduo e sim, pormenores relacionados a esses hábitos. Por exemplo, o tempo transcorrido desde o último coito genital, se ele esteve associado ou não com um coito oral, se o preservativo é utilizado em um ou ambos os coitos, ou até mesmo se o mesmo preservativo é utilizado para os dois coitos no mesmo momento.

Um aspecto que se deve levar em consideração no presente estudo é a possível presença de viés de informação. A omissão de respostas referentes ao aspecto sexual por parte das adolescentes devido à timidez, ou até mesmo uma dificuldade inerente à sua idade,

pode levar o estudo à essa análise. Em um estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro (Brasil), sobre o perfil de adolescentes sexualmente ativos, foi observado que a DST mais presente foi a infecção pelo HPV, que a idade de início das atividades sexuais mostrou-se precoce (entre 13 e 15 anos) e que, embora a maioria relatasse único parceiro fixo e exclusivo, o uso de camisinha era incomum (DIAS et al., 2005). Outro estudo, dessa vez conduzido no Chile, mostrou que adolescentes reportaram conhecer o risco da infecção pelo HPV e a sua associação com o câncer do colo do útero, porém, o uso da camisinha era raro e não associado como fator protetor da infecção pelo vírus (URRUTIA et al., 2012).

A prevalência do HPV parece aumentar com o avançar da idade gestacional, evidenciando-se menores taxas no primeiro trimestre gestacional, e pico no terceiro trimestre (SMITH et al., 1991; MORRISON et al., 1996; MURTA et al., 2001). Como a maioria das adolescentes desse estudo estava no terceiro trimestre gestacional, não foi possível afirmar a influencia da idade gestacional na predisposição à infecção pelo HPV.

O presente estudo apresentou uma prevalência do HPV em colo do útero das gestantes maior do que nos estudos que também envolveram gestantes, possivelmente devido ao fato de que este estudo foi desenvolvido em pacientes que procuraram atendimento em uma maternidade. Por este motivo, evidenciamos diferenças entre os estudos da literatura, bem como uma grande variação da prevalência (2,2% a 36,8%) entre os estudos que envolvem gestantes (**Quadro 3**).

Quanto ao potencial de risco de infecção pelo HPV atribuído à gestação, podemos observar que os estudos são controversos (SCHNEIDER A, HOTZ M, 1987; SOARES

et al., 1990; SMITH et al., 1991; GOPALKRISHNA et al., 1995; DE RODA et al., 1995; CHANG-CLAUDE et al., 1996; MORRISON et al., 1996; VERESS et al., 1996; TENTI et al., 1997; CHAN et al., 2002; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005; AYDIN et al., 2010). Nossa amostra foi composta exclusivamente de pacientes grávidas e por isso não foi possível avaliar diferenças entre a condição de estar grávida ou não e a infecção pelo HPV.

O maior o número de gestações leva a um aumento da carga hormonal, o que favorece a vulnerabilidade e a susceptibilidade de aquisição da infecção pelo HPV na região de colo do útero (SMITH et al., 1991; MURTA et al., 2001). Dessa forma, o risco de desenvolvimento de lesões potencialmente malignas decorrentes da infecção pelo HPV no colo do útero no período gestacional torna-se aumentado. O presente estudo não observou esse risco e/ou susceptibilidade, uma vez que todas as adolescentes do estudo eram primíparas. Portanto, não foi possível verificar se o número de gestações poderia ter sido um dos fatores de risco para a infecção pelo HPV.

O subtipo mais encontrado nos esfregaços genitais das adolescentes desse estudo foi o HPV16, apresentando 23,5% (4 em 17). Em diferentes regiões geográficas do Brasil, esse subtipo tem sido o mais comumente encontrado na infecção do colo do útero (CAIXETA, 2012; OLIVEIRA et al., 2012) ou já associado a carcinomas invasivos de colo do útero (AMARO-FILHO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013).

Estudos tem buscado evidenciar a associação da infecção pelo HPV na doença periodontal (MADINIER et al. 1992; PARRA & SLOTS, 1998; BUSTUS et al., 2001; HORMIA et al., 2005). Em relação às características periodontais analisadas nas adolescentes grávidas desse estudo, foi observado que a maioria exibiu Gengivite no

momento do exame clínico periodontal. Verificou-se também que a Periodontite esteve presente em menor prevalência e que, nos casos em que ele existiu, o HPV não esteve presente. Foi observado, portanto, que o HPV não pareceu ser comum no biofilme de adolescentes gestantes exibindo Gengivite e Periodontite, com uma única amostra de biofilme exibindo a presença do vírus.

Verificamos que o subtipo viral detectado no biofilme foi o HPV6 e a adolescente que teve esse subtipo identificado apresentou o HPV56 (alto potencial oncogênico) no colo do útero. Foi relatado que o HPV pode infectar um mesmo paciente em locais diferentes e com subtipos virais distintos (KELLOKOSKI et al., 1992; BADARACCO et al., 1998; SCHLECHT et al., 2012). O HPV56 é o subtipo viral que está entre os de alto potencial oncogênico comumente encontrados nos estudos que envolvem adolescentes (FISHER & ROSENFELD, 1991; HO et al., 1998; TARKOWSKI et al., 2004; BROWN et al., 2005; MICHALA et al., 2012). Esse subtipo é um dos mais prevalentes no Brasil, bem como no Kuwait, Alemanha, Filipinas e Estados Unidos (AL-AWADHI et al., 2013).

Não foi observada a associação entre HPV encontrado na boca (biofilme) e no colo do útero, uma vez que os subtipos encontrados foram distintos. Entretanto, não fica descartada a hipótese da presença de um subtipo viral predispor a infecção por outros subtipos na mesma paciente, mesmo que em locais anatômicos distintos.

Considerando-se esse caso único da adolescente que apresentou DNA HPV detectado no biofilme coletado, observamos que ela apresentava Gengivite, porém, não apresentava Periodontite. O relato do tempo transcorrido desde o último coito orogenital foi de 4 dias anteriores a consulta pré-natal. O HPV pode residir transitoriamente nos tecidos periodontais (KUROSE et al., 2004). Seguindo essa relação, o que pode ter

ocorrido com o caso da paciente em questão é o breve tempo transcorrido entre esse último contato íntimo orogenital; recente o suficiente para o vírus estar ainda transitoriamente no biofilme e assim, ser detectado. Um estudo longitudinal multicêntrico demonstrou que a presença do vírus em espécimes de bochecho e gargarejo foi mais identificada naqueles indivíduos que relataram coito orogenital há menos de 3 dias (KREIMER et al., 2013).

Observamos que existiu uma associação entre a presença do vírus no colo do útero e Gengivite, ou seja, as adolescentes que apresentavam Gengivite foram também as que exibiram mais infecção pelo HPV no colo do útero. Não identificamos na literatura nenhum estudo que encontrou resultado semelhante. As células do tecido gengival possuem receptores específicos para os hormônios sexuais progesterona e estrógeno. Surto de inflamação gengival parecem ser fortemente influenciados pela alta carga hormonal que a mulher apresenta, tanto durante o pico hormonal existente na adolescência, no ciclo menstrual e na gestação (KUMAR, 2013). No entanto, não existem dados que evidenciam a alteração da composição do biofilme subgengival frente aos picos hormonais nessas fases da vida da mulher (KUMAR, 2013).

Não se pode deixar de ressaltar que a presença de Gengivite era previsto nessa população em virtude da condição de gravidez. Essa amostra de conveniência pode ter resultado em um erro aleatório no momento em que encontramos a maioria das adolescentes exibindo gengivite.

Autores acreditam que sítios com Periodontite podem comumente exibir a presença de material genético viral (HSV, EBV, CMV, HPV e HIV) (PARRA & SLOTS, 1996). No presente estudo, foi observado que 26,6% das adolescentes gestantes apresentaram Periodontite no momento do exame clínico periodontal, entretanto, não foi observada a

presença do DNA do HPV em nenhuma das amostras de biofilme coletado de 4 sítios mais profundos dessas pacientes. Cabe ressaltar que na amostra do estudo apenas 2,5% dos sítios eram profundos.

O presente estudo pesquisou a presença do HPV em amostras de biofilme dental. A literatura não mostra nenhum outro estudo que buscou observar a presença do vírus no biofilme. Outras formas de coleta, porém, foram utilizadas em outros estudos a fim de buscar a presença do HPV nos tecidos periodontais, dentre elas a coleta de fluido gengival crevicular (MADINIER et al., 1992; PARRA & SLOTS, 1996) e biópsias de tecido gengival (BUSTOS et al., 2001; HORMIA et al., 2005; HOREWICZ et al., 2010).

Duas técnicas moleculares foram utilizadas no presente estudo para a pesquisa do HPV no biofilme. Foi observado que quando realizamos o microarranjo, uma amostra de biofilme apresentou o HPV6 e, quando foi utilizado o PCR, nenhuma amostra teve o HPV detectado. A prevalência zero através da técnica de PCR também foi encontrada num estudo em que os autores usaram fluido do sulco gengival ao invés de biofilme dental (ESCALONA et al., 2011). O referido estudo envolveu indivíduos infectados e não infectados para o HIV, com doença periodontal e saudáveis, e foi evidenciada a infecção pelo HPV apenas nos indivíduos HIV positivos com doença periodontal.

Sabe-se que o biofilme dental é caracterizado por ser um sistema complexo, composto em grande parte por bactérias, imerso em uma matriz extracelular. Essas bactérias pertencem a espécies diferentes e interagem entre si, através de um dinâmico processo de troca de nutrientes, protegendo-se umas às outras. Até a adolescência o biofilme sofre modificações e, na fase adulta, tende a se estabelecer e encontrar um equilíbrio na

superfície dental, atingindo assim o que se chama de comunidade clímax (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005).

Outros microorganismos potencialmente patogênicos, como os vírus, podem transitar na comunidade clímax do biofilme dental, porém, mecanismos de seleção natural podem inibir o crescimento e a proliferação desses microorganismos (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005). Entretanto, sendo o HPV um patógeno exclusivamente intracelular, o mesmo pode infectar as células do epitélio local, induzir proliferação de citocinas inflamatórias e recrutamento de células do tipo CD4, podendo causar um desequilíbrio tecidual local e assim predisposição à modificação da comunidade clímax. Portanto, a presença de vírus no biofilme, como o HPV, poderia ter potencial de contribuir para o desequilíbrio da microbiota, favorecendo a instalação de bactérias periodontopatogênicas e potencializando a ação virulenta do biofilme bacteriano subgengival (SLOTS, 2010).

Em muitos casos, resultados negativos de PCR podem ocorrer porque os vírus podem estar ausentes no momento da amostragem periodontal devido a pouca quantidade de DNA viral no periodonto (SLOTS, 2010). Em tempo, pudemos realizar no presente estudo duas manobras técnicas que podem evitar questionamentos dentro desse contexto. A quantificação de DNA viral em todas as 120 amostras de DNA purificado de biofilme foi realizada para se ter a garantia de que havia DNA viral na amostra purificada. A maioria das amostras estava com baixa quantidade de DNA viral, então outra manobra técnica, conduzida na sequência, foi a amplificação do DNA purificado antes da realização do PCR. Com isso, mesmo com a precaução de se amplificar o DNA

viral, pudemos observar que, na técnica de PCR, todas as amostras de biofilme (supragengival e subgengival) foram negativas para o HPV.

Os estudos diferem entre si na forma como se pesquisa o HPV, com diferentes técnicas utilizadas: hibridização DNA-DNA, captura híbrida, PCR, PCR em tempo real, *Nested* PCR, microarranjo, luminex. O microarranjo é uma técnica que possui poder o de identificar o DNA HPV, mesmo com baixo número de cópias virais (SHUKLA et al., 2009). Por esse motivo, as amostras de DNA purificados que foram utilizadas para o teste de microarranjo não foram amplificadas. O microarranjo foi utilizado pela primeira vez em amostras de biofilme dental no presente estudo. A amostra de biofilme que teve o HPV identificado tinha 5,0 ng/dl de DNA viral, quantidade muito pequena para se detectar vírus na amostra se fossem realizadas outras técnicas, mas suficiente para que fosse detectado através dessa técnica. Assim, o microarranjo pareceu apresentar sensibilidade mesmo em amostras com baixa quantidade de DNA viral, como é o caso do biofilme dental.

Mesmo tendo sido realizadas duas técnicas moleculares para a pesquisa do HPV no presente estudo, não foi possível a realização de uma análise estatística para comparar a sensibilidade das duas técnicas entre si, uma vez que não houve amostra positiva suficiente que permitisse a realização de testes de concordância.

Para a identificação da infecção pelo HPV na mucosa bucal saudável, alguns autores não veem a citologia esfoliativa como uma técnica de rastreio confiável (KELLOKOSKI et al., 1990; FAKHRY et al., 2011; RAUTAVA & SYRJÄNEN, 2011). A aplicação do ácido acético na boca pigmenta áreas de hiperqueratinização decorrentes de traumas (mastigatório, por exemplo) ou do uso do cigarro, podendo

induzir resultados falso - positivos (KELLOKOSKI et al., 1990). Exames falso-positivos também podem ser decorrentes de alterações displásicas celulares de outras etiologias não apenas de indução direta do HPV (RAUTAVA & SYRJANEN, 2011). Além disso, a realização de uma única coleta na boca para citologia pode não traduzir as características celulares de toda a mucosa bucal e que os tecidos da região de cabeça e pescoço mais posteriormente localizados, como as tonsilas palatinas, que são profundamente invaginados e de difícil coleta de material celular fidedigno (MAYEAUX & KHAN, 2013).

Autores acreditam que a citologia na boca possui sensibilidade e especificidade apenas quando existe a presença de lesões potencialmente malignas e, mesmo assim, não descartam seu uso associado a testes moleculares (DOLENS et al., 2012). Outros acreditam que lesões potencialmente malignas HPV induzidas na orofaringe apresentam características citológicas subestimadas, ou seja, podem estar infectadas pelo HPV, mas não ter sua presença identificada através da citologia (FAKHRY et al., 2011).

A utilização da citologia esfoliativa para o diagnóstico de lesões malignas na região de cabeça e pescoço tem dividido opiniões. Um estudo que buscou métodos não moleculares de diagnóstico de neoplasias HPV-induzidas dessa região mostrou que a citologia não parece ser a melhor opção para o diagnóstico (KRANE, 2013). Outro estudo evidenciou que a citologia se mostra como grande aliada no diagnóstico não invasivo do carcinoma induzido pelo HPV dessa região, com sensibilidade e especificidade, além de qualidade celular suficiente para testes de genotipagem (MORBINI et al., 2012).

