

ALESSANDRA CARDOSO DA SILVA NASCIMENTO

**INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM PACIENTES COM OU
SEM PRÓTESE TOTAL DENTÁRIA**

CAMPO GRANDE

2018

ALESSANDRA CARDOSO DA SILVA NASCIMENTO

**INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM PACIENTES COM OU
SEM PRÓTESE TOTAL DENTÁRIA**

Tese apresentada como requisito do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do grau de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Inês Aparecida Tozetti.

CAMPO GRANDE

2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

ALESSANDRA CARDOSO DA SILVA NASCIMENTO

INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM PACIENTES COM OU SEM PRÓTESE TOTAL DENTÁRIA

Tese apresentada como requisito do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do grau de Doutor.

Aprovada em 26 de março de 2018, pela Comissão Examinadora.

Profa. Dra. Inês Aparecida Tozetti

Prof. Dr. Paulo de Tarso Coelho Jardim

Profa. Dra. Daniella Moraes Antunes

Prof. Dr. Paulo Zarate Pereira

Profa. Dra. Sonia Maria Fernandes Fitts

*Dedico este trabalho a toda a minha família,
pois direta ou indiretamente me ajudou
nessa conquista!!!*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Deus**, e a **Jesus**, mestre amado e amigo de todas as horas, obrigada pelo dom da vida e pela luz constante nos momentos de dúvida e aflição. Obrigada por todas as bênçãos, proteção e fé.

A minha querida mãe **Alvarina**, mulher íntegra e de bom coração, por me acompanhar e auxiliar, junto a Deus. Sei que está sempre ao meu lado, e neste momento, muito orgulhosa por esta conquista. Ela essencial alicerce, que ensinou, com seu exemplo, os princípios de honestidade, doação e amor às pessoas; e, apoiou-me nas conquistas e dificuldades incondicionalmente, com muito amor e carinho.

A meu marido **Napoleão Junior**, porto seguro onde encontro paz e muito amor, que transforma minhas angústias, agitações e tristezas, em segurança e força. Braço direito esteve ao meu lado em todos os momentos em que o chão me faltou aos pés. A você, todo meu amor.

A minha filha amada **Júlia**, minha razão de viver, meu amor eterno capaz de ultrapassar barreiras além da vida física. Ser mãe representa a possibilidade do exercício de amor incondicional. Filha obrigada por você existir na minha vida.

AGRADECIMENTOS

À **Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região do Centro-Oeste**, UFMS, minha segunda casa, da qual tenho orgulho de fazer parte ajudando-me na minha formação acadêmica.

À **Profa Dra Inês Aparecida Tozetti** minha orientadora e amiga, obrigada pela sua amizade e paciência comigo nas horas alegres e nas horas tristes. Você é o meu exemplo de mestre dedicada. Meus sinceros agradecimentos na orientação deste trabalho.

Ao Professor Carlos Eurico dos Santos Fernandes- Obrigada por todas as análises estatísticas. Prontamente me ajudou, me orientou e me ensinou. Obrigada.

À acadêmica **Mariana Calarge Nocetti** pela inestimável contribuição na determinação e genotipagem do HPV, além de pronta solicitude. Meus sinceros agradecimentos.

À **Larissa Zatorre Almeida** pela sua ajuda, sempre prestativa e dedicada. Muito obrigada.

À **Ana Paula Machado** pela sua amizade, ajuda e orientação nesse trabalho. Meus sinceros agradecimentos.

Ao pessoal do **LABIMUNOBIO InBio/UFMS** em nome de Professora Alda Maria Teixeira Ferreira, Professora Cacilda Tezelli Junqueira Padovani, Camila Maretti Bonin, e todos aqueles que lá trabalham. Os meus sinceros agradecimentos.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES),
pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao **Prof. Dr. Pedro Gregol da Silva** e à **Profa Angela Hassessian Carrilho** -
Professores das Disciplinas de Clínica de Estomatologia e Radiologia I e II da
FAODO/UFMS - muito obrigada pela contribuição durante a fase inicial de seleção
dos participantes do estudo.

A todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para conclusão desta
etapa. Meus sinceros agradecimentos. Muito obrigada.

*“Educação não transforma o mundo
Educação muda as pessoas
Pessoas mudam o mundo”*

(Paulo Freire)

RESUMO

Nascimento ACS. **Infecção pelo Papilomavírus humano em pacientes com ou sem prótese total.** Campo Grande; 2018. [Tese de Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso Sul].

A infecção por Papilomavírus humano (HPV) embora possa ser considerada sexualmente transmissível, é multifatorial. Comportamentos de risco, tais como, elevado número de parceiros, bem como o uso de tabaco e álcool, e no caso da mucosa oral o uso de prótese dentária podem contribuir, facilitando a infecção. Pretendeu-se com esse trabalho determinar a prevalência DNA de HPV, os tipos virais mais prevalentes e o risco oncogênico, em pacientes com ou sem prótese dentária total, associando a comportamentos de riscos. O DNA de HPV foi detectado em 27,04% (33/122) do total de pacientes envolvidos no estudo, considerando pacientes com e sem prótese dentária total. Dos 122 pacientes envolvidos no estudo 37,70% (46/122) eram do gênero masculino e 62,29% (76/122) do gênero feminino. Entre as amostras obtidas de pacientes que faziam uso de prótese total dentária 43,59% (17/39) foram positivas para DNA de HPV, enquanto que no grupo que não faziam uso de prótese total dentária a positividade para HPV foi de 19,27% (16/83; $p=0,025$). Os tipos virais mais frequentes detectados, foram os HPV6, e 11 de baixo risco oncogênico (LR) e os HPV16, 31 e 45 de alto risco oncogênico (HR). Verificou-se que o uso de prótese dentária e sexo oral foram comportamentos de associados à presença do DNA de HPV na mucosa oral normal, sendo que os pacientes que faziam uso de prótese total apresentaram 2,1 vezes mais chances de serem positivos para DNA de HPV.

Palavras chaves: HPV. Saúde bucal. Genotipagem. Risco da infecção. *Nested*PCR.

ABSTRACT

Nascimento ACS. **Human papillomavirus infection in patients with or without total prosthesis.** Campo Grande; 2018. [Doctorate thesis - Graduate Program in Health and Development in the Midwest Region of the Federal University of Mato Grosso do Sul].

Human papillomavirus (HPV) infection, although it may be considered to be virtually transmissible, is multifactorial. Risk behaviors, such as high number of partners, as well as the use of tobacco and alcohol, and in the case of oral mucosa the use of dental prostheses can contribute, facilitating infection. The objective of this study was to determine the prevalence of HPV DNA, the most prevalent viral types and the oncogenic risk in patients with or without total dentures, associating risk behaviors. HPV DNA was detected in 27.04% (33 / 122) of the total patients involved in the study, considering patients with and without total dental prosthesis. Of the 122 patients enrolled in the study, 37.70% (46/122) were of the genomes and 62.22% (76/122) genotype. Among the samples obtained from patients who used total denture prosthesis 43.59% (17/39) were positive for HPV DNA, whereas in the group that did not use a total dental prosthesis the HPV positivity was 19.27% (16/83, $p = 0.025$). The most frequent viral types detected were HPV6, and 11 of low oncogenic risk (LR) and HPV16, 31 and 45 of high oncogenic risk (HR). It was verified that the use of dental prostheses and oral sex were behaviors of associated with the presence of HPV DNA in the normal oral mucosa, and patients who used a full prosthesis were 2.1 times more likely to be positive for HPV DNA.