Existiram algumas limitações no presente estudo. A primeira é que não foi possível comparar as condições que podem influenciar a aquisição da infecção pelo HPV na boca, devido à prevalência nula do HPV na boca da população estudada. Ademais, existiu a dificuldade em se comparar os resultados encontrados com aqueles apresentados na literatura devido à diversidade de metodologias empregadas.

Considerando a experiência adquirida no estudo, é de fundamental importância para os programas de prevenção de DST/AIDS aumentar o acesso diferenciado aos adolescentes na atenção primária e incluir intervenções em ambientes não tradicionais, tais como: escolas, parques e até centros de detenção. No entanto, há dificuldade de criação e de implementação dessas estratégias devido à falta de capacitação de pessoal para esse tipo de atividade e o custo de sua manutenção (DELISLE & WASSERHEIT, 1999).

A prevalência da infecção pelo HPV em adolescentes fica atrás apenas do grupo de homens com preferência homossexual (ARAL et al., 2006). Estudos vêm discutindo a importância da construção do conhecimento sobre o HPV em adolescentes, que se trata de uma população específica e que necessita de abordagens e estratégias especialmente criadas para ela, em virtude do peculiar estágio de desenvolvimento cognitivo e psicossocial (KOLLAR & KAHN, 2008; SOUZA et al., 2009). Além disso, pode ser considerada a faixa de idade mais vulnerável para aquisição de HPV e outras DST em todas as sociedades (desenvolvidas, subdesenvolvidas e em desenvolvimento).

---

## 7. CONCLUSÕES

Levando-se em consideração os objetivos propostos e resultados obtidos, podemos concluir que na população de adolescentes grávidas estudadas:

- Não existiu associação entre a infecção pelo HPV em boca e em colo do útero.
- A infecção pelo HPV no colo do útero foi observada em mais da metade da população, sendo melhor evidenciada pela técnica molecular de microarranjo, seguida pelo exame clínico, e pela citologia.
- A prevalência da infecção pelo HPV na boca foi nula, tanto no exame clínico quanto no citopatológico e no teste do microarranjo.
- O HPV teve baixa prevalência no biofilme dental, mas existiu relação entre a presença do vírus no colo do útero e a presença de Gengivite.
- Pareceu existir concordância entre os testes de PCR e microarranjo para identificar o HPV no biofilme dental, entretanto, os resultados negativos impossibilitaram a realização de um teste estatístico que permitisse mensurar o grau de concordância entre eles.
- O subtipo de HPV identificado na boca (biofilme) foi diferente do encontrado no colo do útero da gestante adolescente infectada.

---

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMOPOULOU, M. et al. Prevalence of human papillomavirus in saliva and cervix of sexually active women. **Gynecol Oncol**, v. 129, n. 2, p. 395-400, 2013.

AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **Int Dent J.**, v. 25, n. 4, p. 229-35, 1975.

AL-AWADHI, A. et al. Phylogenetic analysis of partial L1 gene of 10 human papillomavirus types isolated most commonly from women with normal and abnormal cervical cytology in Kuwait. **Arch Virol**, 2013.

AMARO-FILHO, S. et al. A Comparative Analysis of Clinical and Molecular Factors with the Stage of Cervical Cancer in a Brazilian Cohort. **PLoS One**, v. 8, n. 3, p. 1-10, 2013.

ARAL, S. et al. Sexually Transmitted Infections. In: **Dis Cont Prior Develop Count**. 2nd. ed. Washington (DC): World Bank: [s.n.]. p. 311-330, 2006

ARMBRUSTER-MORAES, E. et al. Prevalence of “ high risk ” human papillomavirus in the lower genital tract of Brazilian gravidas. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 69, p. 223-227, 2000.

ARMITAGE, G. Clinical evaluation of periodontal diseases. **Periodontol 2000.**, v. 7, p. 39-53, 1995.

AUTIER, P. et al. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. **Br J Cancer**, v. 74, p. 488-490, 1996.

AVILA, J. **Antropol Física**. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 324

AYDIN, Y. et al. Prevalence of human papilloma virus infection in pregnant Turkish women compared with non-pregnant women. **Eur J Gynaecol Oncol.**, v. 31, n. 1, p. 72-4, 2010.

BADARACCO, G. et al. Concurrent HPV infection in oral and genital mucosa. **J Oral Pathol Med**, v. 27, n. 3, p. 130-134, 1998.

BANURA, C. et al. Prevalence , incidence and clearance of human papillomavirus infection among young primiparous pregnant women in Kampala , Uganda. **In J Cancer**, v. 123, p. 2180-2187, 2008.

BEACHLER, D. et al. Risk Factors for Oral HPV Infection among a High Prevalence Population of HIV-Positive and At-Risk HIV-Negative Adults. **Cancer Epidemiol Biom Prev**, v. 21, n. 1, p. 122-133, 2012.

BEDER RIBEIRO, C. et al. Oral and genital HPV genotypic concordance between sexual partners. **Clin Oral Invest**, v. march 14, 2013.

BONANNI, P.; BOCCALINI, S.; BECHINI, A. Efficacy , duration of immunity and cross protection after HPV vaccination : A review of the evidence. **Vaccine**, v. 27, p. 46-53, 2009.

BRASIL. **Plano de ação para redução da incidência e mortalidade por câncer do colo do útero: sumário executivo**. Rio de Janeiro: INCA, 2010. p. 40p

BRINK, A. A T. P.; SNIJDERS, P. J. F.; MEIJER, C. J. L. M. HPV detection methods. **Dis mark**, v. 23, n. 4, p. 273-81, jan. 2007.

BROWN, D. R. et al. Detection of multiple human papillomavirus types in Condylomata acuminata lesions from otherwise healthy and immunosuppressed patients. **J Clin Microbiol**, v. 37, n. 10, p. 3316-3322, 1999.

BROWN, D. R. et al. A Longitudinal Study of Genital Human Papillomavirus Infection in a Cohort of Closely Followed Adolescent Women. **Journ Infect Dis**, v. 46202, n. 191, p. 182-92, 2005.

BROWN, D. R. et al. The Impact of Quadrivalent Human Papillomavirus Particle Vaccine on Infection and Disease Due to Oncogenic Nonvaccine HPV Types in Generally HPV-Naive Women Aged 16 – 26 Years. **J Infect Dis.**, v. 199, n. 7, p. 926-35, 2009.

BUSTOS, D. A. et al. Human Papillomavirus Infection in Cyclosporin-Induced Gingival Overgrowth in Renal Allograft Recipients. **J Periodontol**, v. 72, p. 741-744, 2001.

CAIXETA, M. **Epidemiologia dos tipos de HPV em exames de genotipagem, citologias cervicais e biópsias penianas: análise de banco de dados de um laboratório clínico do Distrito Federal**. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília, 2012.

CAPPUYNS, I.; GUGERLI, P.; MOMBELLI, A. Viruses in periodontal disease - a review. **Oral Dis**, v. 11, n. 4, p. 219-229, 2005.

CASTELLSAGUE, X.; BOSCH, F. X.; MUN, N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. **Virus Res**, v. 89, p. 191-199, 2002.

CASTRO, I.; BUSSOLOTI FILHO, T. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. **Braz J Otorhinolaryngol**, v. 72, n. 2, p. 272-282, 2006.

CASTRO, T. M. et al. HPV detection in the oral and genital mucosa of women with positive histopathological exam for genital HPV, by means of the PCR. **Braz J Otorhinolaryngol**, v. 75, n. 2, p. 167-171, 2009.

- CAÑADAS, M. et al. Concordance of Prevalence of Human Papillomavirus DNA in Anogenital and Oral Infections in a High-Risk Population. **J Clin Microbiol.**, v. 42, n. 3, p. 1330-1332, 2004.
- CHAN, P. K. S. et al. Prevalence and Genotype Distribution of Cervical Human Papillomavirus Infection: Comparison Between Pregnant Women and Non-Pregnant Controls. **J Med Virol**, v. 67, p. 583-588, 2002.
- CHANG, F. et al. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. **J Oral Pathol Med.**, v. 20, n. 7, p. 305-17, 1991.
- CHANG-CLAUDE, J. et al. Longitudinal Study of the Effects of Pregnancy and Other Factors on Detection of HPV. **Gynecol Oncol**, v. 60, p. 355-362, 1996.
- CHRISTOPOULOS, P. et al. Human papilloma virus in adolescence. **Clin Exp Obstet Gynecol**, v. 35, n. 4, p. 248-251, 2008.
- CIARROCCA, K.; JACKSON, L.; DE ROSSI, S. Human papillomavirus: the fundamentals of HPV for oral health care providers. **J Calif Dent Assoc.**, v. 41, n. 5, p. 349-55, 2013.
- CLIFFORD, G. M. et al. Serologic response to oncogenic human papillomavirus types in male and female university students in Busan, South Korea. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 16, n. 9, p. 1874-9, set. 2007.
- COMBITA, A. et al. Identification of Two Cross-Neutralizing Linear Epitopes within the L1 Major Capsid Protein of Human Papillomaviruses. **J Virol**, v. 76, n. 13, p. 6480-6486, 2002.
- CONTRERAS, A et al. Herpesvirus infection of inflammatory cells in human periodontitis. **Oral microbiology and immunology**, v. 14, n. 4, p. 206-12, ago. 1999.
- COSTA, M. C. et al. Sexually transmitted diseases during pregnancy: a synthesis of particularities Doenças sexualmente transmissíveis na gestação: uma síntese de particularidades. **An Bras Dermatol.**, v. 85, n. 6, p. 767-785, 2010.
- COUPLÉE, F. et al. Risk Factors for Oral Human Papillomavirus in Adults Infected and Not Infected with Human Immunodeficiency Virus. **Sex Transm Dis**, v. 24, n. 1, p. 23-31, 1997.
- DALSTEIN, V.; MERLIN, S.; BALI, C. et al., Analytical evaluation of the PapilloCheck test, a new commercial DNA chip for detection and genotyping of human papillomavirus. **J Med Virol**. v. 156, p. 77-83, 2009.
- DE RODA, H. A. et al. HPV prevalence in cytomorphologically normal cervical scrapes of pregnant women as determined by PCR: the age-related pattern. **J Med Virol.**, v. 46, n. 2, p. 97-102, 1995.

DE VILLIERS, E.-M. et al. Classification of papillomaviruses. **Virology**, v. 324, n. 1, p. 17-27, 20 Jun. 2004.

DELISLE, S.; WASSERHEIT, J. Accelerated Campaign to Enhance STD Services (ACCESS) for Youth: Successes, Challenges, and Lessons Learned. **Sex Transm Dis**, v. 26, n. 4, p. s28-s41, 1999.

DINC, B. et al. Molecular detection of cytomegalovirus, herpes simplex virus 2, human papillomavirus 16-18 in Turkish pregnant women. **Braz J Infect Dis**, v. 14, n. 6, p. 569-574, 2010.

DO SACRAMENTO, P. R. et al. The Prevalence of Human Papillomavirus in the Oropharynx in Healthy Individuals in a Brazilian Population. **J Med Virol**, v. 68, p. 614-618, 2006.

DOLENS, E. et al. Cytopathology: A Useful Technique for Diagnosing Oral Lesions?: A Systematic Literature Review. **Diagn Cytopathol.**, p. 1-10, 2012.

DOMINGO, E. J.; DY ECHO, A. V. Epidemiology, prevention and treatment of cervical cancer in the Philippines. **J Gynecol Oncol**, v. 20, n. 1, p. 11-16, 2009.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **J Clin Virol**, v. 32S, p. S7-S15, 2005.

DU, J. et al. Prevalence of Oral Human Papillomavirus Infection among Youth, Sweden. **Emerg Infect Dis**, v. 18, n. 9, p. 10-13, 2012.

DURZYŃSKA, J. et al. HPV genotypes in the oral cavity/oropharynx of children and adolescents: cross-sectional survey in Poland. **Eur J Pediatr**, v. 170, p. 757, 2011.

D'SOUZA, G. et al. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. **J Infect Dis**, v. 199, n. 9, p. 1263-1269, 2009.

ESCALONA, L. et al. Detection of Human Papillomavirus in gingival fluid of Venezuelan HIV patients with periodontal disease. **Invest Clin**, v. 52, n. 3, p. 207-215, 2011.

ESQUENAZI, D. **Frequência do papillomavirus humano na mucosa oral macroscopicamente normal de estudantes de medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro por meio da reação em cadeia pela polimerase.** Tese de Mestrado. Santa Casa de São Paulo, 2009.

ESQUENAZI, D. et al. The frequency of human papillomavirus findings in normal oral mucosa of healthy people by PCR. **Braz J Otorhinolaryngol.**, v. 76, n. 1, p. 78-84, 2010.

FAKHRY, C. et al. Associations between oral HPV16 infection and cytopathology: evaluation of an oropharyngeal “Pap-test equivalent” in high-risk populations. **Cancer Prev Res (Phila)**, v. 4, n. 9, p. 1378-1384, 2011.

FELLER, L. et al. Epithelial maturation and molecular biology of oral HPV. **Infect Ag Cancer**, v. 4, p. 16, jan. 2009.

FENG, Q. et al. Evaluation of Transported Dry and Wet Cervical Exfoliated Samples for Detection of Human Papillomavirus Infection . **J Clin Microbiol**, v. 48, n. 9, p. 3068-3072, 2010.

FERNANDES, J. V. et al. Prevalence of HPV infection by cervical cytologic status in Brazil. **Intern jour gynaecol obstet: official organ Internat Fed Gynaecol Obstet**, v. 105, n. 1, p. 21-4, abr. 2009.

FISHER, M.; ROSENFELD, W. D. Cervicovaginal human papillomavirus infection in suburban adolescents and young adults. **J Pediatr**, v. 119, p. 821-825, 1991.

FLAKE, C. et al. Screening and detection of human papillomavirus ( HPV ) high-risk strains HPV16 and HPV18 in saliva samples from subjects under 18 years old in Nevada : a pilot study. **BMC Oral Health**, v. 12, n. 1, p. 43, 2012.

FLEURY, M. J. J.; TOUZ, A. et al. Identification of type-specific and cross-reactive neutralizing conformational epitopes on the major capsid protein of human papillomavirus type 31. **Arch Virol**, v. 151, p. 1511-1523, 2006.