Keywords: HPV. Oral health. Genotyping. Risk of infection. Nested PCR.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Figura 1 - | Genoma do HPV16. HPV: Papilomavírus humano; LCR- região longa de controle; E1-E7: genes da região precoce; L1-L2- genes da região tardia..... | 17 |
| Figura 2 - | Árvore filogenética contendo 118 tipos de Papilomavírus.. | 19 |
| Figura 3 - | Primers utilizados na genotipagem por TS-PCR de acordo com o tamanho do fragmento e sequencia..... | 40 |
| Figura 4 - | Condições utilizadas para a detecção dos HOV6, 11, 16, 18, 31, 33 e 45..... | 40 |
| Figura 5 - | Endonucleases de restrição para análise por RFLP..... | 41 |
| Figura 6 - | Distribuição dos pacientes positivos para DNA de HPV. Com Prótese: pacientes positivos para DNA de HPV que utilizavam prótese total dentária. Sem prótese: pacientes que não faziam uso de prótese dentária total.*p= 0,025... | 46 |
| Figura 7- | Distribuição dos tipos virais encontrados em pacientes sem prótese total dentária. Pacientes que não usam prótese total (n=83); LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; ND- tipos virais não determinados | 48 |
| Figura 8 - | Distribuição dos tipos virais encontrados em pacientes com prótese total dentária.Pacientes que usavam prótese total dentária (n=39); LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; infecção múltipla por LR e HR- HPV; ND- tipos virais não determinados..... | 48 |
| Figura 9 - | Distribuição dos tipos virais encontrados em pacientes sem prótese dentária. Pacientes que não usam prótese total (n=83);LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; ND- não determinados..... | 51 |
| Figura 10 - | Distribuição dos tipos virais encontrados em pacientes sem prótese dentária. Pacientes que não usavam prótese total (n=83); LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; infecção múltipla por LR e HR-HPV; ND- tipos virais não determinados..... | 51 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 - | Características epidemiológicas da população que fazia uso ou não de prótese dentária no momento do exame clínico, associada a positividade para HPV (n=122)..... | 44 |
| Tabela 2 - | Características epidemiológicas da população que fazia uso ou não de prótese total dentária no momento do exame clínico, sugestivas de risco de infecção, associada a positividade para HPV (n=122)..... | 45 |
| Tabela 3 - | Características epidemiológicas da população que fazia uso de prótese dentária no momento do exame clínico, associada a positividade para HPV(n=39)..... | 46 |
| Tabela 4 - | Características epidemiológicas sugestivas de risco de infecção da população que fazia uso de prótese dentária no momento do exame clínico, associada a positividade para HPV(n=39)..... | 47 |
| Tabela 5 - | Características epidemiológicas da população que não fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas a positividade para DNA HPV(n=83)..... | 49 |
| Tabela 6 - | Características epidemiológicas sugestivas de risco de infecção da população que não fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA de HPV(n=83)..... | 50 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------|---|
| HPV | Papilomavírus Humano |
| DST | Doenças sexualmente transmissíveis |
| PCR | <i>Polymerase Chain Reaction</i> |
| RFLP | <i>Restriction Length Fragment Polimorfism</i> |
| CCE | Carcinoma epidermóide |
| FDA | <i>United States Food and Drug Administration</i> |
| CEO | Carcinoma epidermoide oral |
| Elisa | <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> |
| HR-HPV | <i>High oncogenic risk Human papillomavirus</i> |
| LR-HPV | <i>Low oncogenic risk Human papillomavirus</i> |
| ND | Não determinado |
| nm | nanômetro. |
| Faodo- | Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| <i>nested</i> PCR | <i>Polymerase Chain Reaction</i> em dupla amplificação PGMY/GP5+6+ iniciadores PGMY e GP5+/6+ |
| EDTA | Ácido etileno di-amino tetra acético |
| LCR | <i>Long Control Region</i> |
| pb | Pares de bases |
| pRb | Proteína supressora tumoral do retinoblastoma |
| dNTP | Desoxirribonucleotídeos Fosfatados |
| FFEP | Fixado em formalina e embebido em parafina |
| CCEPC | Câncer de células escamosas da cabeça e pescoço |
| mM | Milimolar |
| INCA | Instituto Nacional do Câncer |
| EUA | Estados Unidos da América |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA..... | 17 |
| 2.1 Papilomavírus humano (HPV)..... | 17 |
| 2.2 Transmissão para cavidade oral..... | 20 |
| 2.3 Mecanismos de infecção..... | 21 |
| 2.4 Testes moleculares para identificação do HPV..... | 22 |
| 2.5 Prevalência do HPV em mucosa oral normal..... | 25 |
| 2.6 Prevalência do HPV em lesões orais . | 26 |
| 2.7 Estado de saúde bucal X infecção por HPV..... | 28 |
| 2.8 Papilomavírus humano e o câncer bucal..... | 30 |
| 2.9 Prevenção da infecção por HPV..... | 33 |
| 3 OBJETIVOS..... | 35 |
| 3.1 Objetivo geral..... | 35 |
| 3.2 Objetivos específicos..... | 35 |
| 4 Materiais e método..... | 36 |
| 4.1 Aspectos éticos..... | 36 |
| 4.2 Tipo de pesquisa..... | 36 |
| 4.3 Sujeitos da pesquisa..... | 36 |
| 4.4 Coleta de dados..... | 37 |
| 4.4.1 Extração das amostras..... | 38 |
| 4.4.2 Dosagem..... | 38 |
| 4.4.3 Nested PCR PGMV/GP+..... | 38 |
| 4.4.4 PCR tipo-específico (TS – PCR)..... | 39 |
| 4.4.5 Detecção dos produtos da PCR..... | 41 |
| 4.4.6 RFLP | 41 |
| 4.4.7 Detecção do produto da RFLP em gel de agarose a 3%..... | 41 |
| 4.5 Análise estatística..... | 42 |
| 5 RESULTADOS..... | 43 |
| 5.1 Aspectos moleculares..... | 43 |
| 5.1.1 Detecção e genotipagem do HPV..... | 43 |
| 5.1.2 Aspectos moleculares da positividade para HPV associados às características epidemiológicas da população..... | 43 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 53 |
| 7 CONCLUSÃO..... | 59 |
| REFERÊNCIAS..... | 60 |
| APÊNDICE A | 73 |
| APÊNDICE B..... | 75 |
| APÊNDICE C..... | 77 |
| ANEXO A..... | 80 |
| ANEXO B | 83 |

1 INTRODUÇÃO

A infecção por Papilomavírus humano (HPV) tem elevada prevalência mundial, com crescente aumento de casos de infecção por esse vírus entre homens e mulheres (GILLISON et al., 2012; YAKIN et al., 2017). Dados na literatura relatam que 80% das mulheres sexualmente ativas serão infectadas por um ou mais tipos de HPV em algum momento de suas vidas e 50% da população masculina mundial está infectada pelo HPV (INCA- 2018).

Embora possa ser considerada sexualmente transmissível, a infecção por HPV é multifatorial (VIDOTTI, 2012). Alguns hábitos sócio-comportamentais, tais como elevado número de parceiros sexuais, tabagismo, etilismo e exposição da mucosa oral a frequentes traumas, como os ocasionados pelo uso de prótese total dentária, podem facilitar a infecção pelo HPV (BUI et al., 2013; CHEN et al., 2016; GILLISON et al., 2000; MIGALDI et al., 2012; PERRY et al., 2015).

O Papilomavírus humano pode ser encontrado em vários sítios anatômicos, como trato anogenital, pele, laringe, conjuntiva, mucosa traqueobrônquica, esôfago e cavidade oral ocasionando desde lesões benignas, tais como verrugas epiteliais, até neoplasias malignas (VIDOTTI, 2012; INCA, 2012; KREIMER et al., 2010; KHODE et al., 2014).

Autores positivamente descrevem a possível ligação entre a presença do HPV e o câncer da cavidade oral, uma vez que o epitélio deste sítio anatômico é uma membrana mucosa com propensão para o desenvolvimento neoplásico, sendo exposto a vários carcinógenos nutricionais e ambientais, determinantes de lesões decorrentes de efeitos da infecção viral e mutagênese química (Sacramento et al. 2006)

O Papilomavírus humano possui considerável tropismo pelo tecido epitelial, em particular o gênero alfa Papilomavírus, e a infecção ocorre pela presença de microtraumas e exposição da camada de células basais tornando-as susceptíveis à infecção viral (GILLISON et al., 2000; RAPAPORT, 2005).

As formas de transmissão do vírus, considerando a cavidade oral ainda não estão completamente elucidadas; algumas teorias apontam para importância da

transmissão vertical, da auto inoculação, do uso comum de fômites e do sexo oral (RIVERO; NUNES, 2006).

Além dos hábitos socio-comportamentais anteriormente citados, alguns fatores secundários, como a higiene bucal precária, exposição excessiva a luz solar, traumatismos provocados por dentes lacerados, pontiagudos e próteses mal adaptadas podem facilitar a infecção da cavidade oral pelo HPV (ANDERSON et al., 2003; BOUDA et al., 2000; SEROLI, RAPOPORT, 2009; Silva *et al.*, 2011; KIM, 2016; RIBEIRO et al., 2017).

Devido à importância dessa infecção, este estudo objetivou determinar em pacientes que utilizam ou não prótese dentária total a presença do DNA de HPV, os tipos virais mais frequentes e a associação entre os hábitos sócio-comportamentais relatados pelos participantes do estudo.

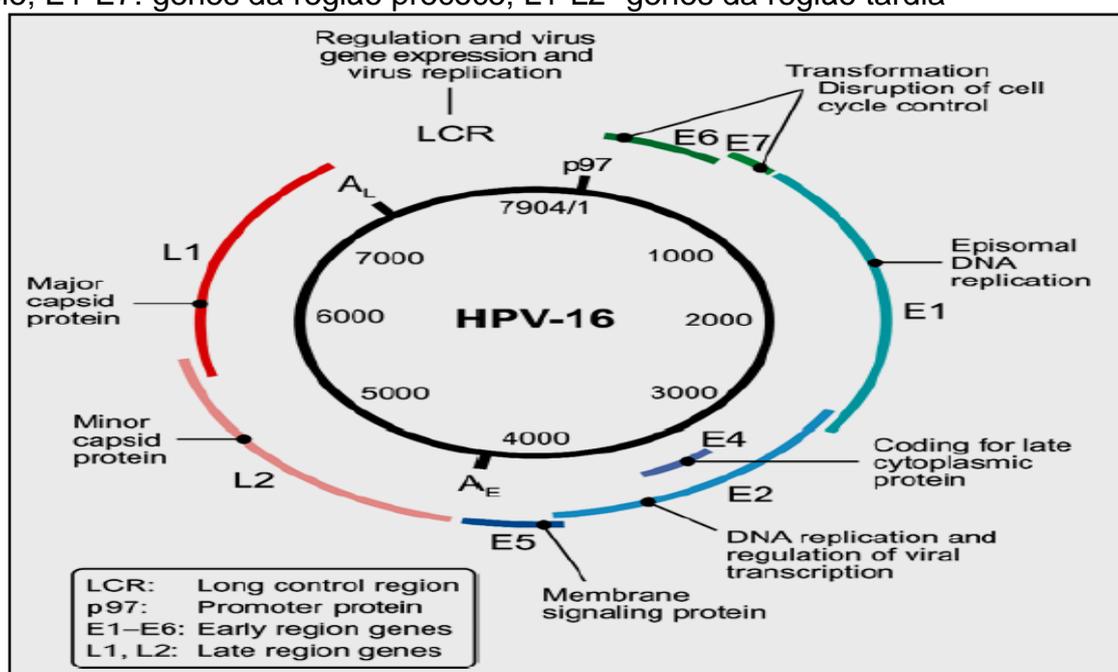
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Papilomavírus humano (HPV)