HESSELINK, A. T.; HEIDEMAN, D. A. M.; BERKHOF, J.; TOPAL, F.; POL, R. P.; MEIJER, C. J. L. M.; SNIJDERS, P. J. F. Comparison of the Clinical Performance of PapilloCheck Human Papillomavirus Detection with That of the GP5\_/6\_-PCR-Enzyme Immunoassay in Population-Based Cervical Screening. **J Clin Microbiol**, v.48, n.3, p. 797–801, 2010.

GICHKI, A. S. et al. Detection of Human Papillomavirus in Normal Oral Cavity in a Group of Pakistani Subjects using Real-Time PCR. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 13, p. 2299-2304, 2012.

GILLISON, M. et al. Prevalence of Oral HPV Infection in the United States , 2009-2010. **JAMA**, v. 307, n. 7, p. 2009-2010, 2012.

GIRALDO, P. et al. Human papillomavirus in the oral mucosa of women with genital human papillomavirus lesions. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol**, v. 126, n. 1, p. 104-106, 2006.

GIULIANO, A. R. et al. Incidence , Prevalence , and Clearance of Type-Specific Human Papillomavirus Infections : The Young Women ’ s Health Study. **Journ Infect Dis**, v. 186, p. 462-469, 2002.

GONZÁLEZ-LOSA, M. R. et al. Low Prevalence of High Risk Human Papillomavirus in normal oral mucosa by hybrid capture2. **Br J Microb**, v. 39, p. 32-34, 2008.

GOPALKRISHNA, V. et al. Increased human papillomavirus infection with the increasing number of pregnancies in Indian women. **J Infect Dis**, v. 171, n. 1, p. 254-255, 1995.

GOVINDARAJAN, R. et al. Microarray and its applications. **J Pharm Bioallied Sci**, v. 4, n. Suppl 2, p. S310-S312, 2012.

GREENSPAN, D. et al. Effect of highly active antiretroviral therapy on frequency of oral warts. **Lancet**, v. 357, n. 9281, p. 1411-2, 2001.

HECK, J. E. et al. Sexual behaviours and the risk of head and neck cancers: a pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. **Int J Epidemiol**, v. 39, n. 1, p. 166-181, 2010.

HERNÁNDEZ-GIRÓN, C. et al. Factors Among Pregnant and Nonpregnant Women in Mexico. **Sex Transm Dis**, v. 32, n. 10, p. 613-618, 2005.

HO, G. et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **N Engl J Med**, v. 338, p. 423-428, 1998.

HOREWICZ, V. V et al. Human papillomavirus-16 prevalence in gingival tissue and its association with periodontal destruction: a case-control study. **J Periodontol**, v. 81, n. 4, p. 562-568, 2010.

HORMIA, M. et al. Marginal Periodontium as a Potential Reservoir of Human Papillomavirus in Oral Mucosa. **J Periodontol**, v. 76, n. 3, p. 358-363, 2005.

HUBBARD, R. A. Human Papillomavirus Testing Methods. **Arch Pathol Lab Med**, v. 127, 2003.

HUYGHE, A.; FRANÇOIS, P.; MOMBELLI, A. et al. Microarray analysis of microbiota of gingival lesions in noma patients. **Plos Negl Trop Dis**. v. 7, n. 9: e2453.

HWANG, L. et al. Higher levels of cervicovaginal inflammatory and regulatory cytokines and chemokines in healthy young women with immature cervical epithelium. **J Reprod Immunol**, v. 88, n. 1, p. 66-71, 2011.

JAMISON, J. et al. Spectrum of genital human papillomavirus infection in a female adolescent population. **Sex Transm Dis**, v. 22, n. 4, p. 236-243, 1995.

KAHN, J. A.; ROSENTHAL, S. L.; JIN, Y. Rates of Human Papillomavirus Vaccination, Attitudes About Vaccination, and Human Papillomavirus Prevalence in Young Women. **Obstet Gynecol**, v. 111, n. 5, p. 1103-1110, 2008.

KELLOKOSKI, J. et al. Acetowhite staining and its significance in diagnosis of orai mucosai lesions in women with genital HPV infections. **J Oral Pathol Med**, v. 6, n. 26, 1990.

KELLOKOSKI, J. et al. Dot blot hybridization in detection of human papillomavirus (HPV) infections in the oral cavity of women with genital HPV infections. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 7, n. 1, p. 19-23, 1992.

KELLOKOSKI, J.; ET AL. Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. **J Oral Pathol Med**, v. 21, n. 10, p. 459-64, nov. 1992.

KERO, K. et al. Human papillomavirus genotypes in male genitalia and their concordance among pregnant spouses participating in the Finnish Family HPV study. **J Sex Med.**, v. 8, n. 9, p. 2522-31, 2011.

KERO, K. et al. Oral Mucosa as a Reservoir of Human Papillomavirus: Point Prevalence, Genotype Distribution, and Incident Infections Among Males in a 7-year Prospective Study. **Eur urol**, 28 jun. 2012.

KIM, J. J.; GOLDIE, S. J. Health and economic implications of HPV vaccination in the United States. **N Engl J Med**, v. 359, n. 8, p. 821-32, 2008.

KING, M. et al. Human papillomavirus-associated oral warts among human immunodeficiency virus-seropositive patients in the era of highly active antiretroviral therapy: an emerging infection. **Clin Infect Dis**, v. 34, n. 5, p. 641-8, 2002.

KJELLBERG, L. et al. Smoking , diet , pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. **Br J Cancer**, v. 82, n. 7, p. 1332-1338, 2000.

KLEIN, S. L. The effects of hormones on sex differences in infection : from genes to behavior. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 24, p. 627-638, 2000.

KOIDL,C.; BOZIC,M.;, HADZISEJDIC,I.etal.Comparison of molecular assays for detection and typing of human papillomavirus. **Am Obstet Gynecol.** v. 199, n. 2, p.144.e1-6, 2008.

KOLLAR, L. M.; KAHN, J. A. Education about human papillomavirus and human papillomavirus vaccines in adolescents. **Curr Opin Obstet Gynecol**, v. 20, p. 479-483, 2008.

KRANE, J. F. Role of cytology in the diagnosis and management of HPV-associated head and neck carcinoma. **Acta cytologica**, v. 57, n. 2, p. 117-26, jan. 2013.

KREIMER, A. R. et al. Oral Human Papillomavirus Infection in Adults Is Associated with Sexual Behavior and HIV Serostatus. **J Infect Dis**, v. 189, n. 4, p. 686, 2004.

KREIMER, A. R. et al. Incidence and clearance of oral human papillomavirus infection in men: the HIM cohort study. **Lancet**, v. 6736, n. 13, p. 1-11, 2 jul. 2013.

KUMAR, P. S. Sex and the subgingival microbiome : Do female sex steroids affect periodontal bacteria ? **Periodontol 2000**, v. 61, p. 103-124, 2013.

KUROSE, K. et al. Low prevalence of HPV infection and its natural history in normal oral mucosa among volunteers on Miyako Island, Japan. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio**, v. 98, p. 91-6, 2004.

LACEY, C. J. N. et al. 2012 European guideline for the management of anogenital warts. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, p. 1-8, 2012.

LAMBROPOULOS, A. et al. Incidence of human and 33 in normal oral mucosa of a Greek population. **Eur J Oral Set**, v. 105, p. 294-297, 1997.

LAWTON, G. et al. Human papillomaviruses in normal oral mucosa: a comparison of methods for sample collection. **J Oral Pathol Med.**, v. 21, n. 6, p. 265-9, 1992.

LEIGH, J. Oral warts rise dramatically with use of new agents in HIV. **HIV Clin**, v. 12, n. 2, p. 7, 2000.

LINDHE, J.; HAMP, S.; LOE, H. Experimental periodontitis in the beagle dog. **Int Dent J**, v. 23, p. 432-437, 1973.

LINDHE, J.; LANG, N.; KARRING, T. **Tratado de Priodontia Clínica e Implantologia Oral**. 5<sup>a</sup> edição ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 698

LOOMIS, D. M. et al. Cervical cytology in vulnerable pregnant women. **J Am Acad Nurse Pract**, v. 21, p. 287-294, 2009.

MADINIER, I. et al. Southern blot detection of human papillomaviruses (HPVs) DNA sequences in gingival tissues. **J Periodontol**, v. 63, n. 8, 1992.

MAMMAS, I.; SOURVINOS, G. Human papilloma virus ( HPV ) infection in children and adolescents. **Eur J Pediatr**, v. 168, p. 267-273, 2009.

MAMMAS, I. et al. Human papillomavirus in the oral cavity of children and mode of delivery: a retrospective study. **Int J STD AIDS.**, v. 23, n. 3, p. 185-8, 2012.

MARTINELLI, M. et al. Human papillomavirus ( HPV ) infection and genotype frequency in the oral mucosa of newborns in Milan , Italy. **Clin Microbiol Infect**, v. 18, p. E197-E199, 2012.

MAYEAUX, E. J.; KHAN, M. J. Nongenital human papillomavirus disease. **Obstet and gynecol clinics N Am**, v. 40, n. 2, p. 317-37, jun. 2013.

MICHALA, L. et al. Gynecologic Oncology Human Papilloma Virus infection in sexually active adolescent girls. **Gynecol Oncol**, v. 126, n. 2, p. 207-210, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Avaliação tecnológica de vacinas para a prevenção de infecção por papilomavírus humano (HPV): estudo de custo-efetividade da incorporação de vacina contra HPV no Programa Nacional de Imunizações/PNI do Brasil**. Brasília: p. 1-156.

MORBINI, P. et al. Exfoliated cells of the oral mucosa for HPV typing by SPF10 in head and neck cancer. **J Virol Methods**, v. 186, n. 1-2, p. 99-103, dez. 2012.

MORRISON, E. A. B. et al. Pregnancy and cervical infection with human papillomaviruses. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 54, p. 125-130, 1996.

MOSCICKI, A. et al. Human Papillomavirus Infection in Sexually Active Adolescent Females : Prevalence and Risk Factors. **Pediatr Res**, v. 28, n. 5, p. 507-513, 1990.

MOSCICKI, A. et al. Variability of human papillomavirus DNA testing in a longitudinal cohort of young women. **Obstet Gynecol.**, n. 82, p. 578-85, 1993.

MOSCICKI, A. et al. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. **J Pediatr**, v. 132, p. 277-284, 1998.

MOSCICKI, A. Genital Human Papillomavirus Infections in Children and Adolescents. **Curr Probl Dermatol**, p. 134-140, 2000.

MOSCICKI, A.-B. HPV infections in adolescents. **Dis Markers**, v. 23, n. 4, p. 229-34, jan. 2007.

MOUNT, S.; PAPILLO, J. A Study of 10 296 Pediatric and Adolescent Papanicolaou Smear Diagnoses in Northern New England. **Pediatrics**, v. 103, n. 3, p. 539-545, 1999.

MURTA, E. et al. Human Papillomavirus Infection in Adolescents: Relation to Contraceptive Method, Pregnancy, Smoking, and Cytologic Findings. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet**, v. 23, n. 4, p. 217-221, 2001a.

**National Cancer Institute Bethesda System**. Disponível em: <<http://benchmarks.cancer.gov/2002/04/bethesda-2001-a-revised-system-for-reporting-pap-test-results/>>.

OLIVEIRA, C. M. DE et al. Human papillomavirus genotypes distribution in 175 invasive cervical cancer cases from Brazil. **BMC Cancer**, v. 24, n. 13, p. 357, 2013.

OLIVEIRA, F. et al. Human papillomavirus genotype distribution and risk factors for infection in women from a small municipality in north east Brazil. **Int J STD AIDS.**, v. 23, n. 9, p. e5-10, 2012.

PAASO, A. E. et al. Lack of type-specific concordance between human papillomavirus (HPV) serology and HPV DNA detection in the uterine cervix and oral mucosa. **J Gen Virol**, v. 92, n. 9, p. 2034-2046, 2011.

PALESFSKY, J. et al. HPV Vaccine against Anal HPV Infection and Anal Intraepithelial Neoplasia. **N Engl J Med**, v. 365, p. 1576-85, 2011.

PALMROTH, J. et al. Natural seroconversion to high-risk human papillomaviruses (hrHPVs) is not protective against related HPV genotypes. **Scand J Infect Dis**, v. 42, n. 5, p. 379-84, 2010.

PANICI, P. et al. Oral condyloma lesions in patients with extensive genital human papillomavirus infection. v. 167, n. 2, p. 451-8, 1992.

PARRA, B.; SLOTS, J. Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. **J Microbiol Immunol**, v. 5, p. 289-293, 1996.

PEIXOTO, A. P. et al. Asymptomatic oral human papillomavirus (HPV) infection in women with a histopathologic diagnosis of genital HPV. **Journal of oral science**, v. 53, n. 4, p. 451-9, dez. 2011.

PICKARD, R. K. L.; XIAO, W.; BROUTIAN, T. R. The Prevalence and Incidence of Oral Human Papillomavirus Infection Among Young Men and Women , Aged 18 – 30 Years. **Sex Transm Dis**, v. 39, n. 7, p. 559-566, 2012.

PINHEIRO, R. S. et al. Human papillomavirus coinfection in the oral cavity of HIV-infected children. **J Clin Pathol**, v. 64, p. 1083-1087, 2011.

PRESHAW, P. Definitions of periodontal disease in research. **J Clin Periodontol.**, v. 36, n. 1, p. 1-2, 2009.

RAMA, C. et al. Detecção sorológica de anti-HPV 16 e 18 e sua associação com os achados de papanicolaou em adolescentes e mulheres jovens. **Rev Assoc Med Bras**, v. 52, n. 1, p. 43-47, 2006.

RAMFJORD, S.; ASH, M. J. **Periodontology and Periodontics**. 1. ed. Sanders, WB, 1979. p. 374 - 375

RAUTAVA, J.; SYRJANEN, S. Human papillomavirus infections in the oral mucosa. **J Am Dent Assoc**, v. 142, n. 8, p. 905-14, 2011.

RAUTAVA, J.; SYRJÄNEN, S. Human papillomavirus infections in the oral mucosa. **JADA**, v. 8, n. 142, p. 905-14, 2011.

READ, T. R. H. et al. Oral human papillomavirus in men having sex with men: risk-factors and sampling. **PLoS one**, v. 7, n. 11, p. e49324, jan. 2012.

RINTALA, M. et al. High-Risk Types of Human Papillomavirus ( HPV ) DNA in Oral and Genital Mucosa of Infants during Their First 3 Years of Life : Experience from the Finnish HPV Family Study. **Clin Infect Dis.**, v. 41, n. 12, p. 1728-33, 2005.