Segundo de Villers (2004), os Papilomavírus humano (HPV) são vírus ubíquos, de DNA circular de fita dupla, não envelopados, com cerca de 8000 pares de bases e medindo 55nm de diâmetro. São vírus epiteliotrópicos, e naqueles epitélios estratificados, tais como o oral, a proliferação ocorre apenas na camada basal.

O genoma do HPV (Figura 1) pode ser dividido em três regiões: uma região longa de controle (LCR) e as regiões precoces (E) e tardias (L). A região E compreende cerca de 45% do genoma viral e subdivide-se em região E1, E2, E4, E5, E6 e E7, expressas logo após a infecção e codificam principalmente proteínas relacionadas à conservação do genoma, replicação do DNA e ativação do ciclo lítico. A região L subdivide-se em duas (L1 e L2), representando aproximadamente 40% do genoma, sendo expressa em estágios posteriores da infecção e codificam proteínas estruturais relacionadas ao capsídeo viral (ZURHAUSEN, 1996; TERAJ; TAKAGI, 2001; SCULLY, 2002).

Figura 1- Genoma do HPV16 . HPV: Papilomavírus humano; LCR – região longa de controle; E1-E7: genes da região precoce; L1-L2- genes da região tardia



De acordo com Ferraro et al. (2011), no núcleo da célula hospedeira, o DNA do HPV, pode assumir duas formas de acordo com o padrão de infecção: a episossomal (latência e produtiva) e a integrada (transformante). Na forma episossomal, o DNA viral permanece circular no núcleo da célula do hospedeiro, e essa forma é identificada em lesões benignas. Para que ocorra a integração do DNA do HPV ao genoma humano é necessário o rompimento da região E1-E2, com desregulação do controle transcricional dos genes virais. Após a entrada na célula hospedeira, os genes E1 e E2 são expressos primeiro e codificam proteínas necessárias para a replicação do DNA viral.

O HPV tem a sua replicação associada à diferenciação epitelial e tem um forte tropismo pelo epitélio da mucosa, podendo ser adquirido por transmissão sexual. O HPV pode infectar células da camada basal do epitélio desde que exista solução de continuidade da superfície, ou seja, a infecção pelo Papilomavirus ocorre através de micro traumas no epitélio, fazendo com que as células basais sejam expostas e fiquem susceptíveis à entrada do vírus (RAPAPORT, 2005).

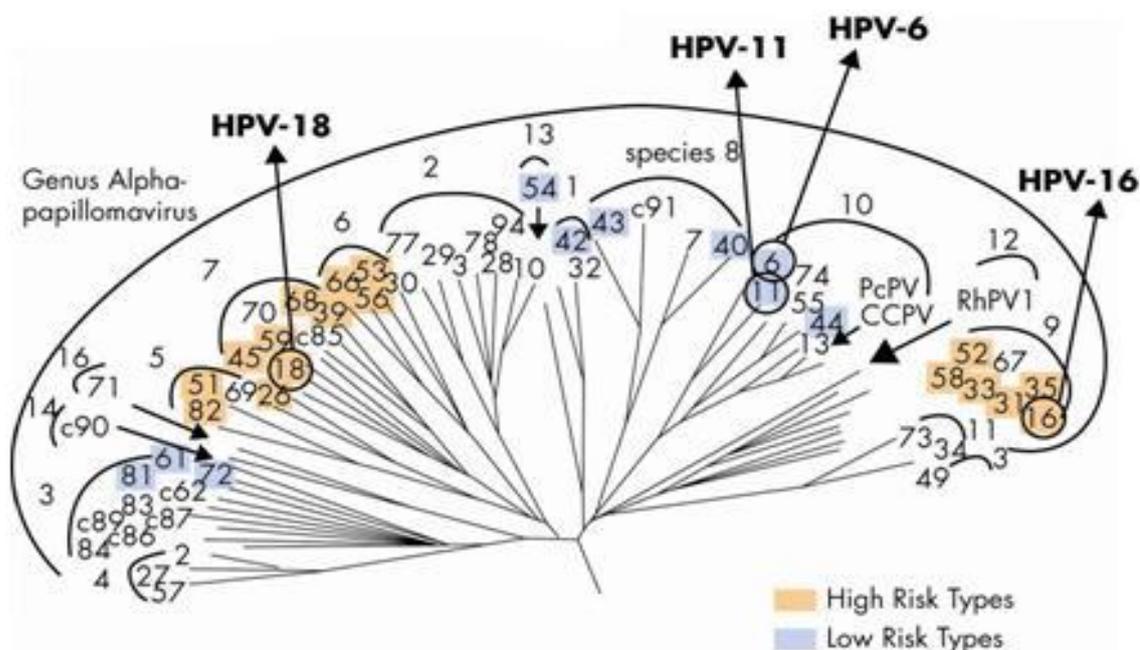
Sob o ponto de vista clínico, após a infecção da pele e/ou da mucosa pelo HPV, três situações são possíveis: latência, lesão subclínica e doença clínica. O estado latente ocorre quando há detecção do DNA do HPV, mas nenhuma lesão é identificável; o estado subclínico ocorre quando há detecção do DNA do HPV e as lesões são detectadas apenas por métodos que utilizem aumento de imagem (colposcopia e microscopia óptica); e a doença clínica apresenta-se com diferentes graus de expressão e comprometimento orgânico. O desenvolvimento de lesões, clínicas ou subclínicas, benignas ou malignas, está relacionado com uma complexa interação entre o HPV e o hospedeiro, em que minimamente ocorre o predomínio de uma infecção produtiva ou de uma infecção transformadora, com potencial oncogênico (FERRARO et al., 2011; GALLO, 2012).

Até o momento, mais de 200 genótipos virais diferentes foram identificados (VIDOTTI, 2012; INCA, 2012), sendo classificados de acordo com o risco oncogênico, em alto risco oncogênico (HR) representado principalmente pelos HPV16 e 18; e baixo risco oncogênico (LR), pelos tipos HPV6 e 11 (Fig. 2).

A maioria das infecções por esse vírus é produto de auto inoculação, ou seja o transporte de vírus de um sítio genital ou oral para outro. Em virtude do estímulo proliferativo nestas células epiteliais, o HPV pode induzir lesões hiperplásicas,

verrucosas e papilomatosas no epitélio pavimentoso estratificado da pele e mucosas, inclusive na mucosa oral. Podemos ter após a infecção o DNA do HPV na forma epissomal, não-integrada ao genoma da célula, mais comum em lesões benignas e pré-invasivas, ou integrado ao genoma da célula, mais comumente visto em casos de neoplasia maligna (SUGERMAN et al.,1997; SUMMERGILL et al., 2001; TERAJ; TAKAGI, 2001).

Figura 2- Árvore filogenética contendo 118 tipos de Papilomavírus



Fonte: de Villiers et. al.,2004

Vidotti e colaboradores (2012) relataram que o tipo de HPV mais prevalente, tanto em lesões orais como em lesões genitais é o HPV16. Foram identificados em lesões orais mais de 30 tipos de HPV destacando-se os tipos HPV1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 20, 28, 30, 31, 32, 33, 35, 38,40, 45, 52, 54, 55, 57, 58, 59, 68, 69, 72 e 73, 77 e 85 (INCA, 2012). Dentre estes, sete tipos (HPV6,11,16,18,31,33,e35) também têm sido isolados na mucosa oral (CORRENTI et al., 2004; BARNES, 2005; IARC, 2007, MACHADO, 2013).

2.2 Transmissão para cavidade oral

Além da infecção cervical, o HPV também pode acometer a mucosa oral. Os locais mais frequentemente acometidos na cavidade oral são: lábios, palato, língua, gengiva, úvula, tonsilas e assoalho da boca. O assoalho da boca é um local com muita saliva, onde agentes cancerígenos, como o fumo e o álcool aí dissolvidos, favorecem a ação deletéria viral, predispondo à infecção viral pelo HPV (TERAI et al., 1999; MARONE; GUSMÃO, 2000). Foi demonstrado que a mucosa oral normal pode atuar como reservatório de HPV (KELLOKOSKI et al., 1992).

O modo de transmissão oral ainda não se encontra totalmente esclarecido. Estes vírus podem ser adquiridos durante o parto, a partir de infecções cervicais da mãe através da transmissão vertical e estabelecer assim, infecções subclínicas latentes. Na maioria dos casos, a transmissão é horizontal, ou seja, ocorre por via sexual (relações sexuais e sexo oral) ou através de fômites (roupa, lençóis, toalhas, objetos e instrumentos). Embora não se saiba por quanto tempo o vírus resista fora do organismo, considera-se que a transmissão por fômites seja viável por um curto período de tempo (GALO, 2012).