RINTALA, M. et al. Natural history of oral papillomavirus infections in spouses : A prospective Finnish HPV Family Study. **J Clin Virol**, v. 35, p. 89-94, 2006.

ROSENFELD, W. et al. High Prevalence Rate of Human Papillomavirus Infection and Association With Abnormal Papanicolaou Smears in Sexually Active Adolescents. **Arch Pediatr Adolesc Med.**, v. 143, n. 12, p. 1443-1447, 1989.

ROSENFELD, W. et al. Follow-up evaluation of cervicovaginal human papillomavirus infection in adolescents. **J Pediatr**, v. 121, p. 307-311, 1992.

SAINI, R. et al. High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. **Virol J**, v. 16, n. 7, p. 131, 2010.

SANDERS, A. E.; SLADE, G. D.; PATTON, L. L. National prevalence of oral HPV infection and related risk factors in the U . S . adult population. **Oral Dis**, v. 18, p. 430-441, 2012.

SANFILIPPO, J. S.; LARA-TORRE, E. Adolescent Gynecology. **Obstet Gynecol**, v. 113, n. 4, p. 935-947, 2009.

SANTOS, N. S. DE O. et al. Viroses Oncogênicas. In: KOOGAN, E. G. (Ed.). **Introdução à virologia humana**. 2<sup>a</sup> edição ed. Rio de Janeiro: Santos, Norma Suely de Oliveira Romanos, Maria Tereza Villela Wigg, Marcia Dutra, 2008. p. 448-463.

SAĞLAM, F. et al. Human papillomavirus in a patient with severe gingival overgrowth associated with cyclosporine therapy. A case report. **J Periodontol**, v. 67, n. 5, p. 528-31, 1996.

SCHLECHT, N. F. et al. Cervical , Anal and Oral HPV in an Adolescent Inner-City Health Clinic Providing Free Vaccinations. **PLoS One**, v. 7, n. 5, p. 1-10, 2012.

SCHNEIDER A, HOTZ M, G. L. Increased prevalence of human papillomaviruses in the lower genital tract of pregnant women. **In J Cancer**, v. 40, n. 2, p. 198-201, 1987.

SCHNEIDER, A. et al. Sensitivity of the cytologic diagnosis of cervical condyloma in comparison with HPV-DNA hybridization studies. **Diagn Cytopathol**, v. 3, n. 3, p. 250-255, 1987.

SCHOPP, B.; HOLZ, B.; ZAGO, et al. Evaluation of the Performance of the Novel PapilloCheck<sup>®</sup> HPV Genotyping Test by Comparison With Two Other Genotyping Systems and the HC2 Test. **J Med Virol.** v. 82, p. 605–615, 2010.

SETHI, S. et al. Serologic response to the E4 , E6 , and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. **Am J Obstet Gynecol.**, v. 178, p. 360-4, 1998.

SHETTY, K.; CHATTOPADHYAY, A.; LEIGH, J. Detection and typing of human papilloma virus in the oral mucosa of patients infected with human immunodeficiency virus. **Oral Oncol EXTRA**, v. 41, p. 311-315, 2005.

SHUKLA, S. et al. Infection of human papillomaviruses in cancers of different human organ sites. **Indian J Med Res**, v. 130, n. 3, p. 222-233, 2009.

SINGHAL, P.; NASWA, S.; MARFATIA, Y. S. Pregnancy and sexually transmitted viral infections. **Indian J Sex Transm Dis.**, v. 30, n. 2, p. 71-78, 2009.

SLOTS, J. Human viruses in periodontitis. **Periodontol 2000**, v. 53, p. 89-110, 2010.

SMITH, E. et al. The association between pregnancy and human papilloma virus prevalence. **Cancer Detect Prev.**, v. 15, n. 5, p. 397-402, 1991.

SMITH, E. M. et al. HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. **Infect Dis Obstet Gynecol**, v. 12, n. 2, p. 45-56, 2004.

SMITH, E. et al. Prevalence of Human Papillomavirus in the Oral Cavity / Oropharynx in a Large Population of Children and Adolescents. **Pediatr Infect Dis J**, v. 26, n. 9, p. 836-840, 2007a.

SMITH, E. M. et al. Prevalence of human papillomavirus in the oral cavity/oropharynx in a large population of children and adolescents. **Pediatr Infect Dis J**, v. 26, n. 9, p. 836-840, 2007b.

SMITH, J. S. et al. Age-Specific Prevalence of Infection with Human Papillomavirus in Females : A Global Review. **J Adolesc Health**, v. 43, p. S5-S25, 2008.

SOARES, V. et al. Human papillomavirus DNA in unselected pregnant and non-pregnant women. **Int J STD AIDS.**, v. 1, n. 4, p. 276-8, 1990.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Periodontal microbial ecology. **Periodontol 2000**, v. 38, p. 135-187, 2005.

SOLOMON, D. et al. The 2001 Bethesda System Terminology for Reporting Results of Cervical Cytology. **JAMA**, v. 287, p. 2114-2119, 2002.

SOSORBARAM, K. et al. Human Papillomavirus Infection in the Normal Oral Cavity of Young People in Mongolia. **Oral Med Pathol**, v. 11, n. 2, p. 105-112, 2006.

SOUZA, L. R. et al. Perfil sexual e frequencia de infecções genitais em adolescentes atendidos em uma clínica universitária. **J bras Doenças Sex Transm**, v. 21, n. 2, p. 78-82, 2009.

STEINAU, M. et al. Oral sampling and human papillomavirus genotyping in HIV-infected patients. **J Oral Pathol Med**, v. 41, p. 288-291, 2012.

SUMMERSGILL, K. F. et al. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 91, n. 1, p. 62-69, 2001.

SYRJANEN, S. Human papillomavirus infections and oral tumors. **Med Microbiol Immunol**, v. 192, n. 3, p. 123-128, 2003.

SYRJANEN, S. et al. Acquisition of High-Risk Human Papillomavirus Infections and Pap Smear Abnormalities among Women in the New Independent States of the Former Soviet Union. **J Clin Microbiol**, v. 42, n. 2, p. 505-511, 2004.

SYRJANEN, S. HPV infections and tonsillar carcinoma. **J Clin Pathol**, v. 57, p. 449-455, 2004.

SYRJÄNEN, S. et al. Oral HPV Infection : Current Strategies for Prevention and Therapy. **Curr Pharm Des**, v. 18, n. 34, p. 5452-5469, 2012.

SÁNCHEZ-VARGAS, L. O.; DÍAZ-HERNÁNDEZ, C.; MARTINEZ-MARTINEZ, A. Detection of Human Papilloma Virus (HPV) in oral mucosa of women with cervical lesions and their relation to oral sex practices. **Infect Agent Cancer**, v. 5, n. 1, p. 25, jan. 2010.

TARKOWSKI, T. A. et al. Epidemiology of Human Papillomavirus Infection and Abnormal Cytologic Test Results in an Urban Adolescent Population. **J Infect Dis**, v. 189, p. 46-50, 2004.

TENTI, P. et al. Latent Human Papillomavirus Infection in Pregnant Women at Term : A Case- Control Study. **J Infect Dis**, v. 176, p. 277-280, 1997.

TERAI, M. et al. High prevalence of human papillomaviruses in the normal oral cavity of adults. **Microbiol Immunol.**, v. 14, n. 4, p. 201-5, ago. 1999.

TERMINE, N. et al. Low rate of oral human papillomavirus (HPV) infection in women screened for cervical HPV infection in Southern Italy: A cross-sectional study of 140 immunocompetent subjects. **J Med Virol**, v. 81, n. 8, p. 1438-1443, 2009.

TERMINE, N. et al. Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: New data from an Italian cohort and a metanalysis of the literature. **Oral Oncol**, v. 47, p. 244-250, 2011.

TRISTÃO, W. et al. Epidemiological study of HPV in oral mucosa through PCR. **Braz J Otorhinolaryngol.**, v. 78, n. 4, p. 66-70, 2012.

TURNER, D. O. et al. High-risk human papillomavirus ( HPV ) screening and detection in healthy patient saliva samples : a pilot study. **BMC Oral Health**, v. 11, n. 1, p. 28, 2011.

VAN DE VELDE, N. et al. Population-level impact of the Bivalent , Quadrivalent , and Nonavalent Human Papillomavirus Vaccines : A Model – Based Analysis. **J Natl Cancer Inst**, v. 104, n. 22, p. 1712-1723, 2012.

VAN DOORNUM, G. et al. Prevalence of Human Papillomavirus Infections Among Heterosexual Men and Women With Multiple Sexual Partners. **J Med virol**, v. 37, p. 13-21, 1992.

VAN RANST, M.; KAPLAN, J. B.; BURK, R. D. Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. **J Gen Virol**, v. 73, p. 2653-60, out. 1992.

VERESS, G. et al. Follow-up of human papillomavirus ( HPV ) DNA and local anti-HPV antibodies in cytologically normal pregnant women. **Med Microbiol Immunol**, v. 185, p. 139-144, 1996.

WIDDICE, L. E.; MOSCICKI, A.-B. Updated guidelines for papanicolaou tests, colposcopy, and human papillomavirus testing in adolescents. **J Adolesc Health**, v. 43, n. 4 Suppl, p. S41-51, out. 2008.

WINER, R. L. et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. **Am J Epidemiol**, v. 157, n. 3, p. 218-226, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Adolescent Health and Development**. Disponível em: <[http://www.searo.who.int/en/Section13/Section1245\\_4980.htm](http://www.searo.who.int/en/Section13/Section1245_4980.htm)>.

XAVIER, S. D. et al. Frequência de Aparecimento de Papilomavírus Humano ( HPV ) na Mucosa Oral de Homens com HPV Anogenital Confirmado por Biologia Molecular  
Frequency of Appearance of Human Papillomavirus ( HPV ) in Oral Mucosa of Men with Anogenital HPV by a Molecular Techn. **Arq Int Otorrinolaringol**, v. 11, n. 1, p. 36-44, 2007.

XAVIER, S. D. et al. Prevalence of human papillomavirus (HPV) DNA in oral mucosa of men with anogenital HPV infection. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 108, n. 5, p. 732-737, 2009.

ZONTA, M. A. et al. Oral infection by the Human Papilloma Virus in women with cervical lesions at a prison in São Paulo, Brazil. **Braz J Otorhinolaryngol.**, v. 78, n. 2, p. 66-72, 2012.

ZUR HAUSEN, H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. **Biochim Biophys Acta.**, v. 1288, n. 2, p. F55-78., 1996.

ZUR HAUSEN, H.; DE VILLIERS, E. Human papilloma viruses. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 48, p. 427-47, 1994.

---

**ANEXO A. APROVAÇÃO DO CEP/ME-UFRJ**


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
**Maternidade-Escola**  
**Comitê de Ética em Pesquisa**



Rio de Janeiro, 01 de agosto de 2011.

Informamos a V. S<sup>a</sup>. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro – CEP/ME-UFRJ, constituído nos Termos da Resolução CNS nº 196/96 e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao Protocolo de Pesquisa, conforme abaixo, discriminado:

**PROTOCOLO DE PESQUISA CEP/ME-UFRJ - Nº. 10/2010**  
**CAAE: 0011.0.361.000-10 Adendo: 107/2011**

**Título do Projeto original:** *“Avaliação da colonização bucal pelo HPV em gestantes adolescentes de acordo com a presença de lesão genital HPV- induzida”.*

**Classificação no Fluxograma:** Grupo III

**Pesquisador Responsável:** Sandra Regina Torres (orientadora) e Édila Figueiredo Feitosa

**Instituição onde o trabalho de campo se realizará:** Maternidade Escola da UFRJ

**Instituição de origem:** Departamento de Patologia e Diagnóstico Oral, FO/UFRJ

**Data de recebimento do projeto original no CEP/ME-UFRJ:** 09/06/2010

**Data da apreciação:** 28/06/2010

**Data de recebimento do relatório e pedido de modificação do projeto inicial:** 06/07/2010

**Data de apreciação em plenária:** 15/07/2010

**ADENDO**

*Conforme deliberação do Plenário do CEP ME, conclui-se que não há impedimentos ou questões éticas a serem enfrentadas para que os novos procedimentos metodológicos, coletas de placa subgingival e bochecho/gargarejo, venham a integrar a pesquisa supracitada. Entende-se, também, que a alteração de título para: “Colonização bucal pelo HPV em gestantes adolescentes de acordo com a presença de lesão genital HPV-induzida”, não apresenta comprometimento algum para o projeto.*

*Outras alterações: a pesquisa contará com outros colaboradores: Departamento de Patologia do Harborview Medical Center da Universidade de Washington e Instituto D’or.*

**Parecer do CEP/ME-UFRJ: APROVADO**

Esclarecemos, que o CEP/ME-UFRJ deverá ser informado de quaisquer fatos relevantes (incluindo mudanças no método) que alterem o curso normal do estudo, devendo o pesquisador justificar caso, o mesmo venha a ser interrompido.

  
**Dr. Ivo Basílio da Costa Júnior**  
 Coordenador da Residência Médica em Obstetria  
 Maternidade-Escola da UFRJ  
 CRM: 52.50381-1 SIAPE: 1186327

Rua das Laranjeiras, 180 - Laranjeiras - CEP: 22240-003 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil  
 Tel.: (21) 2285-7935 - Tel/Fax: (21) 2205-9064 - E-mail: pesquisa@me.ufrj.br

**INSTITUTO D'OR**  
**PESQUISA E ENSINO**

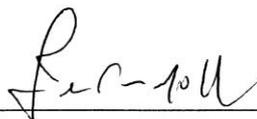
## CARTA COMPROMISSO DA INSTITUIÇÃO

Rio de Janeiro, 7 de Junho de 2010.

Ao(a) **Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Escola da UFRJ**

A instituição *Rede Labs-D'Or* (Labs Cardiolab Exames Complementares Ltda, sigla: LABSDOR; CNPJ: 27001049000115) com sede na *Rua Almirante Baltazar, 383/435 São Cristóvão - Rio de Janeiro - RJ - 20941-150*, e mantenedora do *Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino*, declara a sua garantia de apoio às atividades do projeto intitulado "**Avaliação da colonização bucal pelo HPV em gestantes adolescentes de acordo com a presença de lesão genital HPV-induzida**", tese de mestrado da aluna *Édila Figuerêdo Feitosa Cavalcanti*, sob a orientação da Prof. Dra. *Sandra Regina Torres*. A instituição, com intuito de estimular a produção científica e sem fins lucrativos neste ato, se compromete a viabilizar a execução do teste diagnóstico molecular, disponibilizando os kits de coleta (swabs), kit de extração de DNA viral e kit de detecção e genotipagem (PapilloCheck-DNA chip) para HPV, de acordo com o estipulado no referido projeto.

Atenciosamente,



Fernanda Tovar-Moll  
Diretoria de Pesquisa  
Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Você está sendo convidado para participar da pesquisa que tem o título “**Avaliação da colonização bucal pelo HPV em gestantes adolescentes de acordo com a presença de lesão genital HPV-induzida**”. Você foi selecionado por que é adolescente e está grávida. A sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar sem nenhum prejuízo para o seu atendimento na instituição. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição. Se você quiser participar, guardaremos segredo de todas as informações a seu respeito. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados serão divulgados no meio científico, mas os participantes não serão identificados.

**APRESENTAÇÃO:**

O HPV é uma abreviação do nome de um vírus chamado Papiloma vírus humano, que gosta da pele e da boca. Pode ser adquirido por contato direto com a pele de uma pessoa que possua a infecção ou através do beijo na boca. Também se pode pegar o HPV através de relações sexuais. Pode ser responsável por feridas na boca e/ou nos órgãos sexuais (vagina). Neste estudo iremos observar se sua boca e vagina têm a presença do vírus HPV.

Sua participação nesta pesquisa consistirá num exame da boca e na coleta de um pouco de material da bochecha e do céu da boca com uma escovinha. Não será feito nenhum corte na boca e não terá sangramento. Será feito também um exame da vagina, pelo médico, da mesma forma: com uma escovinha que será passada no local. Também não haverá cortes.

Os riscos relacionados com sua participação é que se você possuir alguma ferida na boca ou na vagina pode haver um sangramento ou incomodo no momento em que a escova passar no local.

Os benefícios relacionados com a sua participação é que poderemos saber se as pessoas que tem o vírus na vagina têm na boca também. Isso vai ajudar a fazer a localização e o tratamento dessas feridas que o vírus HPV causa. Se voce tiver feridas pelo HPV na vagina, estas serão tratadas pelo ginecologista da Maternidade Escola da UFRJ. Se apresentar lesões pelo HPV na boca, será encaminhada para tratamento na Faculdade de Odontologia da UFRJ.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

---

Nome e assinatura do pesquisador

*Em caso de dúvida, procurar Prof<sup>a</sup> Sandra Torres*

*Clínica de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da UFRJ - Tels. 2562-2046 ou 2562-2043*

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar. \_\_\_\_\_

Sujeito da pesquisa

---

 APÊNDICE B. FICHA DE COLETA DE DADOS
 

---

Faculdade de Odontologia  
 Maternidade-Escola  
 Instituto D'Or de Pesquisa



nº da adolescente: \_\_\_\_\_

Protocolo Maternidade-Escola: \_\_\_\_\_

**“INFECÇÃO PELO HPV EM GESTANTES  
 ADOLESCENTES ASSISTIDAS NO AMBULATÓRIO  
 DE PRÉ NATAL DA MATERNIDADE-ESCOLA DA  
 UFRJ: CORRELAÇÃO EM BOCA E GENITAL”.**

Dados pessoais:

Nome: \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_  
 Bairro: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_  
 Telefone(s) \_\_\_\_\_  
 Nascimento: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Cor: Leucoderma melanoderma  
 feoderma xantoderma

Comportamento Social:

Grau de escolaridade: analfabeto (1)/ 1º grau (2)/ 2º grau (3)

Está na escola? S/N

Primípera? S/N Primeiro Bebe (houve aborto antes dessa gravidez)? S/N

Mora em casa: com os pais? S/N Com o pai do bebe? S/N Mora sozinha? S/N Casada  
 com o pai do bebe? S/N Outros: \_\_\_\_\_

Número de parceiros que teve durante a vida: Há quantos dias teve a ultima relação  
 vaginal?

Já fez sexo oral? S/N Se sim, com que frequência faz? Quando foi a ultima vez que  
 fez sexo oral?

1. Dados Clínicos:

1. HPV induzida? _____ 0. não 1.sim	
<b>2. Alterações na mucosa bucal</b>	
1. Mucosa normal	13. Herpes Labial
2. Alteração de desenvolvimento	14. Estomatite hérpética
3. Hiperplasias reacionais	15. Outras infecções não-odontogenicas
4. lesões papilomatosas	16. Tumorações benignas
5. Injúrias provocadas por próteses	17. Ceratose friccional
6. Úlceras traumáticas	18. Líquen plano
7. Aftas	19. leucoplasia
8. Mucocele	20. Eritroplasia

9. Rânula	21. Carcinoma espinocelular ou verrucoso
10. Sialolitíase	22. Sarcoma
11. Outras sialodenopatias	23. Evidência de alterações Ósseas
12. Candidíase	24. Outras
3. Localização	
1. Ausente	12. Dorso lingual
2. Mucosa jugal direita	13. Ventre lingual
3. Mucosa Jugal esquerda	14. Bordo lateral de língua - esquerdo
4. Mucosa Jugal bilateral	15. Bordo lateral de língua - direito
5. Mucosa Labial superior	16. Bordo lateral de língua - bilateral
6. Mucosa Labial inferior	17. Vermelhão do lábio superior
7. Mucosa Labial superior e inferior	18. Vermelhão do lábio inferior
8. Palato duro	19. Vermelhão do lábio superior e inferior
9. Palato mole	20. Comissura labial esquerda
10. Assoalho	21. Comissura labial direita
11. Região retromolar	22. Comissura bilateral

3. Descreva os medicamentos utilizados pelo paciente dentro dos últimos 7 dias, a dose e o tempo de uso:

Medicamento	Dose

#### 4. Hábitos:

Cigarros: (S/N). Se sim, quantos por dia antes da gravidez? \_\_\_\_ e durante a gravidez? \_\_\_\_

Alcool: (S/N). Se sim, quantos drinques na semana antes da gravidez? \_\_\_\_ e agora? \_\_\_\_

Café: (S/N). Se sim, quantos drinques na semana antes da gravidez? \_\_\_\_ e agora? \_\_\_\_

Maconha: (S/N). se sim, quantas vezes /semana antes da gravidez? \_\_\_\_ e agora? \_\_\_\_

Cocaina: (S/N). se sim, quantas vezes /semana antes da gravidez? \_\_\_\_ e agora? \_\_\_\_

Alterações da mucosa (diagnóstico e descrição):

---



---



---

5. PCR e genotipagem de boca:

Data:	1. ausente	2. presente
	tipos	

--	--

## 6. PCR e genotipagem de placa subgingival:

Data:	1. ausente	2. presente
	tipos	

7. Papanicolaou (cervix) – dados do prontuário

0 Negativo	53 CIS
5 Unsat	62 CEC
26 mudança cel reacional	70 Celulas endoteliais benignas
30 ASC-US, SOE (exclui HPV)	80 AGUS, SOE
31 ASC-US, reacional	81 Celulas endo atípicas, SOE
32 ASC-US, descartar LSIL	82 Celulas endo atípicas, reac
33 ASC-US, metaplasia	83 Celulas endo atípicas, neoplasticas
40 LSIL, sem associacao com HPV	90 AIS
41 LSIL, células caract cont pelo HPV	91 Adenocarcinoma, NOS
42 LSIL, NIC 1	92 Endo adenoca
50 HSIL, SOE	93 Endometrial adenoca
51 HSIL, NIC 2	98 other neoplastic
52 HSIL, NIC 3	

## 8. Contaminação: boca versus colo do útero

Em vagina	Em boca
-----------	---------



**“A construção do conhecimento sobre o HPV em adolescentes”**

Édila Figuerêdo Feitosa<sup>1</sup>; Célia Regina da Silva<sup>2</sup>; Mariana Monteiro Vasconcellos<sup>1</sup>; Mirella Giongo<sup>1</sup>; Maria Cynésia Medeiros de Barros Torres<sup>1</sup>; Sandra Regina Torres<sup>1\*</sup>.

**Resumo:**

Cerca de 20% da incidência global das neoplasias malignas é atribuível a persistência de infecções, mais comumente as virais. O Vírus do Papiloma Humano (HPV), responsável por 5% dessa carga global. A infecção é geralmente crônica e aumenta o risco de desenvolver câncer no colo do útero, na região anal, região anogenital de homens, e na região de cabeça e pescoço.

Este trabalho tem como proposta abordar conhecimentos básicos sobre o HPV, além de propostas de prevenção sobre a transmissão do vírus, principalmente na adolescência, que representa uma faixa etária vulnerável ao primeiro pico de infecção.

**Abstract:**

About 20% of the malignancies are attributable to persistent infections, mainly viral. The Human Papilloma Virus (HPV) is responsible for 5% of the global burden. The HPV is a chronic infection and increases the risk of developing cancer in the cervix, the anal region, anogenital region of males, and in the head and neck.

The aim of this manuscript is to address basic knowledge about HPV, as well as proposals for preventing the transmission of the virus, with focus on adolescents, an age group that is vulnerable to the first peak of infection.

**Introdução**

Atualmente, mudanças socioculturais importantes interferem no início precoce das relações sexuais, assim como no aumento da multiplicidade de parceiros. Os adolescentes costumam ser vulneráveis a comportamentos de risco para aquisição de doenças sexualmente transmissíveis (DST). O início precoce da atividade sexual, o

contato íntimo com mais de um parceiro experimentado ao longo da vida, o uso esporádico de preservativo, o consumo de bebida alcoólica e drogas ilícitas têm sido considerados preditores para as DST<sup>29</sup>.

A infecção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV) caracteriza-se por ser predominantemente uma infecção sexualmente transmissível muito comum e é descrito com mais de 100 subtipos geneticamente diferentes. Seus subtipos virais são classificados em dois grupos, de acordo com seu potencial de transformação celular: baixo risco carcinogênico e alto risco carcinogênico. O HPV de baixo risco carcinogênico parece não oferecer potencial de progressão para malignidade da célula infectada, porém, é responsável pelo surgimento de verrugas na região anogenital<sup>8</sup>. Os vírus de alto risco carcinogênico apresentam o potencial de transformação maligna da célula infectada<sup>9</sup>.

A adolescência representa a faixa etária que tem sido acometida com frequência por estar sendo caracterizada por uma fase de iniciação precoce das suas atividades sexuais<sup>2</sup>. A capacidade de prevenir a evolução da infecção pelo HPV e o aparecimento do câncer em jovens mulheres e homens tem uma relação direta com acesso a serviços de saúde e a informação, por serem importantes aliados à sexualidade consciente e crítica.

Este trabalho tem como proposta realizar uma breve revisão sobre conhecimentos básicos sobre a infecção pelo HPV, além de propostas de prevenção sobre a transmissão do vírus, principalmente na adolescência, que representa uma faixa etária vulnerável ao primeiro pico de infecção.

### **Revisão da literatura**

O HPV é um DNA-vírus pertencente à família *Papillomaviridae*, que possui tropismo pelo tecido epitelial e, portanto, é capaz de provocar lesões em pele e mucosas<sup>1</sup>. A maioria dos casos origina lesões de crescimento limitado e de resolução espontânea<sup>2,3</sup>. Infecções persistentes sugerem inabilidade da resposta imunológica do indivíduo, ou podem persistir devido a fatores exógenos como o uso de contraceptivos orais e tabagismo<sup>4</sup>.

O HPV pode ser transmitido horizontalmente através do sexo genital, anal e, embora ainda não claramente definido, através do sexo oral e do beijo na boca<sup>2,5,6</sup>. Têm

sido descritos outros meios de contaminação, a saber: através do canal do parto (transmissão vertical); do líquido amniótico (transplacentária), além do leite materno ou auto-inoculação<sup>7</sup>. Na década de 80, o alemão Harald zur Hausen isolou o DNA do HPV de células neoplásicas do colo do útero, confirmando a suspeita da presença do vírus com o desenvolvimento de câncer nessa região<sup>6</sup>.

### *Epidemiologia do HPV*

Já está bem estabelecida a influência e interação do HPV com o processo de carcinogênese na região anogenital. A transmissão do HPV tem sido estimada em 6,2 milhões de novos casos a cada ano, sendo caracterizada como a doença sexualmente transmissível (DST) mais comum entre homens e mulheres<sup>10</sup>. Em mulheres, a prevalência da infecção é comumente evidenciada próximo aos 25 anos, com um segundo pico entre 45 e 54 anos<sup>11</sup>. O HPV é a infecção sexualmente transmissível mais comum com mais de 80% das mulheres sexualmente ativas tendo sido expostas ao vírus<sup>12</sup>. Em homens, a infecção viral é mais frequente entre aqueles com idade inferior aos 30 anos, diminuindo significativamente com o avançar da idade<sup>13</sup>. Adolescentes têm sido acometidos com frequência por estarem iniciando suas atividades sexuais cada vez mais precocemente<sup>2</sup>.

No Brasil, o câncer do colo do útero é o segundo tipo de câncer mais frequente entre as mulheres, com estimativas de, aproximadamente, 17:100.000 novos casos em 2012. A presença do HPV em 90% dos tumores diagnosticados faz com que ele seja considerado como um fator biológico importante no desenvolvimento do câncer do colo, responsável pelo óbito de aproximadamente 230 mil mulheres/ano. Sua incidência é cerca de duas vezes maior em países menos desenvolvidos quando comparada aos países mais desenvolvidos<sup>14</sup>.

O câncer de pênis é uma neoplasia rara responsável por menos de 0,5% de todos os cânceres que acometem homens no mundo<sup>15</sup>. Entre 1998 e 2003, esse tipo de câncer acometeu 0,81/100.000 homens nos EUA<sup>16</sup>, com idades entre 50-70 anos<sup>17</sup>. Fatores de risco associados ao desenvolvimento do câncer de pênis podem incluir: não circuncisão ao nascimento, fimose, verrugas na região ano-genital e infecção pelo HPV<sup>18</sup>. Estimou-se que uma média de 40% dos tumores malignos de pênis seja atribuída à infecção pelo HPV<sup>19</sup>.

Na boca, as lesões causadas pelo HPV apresentam em geral características benignas, e na maioria das vezes, são solitárias, exibindo em média, menos de 1cm de diâmetro. Surgem em maior frequência no palato mole, língua, freio lingual e lábio inferior, nessa ordem<sup>20</sup>. A prevalência do HPV em região de cabeça e pescoço é relatada em 1,5% em crianças e adolescentes até os 20 anos<sup>4</sup>.