A contaminação da mucosa oral admite-se que possa ocorrer durante o parto vaginal (FREDERICKS et al., 1993), ou por meio da auto-inoculação ou ainda prática de sexo oral (GIRALDO et al., 1996; ZURHAUSEN, 1996).

A prática do beijo na boca pode ser apontada como fator responsável para a aquisição do HPV, onde estudos demonstram que frequência e a rotatividade de parceiros aumentam de forma significativa o risco de infecção. Dessa forma, o beijo pode ser considerado como fator de risco independente para a aquisição viral (KASHIMA et al., 1992; GIRALDO et al., 1996; CHAPPUIS et al., 1998; CAÑADAS et al., 2004; GIRALDO et al., 2006; KREIMER, 2009; SANCHEZ-VARGAS et al., 2010).

D'Souza et al. (2014) pesquisaram a presença do HPV em pacientes com mucosa oral normal e avaliaram os possíveis fatores de risco associados. Como resultado, encontraram o tabagismo, sexo oral e beijo com a boca aberta, este último foi indicado como forma de transmissão pelos autores, pois foi observada presença de DNA-HPV na cavidade oral de pessoas que não tinham iniciado atividade sexual.

Por outro lado, há possibilidade de a saliva ter um papel protetor contra a infecção devido à presença de agentes antimicrobianos como as lisozimas, lactoferrina, IgA e citocinas(KELLOKOSKI et al., 1992; MILETIC et al., 1996).

2.3 Mecanismos de infecção

Evidências epidemiológicas e moleculares acumulam-se nas últimas décadas, demonstrando a capacidade do HPV em provocar um subconjunto de lesões tanto na região da cabeça quanto no pescoço (GILLISON et al., 2000; D'SOUZA et al., 2007).

O grau de malignidade é um importante fator de progressão da infecção. A infecção pelo vírus pode ser latente ou levar a lesões clinicamente diagnosticáveis (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006). Se a infecção é por vírus de baixo risco oncogênico, ela ou produzirá neoplasia benigna (verrugas ou condilomas) ou será eliminada, dependendo de fatores de risco e do sistema imune. Se a infecção é por um tipo viral de risco intermediário ou vírus de alto risco oncogênico e o sistema imune do paciente é competente, a infecção provavelmente será eliminada (SEDLACEK, 1999). Na maioria dos casos, as lesões têm crescimento limitado e habitualmente regredem espontaneamente, não evoluindo assim, para manifestação clínica, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2012).

Sabe-se, no entanto, que fatores como alterações pertinentes ao ciclo celular, o tipo de vírus, o estado imunológico do hospedeiro e talvez a predisposição genética, podem levar a transformação de maligna (OKADA et al., 2000; PEREYRA; TACLA, 2000; CARVALHO, 2004). Aproximadamente 70% das infecções pelo HPV são eliminadas espontaneamente em 1 ano e mais de 90% em 2 anos, e estas são consideradas infecções transitórias, enquanto a permanência do vírus por mais de 2 anos é considerada infecção persistente e está associada ao desenvolvimento do câncer (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006).

Os marcadores de atividade sexual, nomeadamente o número de parceiros sexuais recentes/vida e a idade da primeira relação sexual, têm sido consistentemente relatados como sendo um dos fatores de risco mais importantes na infecção por HPV. A idade da primeira relação sexual aumenta o risco de

infecção na medida em que o início precoce da atividade sexual está associado a um maior número de parceiros sexuais. O comportamento sexual é um importante fator associado à infecção por HPV, sendo o número múltiplo de parceiros um grande fator de risco para infecções múltiplas e persistentes (FARIDI et al., 2011).

Independentemente dos marcadores de atividade sexual, uma série de outros fatores têm sido associados à infecção por HPV, nomeadamente: status socioeconômico, tabagismo, infecções por HPV pré-existente, outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), tais como a infecção por Clamídia, e pelo vírus herpes simplex entre outras (TROTIER, 2006; TOTA et al., 2011).

Embora os fatores de risco mais estudados no desenvolvimento do câncer da cavidade oral sejam o uso de tabaco e o consumo excessivo de álcool, o HPV pode desempenhar um papel significativo no desenvolvimento de lesões orais (GILLISON et al., 2000). Além disso, sabe-se que o tabagismo e a infecção por HIV estão associados com o aumento significativo da prevalência de HPV oral. Tal fato sugere que a imunossupressão relacionada a estes dois fatores tem impacto na história natural da infecção por HPV na cavidade oral, ou seja, pode facilitar a persistência da infecção pelo mesmo tipo viral (D'SOUZA, 2011).

2.4 Testes moleculares para identificação do HPV

A detecção do HPV por ferramentas da biologia molecular é o padrão ouro na identificação do vírus em amostras de tecidos e de células esfoliadas e pode ser realizada por diversas técnicas, com diferentes sensibilidades e especificidades (GRAVITT et al., 2000; ZARAVINOS et al., 2009). As estratégias podem ter como alvo o DNA ou RNA do HPV, oncoproteínas virais, proteínas celulares ou anticorpos específicos (WESTRA, 2014).