Quantificar a prevalência do HPV na boca de indivíduos saudáveis é um desafio que necessita ser encarado<sup>21</sup>. Existe uma grande variação (22 - 60%) na prevalência do vírus na mucosa bucal e que essa variação pode ser dada por estudos que utilizam pequenas amostras e variados métodos de detecção<sup>27</sup>. Sabe-se, entretanto, que pessoas infectadas pelo vírus na região de cabeça e pescoço possuem até 32 vezes mais chances de desenvolver neoplasias malignas quando comparados com pacientes que não exibem a infecção pelo vírus<sup>26</sup>.

Estudos envolvendo diversas populações, incluindo brasileiros, mostraram que o comportamento sexual pode ser um fator de risco para a infecção pelo HPV em boca, bem como, para o desenvolvimento do câncer bucal<sup>22</sup>. Essa hipótese tem sido relatada porque existe uma relação direta entre a infecção pelo vírus na boca e o número de parceiros sexuais orais.<sup>15,18,46</sup> Estudos mostram que pacientes que já tiveram mais de 11 parceiros sexuais orais têm 5,2 vezes mais chances de terem sido infectados pelo HPV do que aqueles que tiveram  $\leq 01$  parceiro sexual oral<sup>5</sup>. Entretanto, o HPV por si só não deve ser tratado como único fator de risco para a carcinogênese oral. Fatores de risco como tabagismo e consumo do álcool por longos períodos, além de fatores nutricionais e genéticos, podem ajudar a contribuir para o surgimento da doença<sup>28</sup>.

Em lesões neoplásicas de cabeça e pescoço, sabe-se que o HPV encontra-se presente nos carcinomas de orofaringe<sup>21,22</sup>. Entretanto, ainda não se conhece a história natural da doença na boca<sup>30,31</sup> nem se tem a comprovação que o vírus esteja incluído como fator presente, predisponente ou determinante no desenvolvimento de neoplasias em outros sítios anatômicos dessa região<sup>23</sup>.

Atualmente, no Brasil, a ampliação da atenção primária de saúde através da Estratégia da Saúde da Família fortalece o acesso a partir da concretização da universalização, equidade e integralidade no cuidado à saúde. Neste sentido, torna-se possível gerar um prognóstico de redução e controle da incidência de morbimortalidade relacionada ao HPV.

### *O HPV em adolescentes*

A atenção à saúde do adolescente vem se tornando uma prioridade, no Brasil e em muitos países, e este processo se deve à constatação de que as condições de vida e o estilo de vida do adolescente são cruciais, não somente para ele, como também para as gerações futuras. De forma geral, temos resultados positivos no que se refere à organização de serviços para o atendimento a este grupo etário. Um modelo de atendimento baseado na prestação da atenção integral a esta clientela foi implementado partindo das experiências adquiridas nos programas pioneiros de atendimento à mulher e à criança. Contudo, o acesso universal ao SUS e a outros sistemas de saúde no mundo, assim como, a garantia de integralidade da atenção para este grupo etário em particular ainda exige atenção e perícia gerencial<sup>31</sup>.

A adolescência está inserida na faixa etária dos 10 aos 19 anos<sup>33</sup>, sendo o período de iniciação sexual do indivíduo onde está incluso não só o ato sexual genital como também o anal, oral e o beijo na boca. A inoculação genital primária do HPV é muitas vezes assintomática e subclínica. Estudos mostram que o vírus pode ser detectado em mais de 50% das mulheres em média 3 a 4 anos após o início de sua atividade sexual<sup>12,34</sup>.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde<sup>33</sup>, os problemas de saúde que acometem adolescentes podem ser de âmbito físico, psicológico e social, podendo ser restritos apenas ao indivíduo ou se estender ao coletivo. Métodos para prevenção contra as DST's não podem fugir da informação aos adolescentes.

Temos 11% da população brasileira na adolescência, isto é, mais de 21 milhões de meninos e meninas com possibilidades reais para se fortalecer a prevenção considerando os importantes avanços das últimas duas décadas nas áreas da saúde e educação. Portanto, o Brasil vive uma oportunidade única demográfica de potencialidades do futuro que se quer construir.

O aspecto da maior relevância na eficácia para a instituição de um programa de atenção integral a saúde de adolescentes e jovens adultos é a sua especificidade no que se apresenta como a necessidade de adequação da linguagem e da forma de atuação dos profissionais, para o alcance de um nível de compreensão dos vários segmentos que constituem esta população.

Dados da Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE)<sup>30</sup>, em 2009, mostram que 87,4% dos estudantes da rede pública e 89,4% dos estudantes da rede privada haviam recebido informações sobre "aids e doenças sexualmente transmissíveis" em atividades na escola ou em suas comunidades. Entretanto, nem sempre o caminho da informação à prática é efetivo, vide o avanço da infecção por HIV na faixa etária de 13 a 24 anos no Brasil, cuja incidência evoluiu de 35% em 2000 para 42,7% em 2008.

Os adolescentes formam um grupo heterogêneo, a efetividade de uma política de atenção necessita levar em conta as diferenças que lhe são inerentes. Estas se apresentam em relação à faixa etária (adolescência inicial, intermediária e tardia), diferença de gênero, inserção no ambiente familiar (os que têm família e moram com ela e os que não têm), no âmbito educacional (os que frequentam a escola e os que estão fora dela), condição social (os que vivem com parceiros ou não), quanto à sua condição física (portadores ou não de doenças físicas ou mentais), quanto à moradia (os que moram em zona urbana ou rural) e os que pertencem a minorias raciais, religiosas ou culturais<sup>32</sup>.

A idade cada vez mais jovem de iniciação às práticas sexuais, acompanhada de uma alta incidência do HPV em mulheres jovens, com o risco de desenvolvimento de lesões percussoras e invasivas no colo do útero, sugere que existe um comportamento/risco biológico que faz com que adolescentes sejam mais vulneráveis não só à contaminação pelo vírus, mas de persistência da infecção<sup>12</sup>. A possibilidade de contaminação pelo HPV e o desenvolvimento de lesões invasivas em adolescentes não pode ser ignorada, e que nesse sentido, o rastreamento não pode ser desconsiderado nessa fase<sup>12</sup>. Considera-se prudente que o início do rastreamento fosse realizado com base no risco comportamental da adolescente, isto é, início da atividade sexual<sup>44</sup>.

O vírus pode muitas vezes induzir a formação de lesões benignas, associadas com os tipos de baixo potencial carcinogênico e não associadas com mortalidade. No entanto, mesmo que benignas essas lesões podem causar stress psicossocial que deve ser tratado com a mesma importância uma vez que marginaliza quem as desenvolve<sup>35</sup>.

Estudos mostram que existe uma diferença na prevalência do HPV quando se compara pacientes com idade abaixo dos 21 anos em relação àqueles com idade acima dos 35 anos. Pacientes jovens apresentam uma prevalência do HPV no colo do útero de

12-56%, e em mulheres em torno de 30 anos, essa prevalência ocorre em apenas 2-7%<sup>12</sup>.

Vacinas produzidas com partículas semelhantes ao HPV (VPL's: *virus-like particle*) foram desenvolvidas para prevenir a contaminação dos subtipos mais comuns do HPV. São idealmente indicadas para pacientes antes de iniciar o período de atividade sexual, com idade entre 09 e 26 anos<sup>36</sup>. A vacina bivalente (Cervarix<sup>®</sup>/ GSK) imuniza pacientes contra os HPV 16 e 18. A vacina quadrivalente (Gardasil<sup>®</sup>/ MSD) imuniza contra o HPV6, 11, 16 e 18. Ainda em estágio experimental, a nonavalente imuniza contra o HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58<sup>9</sup>. No setor privado, as vacinas disponíveis no mercado interno brasileiro foram regulamentadas e aprovadas pela Agência Nacional Vigilância Sanitária para indivíduos na faixa etária de 09 a 26 anos, apenas com caráter profilático, não sendo sua indicação terapêutica no auxílio ao tratamento de lesões precursoras do câncer e no câncer de colo do útero.

A vacina do HPV protege apenas contra alguns tipos, no entanto, a existência outros tipos os quais a vacina não contempla faz com que a relação sexual protegida, seja ela de qual tipo for (genital, anal ou oral), continue necessária<sup>45</sup>. Ensaios clínicos têm observado que pacientes que são imunizados contra os subtipos virais produzem anticorpos contra eles e podem apresentar uma proteção cruzada contra outros subtipos<sup>39,40</sup>. Anticorpos produzidos contra o HPV16 podem ser efetivos contra os subtipos 31, 33 e 58. O mesmo ocorre entre o HPV 18 e 45<sup>41,42</sup>. É válido ressaltar que indivíduos não imunizados que passam pela história natural da doença parecem não desenvolver a mesma proteção cruzada<sup>43</sup>.

A partir do registro da vacina pela ANVISA, em 2006, constituiu-se um Grupo de Trabalho Especial (GT) pelas diferentes áreas do Ministério da Saúde, com objetivo de assessorar as decisões sobre a incorporação da vacinação contra HPV na rede SUS<sup>37</sup>. Em 2010, a portaria MS nº 310 instituiu o GT com objetivo de realizar análise do Programa Nacional do Controle do Câncer de Colo de Útero, para formular propostas de aprimoramento e suas ações Brasil<sup>38</sup>. Destacou-se a ênfase nas ações que visam à melhoria a atenção à saúde da mulher, não devendo essa se substituída pela vacinação. Concluiu-se no relatório final do GT que uma nova geração de vacinas, mais complexas, com maior espectro de ação e menos onerosas se encontra em desenvolvimento, com propósito de repasse de tecnologia a países em desenvolvimento. O desenvolvimento desta nova vacina esta sendo promovida em parceria de laboratórios

da Europa e Índia com apoio da Agência Internacional de pesquisa em câncer (IARC), com perspectivas de disponibilização em cinco anos.

Elevadas taxas de regressão do HPV nos adolescentes estimula alguns países a aumentar a idade para o início do rastreio. Nos Estados Unidos, a *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) recomenda o início do rastreio 03 anos após o início das atividades sexuais ou aos 21 anos. No Reino Unido, as recomendações são de rastreio aos 25 anos. Na Austrália, as recomendações do *National Health and Medical Research Council* parecem ser mais rigorosas, com início do rastreio aos 18 anos, ou 2 anos após o início das atividade sexuais<sup>12</sup>.

No Brasil, o rastreio a partir dos 25 anos é o recomendado<sup>14</sup>. Para o IARC<sup>19</sup>, a baixa incidência de câncer no cólo do útero em mulheres com menos de 25 anos, não justifica o rastreamento por não ter impacto na redução da incidência e/ou mortalidade por câncer do colo do útero. Estratégias de fortalecimento e ampliação da atenção primária no Sistema Único de Saúde (SUS) estabelecem atenção direcionada aos jovens buscando captá-los o mais precocemente quanto possível para garantir acesso à informação e cuidado específico. O Programa Saúde na Escola, articulado à Estratégia de Saúde na Família, constitui um programa com métodos eficazes para se abordar questões sobre a saúde dos adolescentes. O ambiente da escola e a comunicação direcionada para a idade favorece ao jovem a aceitação de orientações sobre sexualidade e seus riscos de uma maneira geral<sup>31</sup>. Essa informação na escola não deve ser vista pelos pais e/ou responsáveis como um estímulo ou incentivo aos seus filhos de uma prática de iniciação sexual precoce e sim, um canal de informação que tende a ser absorvido com maior riqueza de detalhes e informações dada a um grupo específico para conhecimento do que são as DST e como prevení-las<sup>45</sup>. Como todo processo educacional, o programa saúde na escola deve ser realizado de modo que respeite a singularidade de vida de cada indivíduo, família e comunidade com relação aos valores sociais, culturais e religiosos<sup>31,45</sup>.

O comportamento que o adolescente pode adquirir de busca ativa pela informação médico-assistencial pode ser influenciado por estratégias planejadas para a prevenção em serviços preventivos e curativos direcionado a eles. Esses serviços se tornam importantes porque têm o potencial de influenciar nesse comportamento.

O desenvolvimento de estratégias educativas sobre o HPV é essencial<sup>31</sup>. A prevenção contra o câncer induzido pelo vírus pode advir da adesão dos adolescentes aos programas sociais que incluem: educação em saúde, com abordagem comportamental e uso de tecnologias para conhecimento, como a internet; rastreamento; e vacina.

Profissionais de saúde devem assumir o papel de educadores em saúde e mostrar que mais do que sexo seguro é necessário comportamento consciente, crítico e seguro. As políticas de saúde, através da educação em saúde, devem ter o objetivo de fazer com que adolescentes incorporem a responsabilidade quanto ao seu comportamento sexual.

A OMS sugere iniciativas que podem ser incorporadas ao sistema público com o enfoque nos adolescentes: infraestrutura nas escolas para uma abordagem no próprio ambiente do adolescente, desenvolvimento de programas de educação baseados no tema “saúde reprodutiva e sexualidade”, além de recursos humanos preparados para tal abordagem. A justificativa advém do fato do adolescente ter uma curiosidade, inerente à sua idade, com relação ao sexo e uma tendência ao experimento. É nessa fase de maturação física e psicológica que o adolescente adquire, mudando seu contexto e posição dentro da sociedade a qual irá influenciar no seu comportamento. Esses programas podem funcionar como um estopim para o desenvolvimento e inclusão de outros programas de acordo com a necessidade epidemiológica de cada local<sup>33</sup>.

O aprendizado não deve ser restrito ao ambiente escolar. A comunidade como um todo pode influenciar na formação do comportamento do adolescente. A família e as redes sociais são uma importante fonte de apoio e conhecimento. Pais, irmãos mais velhos e colegas também podem ser considerados como uma importante fonte de apoio, de aprendizagem contínua para o jovem em formação<sup>31</sup>.

### **Conclusões**

É sabido que o desenvolvimento do adolescente acontece ao mesmo tempo em várias esferas (física, psicológica e social). Esta revisão procurou abordar a importância do entendimento sobre o HPV e o papel da comunidade que cerca o adolescente em formação (médico, cirurgião-dentista, enfermeiro, psicólogo, assistente social, pais, educadores) em estimular a busca pelo conhecimento de forma que a incidência do vírus possa vir a diminuir não só com estratégias curativas, mas preventivas através da vacina

e do entendimento e de mudanças no conceito do comportamento em seu ambiente social.

O desenvolvimento do protagonismo juvenil a partir das atividades de promoção de saúde é mais eficaz quando desenvolvido numa perspectiva de saúde coletiva, pois considera o indivíduo dentro de seu contexto social econômico e cultural. Esta proposta pedagógica geradora da autonomia facilita a abordagem de diversos problemas, como atividade sexual precoce, pressão de grupo, uso de drogas, prevenção de acidentes, violência urbana, escolha profissional, entre outros. Internacionalmente, intitula-se promoção de saúde as intervenções que permitem ao jovem adquirir competência e segurança na auto-gestão de sua vida. Hoje a abordagem ao adolescente exige um novo enfoque de atenção integral, cujo modelo dinâmico comporta transformações contínuas na medida em que se pauta nas necessidades globais de atendimento da população alvo. O desafio reorienta a formação de profissionais de saúde transformando o espaço de cuidado num processo contínuo de construção coletiva interdisciplinar e intersetorial cujo objetivo é abarcar a complexidade do universo adolescente.

### Referências Bibliográficas

1. Castro TPPG, Bussoloti Filho I. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. *Braz J Otorhinol.* 2006;72(2):272–82.
2. Christopoulos P, Papadias K, Panoulis K, Deligeoroglou E. Human papilloma virus in adolescence. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2008;35(4):248–51.
3. Dunne EF, Unger ER, Mcquillan G, Swan DC, Patel SS, Markowitz LE. Prevalence of HPV Infection Among Females in the United States. *JAMA.* 2012;297(8):813–9.
4. Smith EM, Ritchie J, Wang D, Turek L. Prevalence of Human Papillomavirus in the Oral Cavity / Oropharynx in a Large Population of Children and Adolescents. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26(9):836–40.
5. D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis.* 2009;199(9):1263–9.
6. Zur Hausen H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta.* 1996;1288(2):F55–78.
7. Pinheiro R dos S, França TRT, Ferreira D de C, Ribeiro CMB, Leao JC, Castro GF. Human papillomavirus in the oral cavity of children. *J Oral Pathol Med.* 2010;1–6.

8. Brown DR, Schroeder JM, Bryan JT, Stoler MH, Fife KH. Detection of multiple human papillomavirus types in Condylomata acuminata lesions from otherwise healthy and immunosuppressed patients. *J Clin Microbiol.* 1999;37(10):3316–22.
9. Van De Velde N, Boily M, Drolet M, Franco EL, Mayrand M, Kliewer E V, et al. Population-level impact of the Bivalent, Quadrivalent, and Nonavalent Human Papillomavirus Vaccines: A Model – Based Analysis. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1712–1723. 2012;104(22):1712–23.
10. Cates W. Estimates of the Incidence and Prevalence of Sexually Transmitted Diseases in the United States. *Sex Trans Dis.* 1999;26:1–7.
11. Gravitt PE. The known unknowns of HPV natural history. *J Clin Invest.* 2011;121(12):4593–9.
12. Moscicki A-B. HPV infections in adolescents. *Dis markers.* 2007 Jan;23(4):229–34.
13. Hoy T, Singhal P, Willey V, Insinga R. Assessing incidence and economic burden of genital warts with data from a US commercially insured population. *Curr Med Res Opin.* 2009;25(10):2343–51.
14. Instituto Nacional de Cancer(INCA). Estimativa 2012 : Incidence of Cancer in Brazil. Ministério da Saúde. Brasil; 2011; 118p.
15. Parkin DM, Bray F. Chapter 2 : The burden of HPV-related cancers. *Vaccine.* 2006;S3/11:11–25.
16. Hernandez BY, Barnholtz-sloan J, German RR, Giuliano A, Goodman MT, King JB, et al. Burden of Invasive Squamous Cell Carcinoma of the Penis in the United States, 1998–2003. *Cancer.* 2009;113(808):2883–91.
17. Bleeker MC, Heideman DA, Snijders PJ, Horenblas S, Dillner J MC. Penile cancer: epidemiology, pathogenesis and prevention. *World J Urol.* 2009;27(2):141–50.
18. Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG, Schwartz SM, Shera KA, Wurscher MA, et al. Penile cancer : importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in situ and invasive disease. *Int. J. Cancer.* 2005;616:606–16.
19. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Human. *Human papillomaviruses.* 2007. p. 1–636.
20. Chang F, Syrjänen S, Kellokoski J SK. Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med.* 1991;20:305–7.
21. Cogliano V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B EGF. Carcinogenicity of human papillomaviruses. *Lancet Oncol.* 2005;6(4):204.
22. D’Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH GM. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2007;356(19):1944–56.

23. Kreimer AR, Bhatia RK, Messegue AL, González P, Herrero R, Giuliano AR. Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Trans Dis*. 2010 Jun;37(6):386–91.
24. Kurose K, Terai M, Soedarsono N, Rabello D, Nakajima Y, Burk R, et al. Low prevalence of HPV infection and its natural history in normal oral mucosa among volunteers on Miyako Island, Japan. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;98:91–6.
25. Domingo EJ, Dy Echo AV. Epidemiology, prevention and treatment of cervical cancer in the Philippines. *J Gynecol Oncol* 2009;20(1):11–6.
26. Xavier SD, Bussoloti Filho I, De Carvalho JM, Castro TM, Framil VM, Syrjanen KJ. Prevalence of human papillomavirus (HPV) DNA in oral mucosa of men with anogenital HPV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* . 2009;108(5):732–7.
27. Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek LP HT. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope*. 1998;108(7):1098–103.
28. Cardesa A, Nadal A. Carcinoma of the head and neck in the HPV era. *Acta derm Alp*. 2011 Sep;20(3):161–73.
29. Silva PDB, Oliveira MDS, Matos MA, Tavares VR, Medeiros M, Brunini S, Teles SA. Comportamento de risco para as doenças sexualmente transmissíveis em adolescentes escolares de baixa renda. *Revista Eletrônica de Enfermagem*. 2005; 07(2):185 - 189.
30. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar, PENSE. Rio de Janeiro; 2009.
31. Kollar LM, Kahn JA. Education about human papillomavirus and human papillomavirus vaccines in adolescents. *Curr Op Obst and Gynecol*. 2008;20:479–83.
32. Irenberg O, Perrone N, Moreno E. Saúde do adolescente: competências e habilidades. 1st ed. Saúde M da, editor. Brasília; 1992.
33. World Health Organization. Adolescent Health and Development. 2007. Disponível em: [http://www.searo.who.int/en/Section13/Section1245\\_4980.htm](http://www.searo.who.int/en/Section13/Section1245_4980.htm)
34. Richardson H, Kelsall G, Tellier P. The Natural History of Type-specific Human Papillomavirus Infections in Female University Students. *Cancer Epidemiol Biom Prev*. 2003;12:485–90.
35. Jeynes C, Chung MC CR. “Shame on you”--the psychosocial impact of genital warts. *Int J STD AIDS*. 2009;20(8):557–60.
36. World Health Organization. Human papillomavirus and HPV vaccines: technical information for policy-makers and health professionals. 2007.

37. Ministério da Saúde. Avaliação tecnológica de vacinas para a prevenção de infecção por papilomavírus humano (HPV): estudo de custo-efetividade da incorporação de vacina contra HPV no Programa Nacional de Imunizações/PNI do Brasil. Brasília; 2012. p. 1–156.
38. Brasil. Plano de ação para redução da incidência e mortalidade por câncer do colo do útero: sumário executivo. Rio de Janeiro; 2010. 40p.
39. Combita A, Touzé A, Bousarghin L, Christensen ND, Coursaget P. Identification of Two Cross-Neutralizing Linear Epitopes within the L1 Major Capsid Protein of Human Papillomaviruses. *J Virol.* 2002;76(13):6480–6.
40. Fleury MJJ, Touz A et al. Identification of type-specific and cross-reactive neutralizing conformational epitopes on the major capsid protein of human papillomavirus type 31. *Arch Virol.* 2006;151:1511–23.
41. Bonanni P, Boccalini S, Bechini A. Efficacy, duration of immunity and cross protection after HPV vaccination : A review of the evidence. *Vaccine.* 2009;27:46–53.
42. Brown DR, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen O, Hernandez-avila M, Wheeler CM, et al. The Impact of Quadrivalent Human Papillomavirus Particle Vaccine on Infection and Disease Due to Oncogenic Nonvaccine HPV Types in Generally HPV-Naive Women Aged 16 – 26 Years. *J Infect Dis.* 2009;199(7):926–35.
43. Palmroth J, Namujju P, Simen-Kapeu A, Kataja V, Surcel HM, Tuppurainen M, Yliskoski M, Syrjänen K LM. Natural seroconversion to high-risk human papillomaviruses (hrHPVs) is not protective against related HPV genotypes. *Scand J Infect Dis.* 2010;42(5):379–84.
44. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki AB, Smith RA, Eyre HJ CCACS. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J Clin.* 2002;52(6):342–62.
45. Vallely LA, Roberts SA, Kitchener HC, Brabin L. Informing adolescents about human papillomavirus vaccination : What will parents allow ? *Vaccine.* 2008;26:2203–10.
46. Brasil. Saúde do Adolescente: competências e habilidades. 1st ed. Ministério da Saúde, editor. Brasília; 1995. 747 p.

**“Oral and cervical HPV infection in a pregnant adolescent - A case report”**

Édila Figuerêdo FEITOSA<sup>1</sup>; Dennis de Carvalho FERREIRA<sup>2</sup>; Célia Regina da SILVA<sup>3</sup>; Inês Kopschitz Praxedes Baeta NEVES<sup>3</sup>; Maria Cynésia de Medeiros Barros TORRES<sup>1</sup>; Sandra Regina TORRES<sup>1\*</sup>.

**Abstract**

Adolescence and pregnancy are considered risk factors for the Human Papillomavirus (HPV) infection. The relationship between uterine cervix and oral HPV infection is controversial. The aim of this report is to describe a case of a pregnant 16-year-old adolescent who presented HPV infection in the cervix and the mouth. Swabs were collected from the cervix and the tongue/palate. Dental biofilm also was collected. The microarray assay technique (Papillocheck®) was used to detect the HPV. The HPV56 subtype was observed in the cervix smear and the HPV6 in dental biofilm. In this pregnant adolescent, there was between HPV infection in the cervix and the mouth, since there were different HPV subtypes infecting those areas.

**Keywords:** HPV, adolescence, dental biofilm, periodontitis, pregnancy.

**Introduction**

The Human Papillomavirus (HPV) infection is the most common sexually transmitted disease (STD). Risk factors related to the acquisition of the virus are multiple partners, oral contraceptive and early start of sexual activities<sup>(1)</sup>. Studies have been suggested HPV infection in induction of anogenital cancers and others anatomical sites such as head and neck area<sup>(28)</sup>. The immunological vulnerability of some groups of individuals, such as pregnant women and adolescents may be considered predictors for the

acquisition of HPV. In fact, the incidence of HPV-induced lesions<sup>(8)</sup> is higher in younger pregnant women ( $\leq 24$  years) than adult women, with a prevalence between 49 and 60%<sup>(6,7)</sup>.

Women who are infected with the HPV, usually present exacerbated cellular response with the development of persistent lesions of benign or malignant nature<sup>(3)</sup>. The hormonal alterations that occur during some periods of women's life may predispose to immunosuppression. During pregnancy, the cervix hypertrophy results in the migration of the squamocolumnar junction, which becomes exposed and everted<sup>(4)</sup>. The hormonal and physical changes associated with the immunological vulnerability of pregnant women may result in the persistence of the infection and affect the progression of HPV-induced lesions<sup>(5-7)</sup>.

In order to promote the health of both mother and child, adherence to primary measures of health care must be complied, in pregnant women. The cervical screening is an extremely important exam for the identification of early infections and abnormalities in the genitourinary tract. Health education strategies are powerful tools for the knowledge about HPV, representing a major role to increase awareness among HPV risk groups. Knowledge about the viral transmission and the possible ways of preventing infection is important for controlling the infection<sup>(9)</sup>. Social and cultural changes and access to the internet, have increased permissive sexual behavior of adolescents, which represents a negative influence on HPV infection and other STDs control<sup>(10)</sup>. Therefore, the access to health care information has become an important guide for the practice of protective intercourse.

Once infected with HPV, the risk of transmission to others people by direct contact is imminent. The treatment of the induced HPV lesion may vary from home therapies

(with immunomodulatory agents applied by own individual) to surgical therapies. The present case report describes a 16-year-old patient who was diagnosed with cervix and oral HPV infection.

### **Case Report**

A 16-year-old pregnant adolescent attended a routine prenatal care at the Maternity School of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ). According to her medical records, she had history of syphilis and bacterial vaginosis that had been adequately treated at the same health service. In the clinical examination performed during the first quarter of pregnancy, she presented cervix lesions diagnosed as HPV-induced lesions in the cytopathology. Patient received orientation regarding the HPV infection and for the periodic control of the cervix lesions. Moreover, aspects about prevention of STD, including oral sex, and family planning issues were addressed.

By the time of the clinical appointment, she was 31 weeks pregnant with her first child. She was using an oral contraceptive method, which failed due to the incorrect use, and resulted in an unwanted pregnancy. When interviewed, she reported that her active sex life started when she was 13 years old, and had 10 sex partners since the first sexual intercourse, but at that moment, she had only one sexual partner. During the interview she also reported a weekly frequency of vaginal intercourse and oral sex. The last vaginal and oral intercourses had been in the previous day and four days earlier, respectively. She stated that she had never used alcohol, marijuana or cocaine.

On the genital exam, white staining areas were identified on the uterine cervix, after acetic acid application. Local smears for cytopathological analysis were collected from these areas. Slides were sent to the laboratory at the Maternity School of UFRJ. An oral examination was performed, including a complete periodontal exam, during the same

appointment. She presented a coated tongue, but no oral lesions. The dental exam revealed the presence of healthy teeth. The gingival bleeding index, dental plaque index, and the mean depth of the gingival sulcus probing were recorded. The patient presented bleeding in 9% of the gingival sites and the dental biofilm in 65% of teeth sites. The mean probing depth was 2.24 mm, with no attachment lost.

The slides sent to the laboratory were processed by Papanicolaou (Pap) test. The sent cytological evaluation was assessed by the Bethesda criteria and presented koilocytosis, nuclear enlargement, nuclear hyperchromasia, irregular nuclear outlines and perinuclear halos. These findings suggest the diagnosis of low grade intraepithelial lesions.

Swab samples for HPV identification were collected from the cervix and the mouth (dorsum of the tongue and the area of the soft and hard palate). Samples of dental biofilm were also collected with a sterile periodontal curette, from the teeth with deeper pockets. The samples collected were submitted to DNA purification (QIAamp DNA Mini Kit®, Qiagen), amplification by PCR (HotStar Taq DNA Polymerase, Qiagen) and microarray reaction for DNA HPV genotyping (Papillocheck®, Greiner-Bio-One).

The cervical smear showed the presence of DNA HPV56, high-risk subtype. No DNA HPV was detected in the tongue/palate smear. The DNA HPV6 was detected in one the four samples of the dental biofilm. The HPV was present in the periodontal sulcus of lower left canine. The depth of the gingival sulcus at this site was 4 mm, and it did not present bleeding on probing.

Preventive measures were reaffirmed and a clinical monitoring approach was addressed for the cervix HPV-induced lesions, which consisted in cervical screening every 12 months. The lesions showed a self-healing course within the first year of observation.

## Discussion

The presence of HPV infected lesions are sometimes evidenced only by screening techniques<sup>(11-14)</sup>. In this case report a patient presented asymptomatic cervix lesions, suggestive of HPV infection that were identified by white staining after acetic acid application, and diagnosed by a cytopathology exam as low-grade intraepithelial lesions<sup>(4,15)</sup>. The identification of a high-risk HPV56 in the cervix lesion showed the importance of using molecular techniques for identifying the subtype of the virus.

The HPV56 viral subtype detected in the pregnant adolescent is among the high-risk oncogenic subtypes that might be found in adolescents<sup>(16-20)</sup>. It's also frequently found in populations of adult women in countries such as in Kuwait, Germany, Philippines, United States and Brazil<sup>(21)</sup>.

The HPV infection in pregnant women may be persistent and exacerbated. The reported patient presented a low-grade HPV-induced lesion, with a high-risk oncogenic HPV subtype. However, as a general rule, these lesions do not require treatment, due to the transient and self-healing course of more than 70% of the cases<sup>(22)</sup>. The protocol for monitoring low-grade squamous intraepithelial lesions in adolescents ( $\leq 20$  years) is to perform cytology every 12 months, for a period of two years<sup>(23)</sup>. Thus, the clinical monitoring approach was used for the patient in this case report. In fact, the lesions in this patient self-healed in the first year of the follow up.

The presence of HPV DNA has been observed in some pathological conditions that affect the mouth. The virus has been identified in abscesses of endodontic origin<sup>(30)</sup>; gingivitis; periodontitis; and malign tumors, as oral squamous cell carcinoma<sup>(31-34)</sup>. The HPV might play a role in facilitating periodontal disease<sup>(37,39)</sup>. Periodontitis is an inflammatory disease induced by specific infectious bacteria causing the destruction of

the supporting dental tissues with consequent tooth loss. Clinical characteristics of periodontitis include inflammation of the periodontal tissues resulting in loss of the clinical attachment and the alveolar bone, and periodontal pocketing<sup>(35)</sup>. Chronic periodontitis is the most common type of periodontal disease, and is more prevalent in adults; however, it may affect individuals at any age<sup>(36)</sup>.

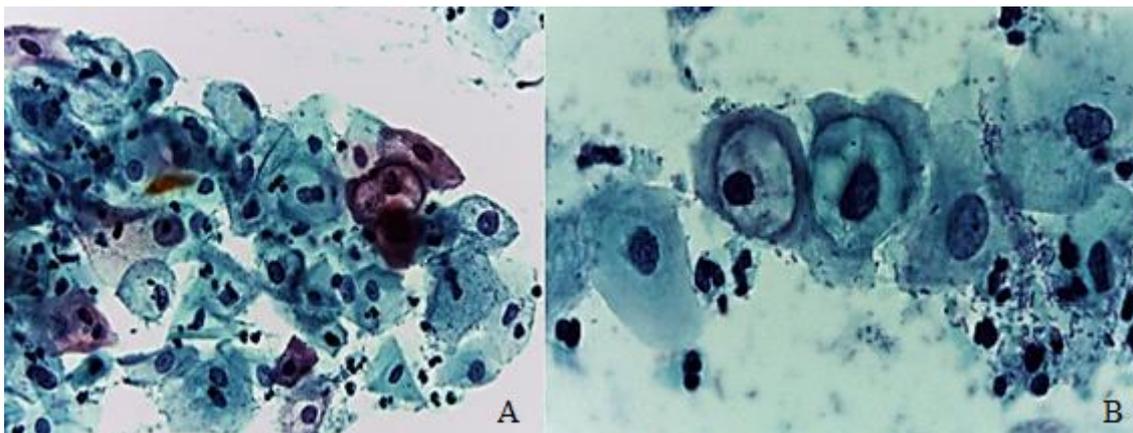
Some human viruses, such as herpes virus and HPV have been implicated in facilitating the installation of periodontal pathogenic bacteria in the gingival sulcus<sup>(37)</sup>. The junctional epithelium connects the gingival sulcus with the connective tissue through a gap in the epithelial barrier<sup>(38)</sup>. In this way, the HPV may infect deeper layers and reach the basal cell layer without necessarily causing any type of lesion. Therefore, gingival tissues could act as a reservoir for the virus and release pro-inflammatory cytokines causing instability of the cellular defense mechanisms. This scenario may contribute to the installation and potentiation of virulent bacteria, and contribute to the development of periodontitis<sup>(37)</sup>.

Even reporting a recent history of oral sex (four days), the patient described in this case report did not present HPV in the cells collected from the tongue and palate smears. The oral site where DNA HPV was observed in this pregnant adolescent was in dental biofilm from a periodontal sulcus of an anterior tooth, which presented no clinical signs of inflammation or deep pockets. The viral detection at this site may suggest that the anterior sites of the mouth were exposed to HPV during oral intercourse. Possibly, this region may represent a potential reservoir for the virus. Contrarily, some authors do not believe that the periodontal tissues are able to act as a reservoir for the HPV, because the virus was not observed in any sample of gingivitis, periodontitis and healthy gingival tissue of their study<sup>(39,40)</sup>.

The practice of oral sex is currently suggested as a risk factor for HPV infection in the mouth<sup>(1,25,26)</sup>. The prevalence of genital HPV in adolescents is well established, as well as the associated risk factors: multiple sexual partners, age, pregnancy, and STD<sup>(2,27)</sup>. However, little is known about the prevalence of the infection in the mouth. Other forms of HPV transmission have been described like kissing, intimate contact through hands due to sexual practices like masturbation, maternal-fetal transmission, and rarely by self-inoculation and fomites<sup>(14,28,29)</sup>.

Some studies have attempted to find evidence of the association and/or relationship of HPV infection in the mouth and genitalia of pregnant women<sup>(12,24)</sup>. These studies observed the presence of HPV in the two anatomical sites. However, they found a lower prevalence of the infection in the mouth than in the genitalia and no evidence of association between subtypes<sup>(12,24)</sup>.

The mouth is a region of many anatomical peculiarities, where there are hard and soft tissues, the latter being keratinized and non-keratinized components. These features may prevent the HPV infection in the mouth. Future clinical studies with data on individual characteristics and behavior are needed, in order to determine the actual risk factors for the HPV infection in mouth.



**Fig.1.** Micrograph showing a low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL, CIN1): A. cells exhibiting vacuoles, atypical mitosis, and different sizes of nucleus, Pap stain, 400X; B. koilocytosis halo image, Pap stain, 1.000X.

## References

1. D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis.* 2009;199(9):1263–9.
2. Moscicki A, Shiboki S, Broering J, Powell K, Clayton L, Jay N, et al. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr.* 1998;132:277–84.
3. Autier P, Coibion M, Huet F, Grivegneel AR. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Br J Cancer.* 1996;74:488–90.
4. Loomis DM, Clinical FNPA, Practitioner FN, Pastore PA, Rejman K. Cervical cytology in vulnerable pregnant women. *J of the Am Ac Nurs Pract.* 2009;21:287–94.

5. Hernández-Girón C, Smith JS, Lorincz A, Lazcano E, Hernández-Ávila M, Salmerón J. Factors Among Pregnant and Nonpregnant Women in Mexico. *Sex Transm Dis.* 2005;32(10):613–8.
6. Armbruster-moraes E, Ioshimoto LM, Leao E, Zugaib M. Prevalence of “ high risk” human papillomavirus in the lower genital tract of Brazilian gravidas. *Int J Gynecol Obst.* 2000;69:223–7.
7. Banura C, Franceschi S, Doorn L Van, Arslan A, Kleter B, Wabwire-mangen F, et al. Prevalence , incidence and clearance of human papillomavirus infection among young primiparous pregnant women in Kampala , Uganda. In *J Cancer.* 2008;123:2180-7.
8. Smith E, Johnson S, Jiang D, Zaleski S, Lynch C, Brundage S, et al. The association between pregnancy and human papilloma virus prevalence. *Cancer Detect Prev.* 1991;15(5):397–402.
9. Vallely LA, Roberts SA, Kitchener HC, Brabin L. Informing adolescents about human papillomavirus vaccination : What will parents allow ? *Vaccine.* 2008;26:2203-10.
10. Lee S, Yun H, Lee K, Kim C, Park J. What Questions do People Ask on a Human Papillomavirus Website ? A Comparative Analysis of Public and Private Questions. *Int. J. Med. Sci.* 2012,. 2012;9:142–7.
11. Giraldo P, Goncalves AK, Pereira SA, Barros-Mazon S, Gondo ML, Witkin SS. Human papillomavirus in the oral mucosa of women with genital human papillomavirus lesions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006;126(1):104–6.

12. Smith EM, Ritchie JM, Yankowitz J, Wang D, Turek LP, Haugen TH. HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2004;12(2):45–56.
13. Xavier SD, Bussoloti Filho I, De Carvalho JM, Castro TM, Framil VM, Syrjanen KJ. Prevalence of human papillomavirus (HPV) DNA in oral mucosa of men with anogenital HPV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(5):732–7.
14. Reis H, Rabelo P, Santana M, Ferreira D, Chambo Filho A. Oral Squamous Papilloma and condyloma acuminatum as manifestations of buccal-genital infection by Human Papillomavirus a case report. *Ind J Sex Transmit Dis.* 2009;30:40–2.
15. Kero K, Rautava J, Syrjänen K, Grenman S, S. S. Human papillomavirus genotypes in male genitalia and their concordance among pregnant spouses participating in the Finnish Family HPV study. *J Sex Med.* 2011;8(9):2522–31.
16. Fisher M, Rosenfeld WD. Cervicovaginal human papillomavirus infection in suburban adolescents and young adults. *J Pediatr.* 1991;119:821–5.
17. Ho G, Bierman R, Beardsley L, Chang C, Burk R. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998;338:423–8.
18. Tarkowski TA, Koumans EH, Sawyer M, Pierce A, Black CM, Papp JR, et al. Epidemiology of Human Papillomavirus Infection and Abnormal Cytologic Test Results in an Urban Adolescent Population. *J Inf Dis.* 2004;189:46–50.

19. Brown DR, Shew ML, Qadadri B, Neptune N, Vargas M, Tu W, et al. A Longitudinal Study of Genital Human Papillomavirus Infection in a Cohort of Closely Followed Adolescent Women. *J of Inf Dis.* 2005;46202(191):182–92.
20. Michala L, Argyri E, Tsimplaki E, Tsitsika A, Bakoula C, Antsaklis A, et al. Gynecologic Oncology Human Papilloma Virus infection in sexually active adolescent girls. *Gynecol Oncol.* 126(2), 207–210.
21. Al-awadhi A, Chehadeh W, Al-Jassar W, Al-Harmi J, Al-Saleh E, Kapila K. Phylogenetic analysis of partial L1 gene of 10 human papillomavirus types isolated most commonly from women with normal and abnormal cervical cytology in Kuwait. *Arch Virol.* 2013;
22. Insinga RP, Dasbach EJ, Elbasha EH. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. *BMC Infect Dis.* 2009;9:119.
23. Widdice LE, Moscicki A-B. Updated guidelines for papanicolaou tests, colposcopy, and human papillomavirus testing in adolescents. *J Adolesc Health*, 43(4 Suppl), S41–51
24. Rintala M, Gr S, Puranen M, Syrj S. Natural history of oral papillomavirus infections in spouses: A prospective Finnish HPV Family Study. *J Clin Virol.* 2006;35:89–94.
25. Brondani M. HPV, oral sex, and the risk of oral cancer: food for thought. *Spec Care Dentist.* 2008;28(5):183–4.

26. Tristão W, Rodrigo R, Oliveira CA De, Betiol JC, Bettini J. Epidemiological study of HPV in oral mucosa through PCR. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2012;78(4):66–70.
27. Moscicki A, Palefsky J, Gonzales J, Schoolnik GK. Human Papillomavirus Infection in Sexually Active Adolescent Females : Prevalence and Risk Factors. *Ped Res.* 1990;28(5):507–13.
28. Zur Hausen H. Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta.* 1996;1288(2):F55–78.
29. Costa MC, Azulay DR, Fernanda M, Gavazzoni R, Demarch EB. Sexually transmitted diseases during pregnancy: a synthesis of particularities Doenças sexualmente transmissíveis na gestação: uma síntese de particularidades. *An Bras Dermatol.* 2010;85(6):767–85.
30. Ferreira D, Paiva S, Carmo F, Róças I, Rosado A, Santos K, et al. Identification of herpesviruses types 1 to 8 and human papillomavirus in acute apical abscesses. *J Endod.* 2011;37:10–6.
31. Syrjanen S. Human papillomavirus infections and oral tumors. *Med Microbiol Immunol.* 2003;192(3):123–8.
32. Ferreira D, Curvelo J, Passos M. Open questions on carcinogenesis of oral cancer: Interaction between the environmental and genetic aspects. *Ind J Dent Res.* 2009; 20:249.
33. Madinier I, Doglio A, Cagnon L, Lefèbvre J, RA. M. Southern blot detection of human papillomaviruses (HPVs) DNA sequences in gingival tissues. *J Periodontol.* 1992;63(8).

34. Hormia M, Willberg J, Ruokonen H, Syrjänen S. Marginal Periodontium as a Potential Reservoir of Human Papillomavirus in Oral Mucosa. *J Periodontol.* 2005;76(3):358–63.
35. Fleming T. Periodontitis. *Ann Periodontol.* 1999;4:32–7.
36. Armitage G. Development of classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4(1):1–6.
37. Slots J. Human viruses in periodontitis. *Periodontol 2000.* 2010;53:89–110.
38. Schroeder E, Listgarten M. The gingival tissues : the architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000.* 2000;13:91–120.
39. Parra B, Slots J. Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol.* 1996;5:289–93.
40. Horewicz V V, Feres M, Rapp GE, Yasuda V, Cury PR. Human papillomavirus-16 prevalence in gingival tissue and its association with periodontal destruction: a case-control study. *J Periodontol.* 2010;81(4):562–8.