Os estudos para detecção da presença do HPV em mucosa oral normal são controversos; alguns observaram ausência ou baixa prevalência do vírus, enquanto outros revelam que este vírus parece infectar persistente ou frequentemente a boca, inclusive em crianças e adolescentes, funcionando como um reservatório para novas infecções virais e/ou fonte de lesões recorrentes. Quando não há manifestações clínicas, apenas os testes moleculares são capazes de identificar o DNA do HPV, e

assim confirmar a existência da infecção(BOUDA et al., 2000; GIOVANNELLI et al., 2002; SUGIYAMA et al., 2003; ZHANG et al., 2004)

As lesões presentes em cavidade oral geradas pela infecção viral possuem características clínicas bastante semelhantes, sendo necessária a realização de análise histopatológica para confirmação diagnóstica (BOUDA et al., 2000).

O diagnóstico da infecção por HPV na mucosa bucal é feito através do exame clínico, citologia esfoliativa, anatomopatológico e técnicas de hibridização que são considerados de baixa sensibilidade (BERNARD et al., 1994; GRAVITT et al., 2000;KADO et al., 2001; HUBBARD, 2003; SANTIAGO et al., 2006; LLAMAS-MARTINÉZ, 2008; NOBRE et al., 2008; NOBRE et al., 2010).Já as análises de moderada sensibilidade incluem *southernblot*, *dotblot* e hidridizações*dot* reversas (MONTENEGRO et al., 2014).Os de alta sensibilidade, por sua vez, são representados pela Reação de Polimerase em Cadeia (PCR), dentre outros exames com a utilização de *iniciadores* degenerados ou consensus (CASTRO; BUSSOLOTI, 2006; LETO et al., 2011; MONTENEGRO et al., 2014).

A PCR é uma reação na qual uma sequência de DNA alvo é amplificada exponencialmente durante ciclos repetitivos, produzindo milhões de cópias desta sequência (VENUTI; PAOLINI, 2012). Os ciclos da PCR são compostos por etapas de diferentes temperaturas a fim de realizar a desnaturação, pareamento e extensão do DNA marcado utilizando-se uma DNA polimerase termoestável (SNIJDERS et al., 2010). Essas três etapas contemplam a desnaturação que resulta na separação da fita dupla do DNA que vai ser amplificado, o anelamento do *primer* (fragmento iniciador) ao DNA a ser amplificado, e a extensão deste, sendo que esses processos vão ser dependentes da alternância de temperaturas a cada ciclo (GALO, 2012).

A PCR trata-se de um método de alta sensibilidade, amplamente divulgado e de baixo custo para a detecção do HPV. Teoricamente, esta técnica é capaz de detectar tão pouco quanto apenas uma cópia da sequência de DNA viral e pode ser utilizada para uma ampla variedade de amostras, como células esfoliadas, tecidos frescos, congelados e FFEP (fixado em formalina e embebido em parafina)(VENUTI; PAOLINI, 2012; WESTRA, 2014). A partir da amplificação do DNA, outros métodos para identificação dos tipos virais podem ser empregados (ALBA et al., 2009).

Pereira et al. (2007) relataram que o método da PCR tem sido considerado a técnica mais apropriada para detecção do DNA viral, pois é o mais sensível e capaz de amplificar exponencialmente o genoma viral e também permite a identificação precisados tipos de HPV.

Embora a PCR seja o método mais sensível para detecção da infecção, podemos ter resultados variados em diferentes estudos, por exemplo, com índices de prevalência variando de 0 a 100%. Essa diferença pode ser devida principalmente a dois fatores: primeiras diferenças inerentes às populações alvo estudadas e segundo, a escolha dos *iniciadores* utilizados para amplificação (CAÑADAS et al., 2004; ELASBALI et al., 2012). Além de fatores inerentes aos métodos, a variação na detecção do HPV pode ser ocasionada pelos diferentes métodos de coleta de amostra para estudo, pela quantidade de material genômico obtido durante a extração, localização das lesões a ser investigadas, abrangência do painel de tipos de HPV pesquisados e por fatores associados ao grupo de pacientes envolvidos no estudo (SYRJÄNEN et al., 2011).

Carvalho et al. (2010) observaram que existem algumas limitações na utilização do método da PCR, particularmente no que diz respeito à sensibilidade para detecção entre os distintos tipos de HPV, como HPV30, 42, 43, 51, 59, 67, 74, 92 e 91.

Existem duas formas fundamentais para a detecção do HPV pela PCR. A mais frequentemente utilizada amplifica de uma região comum a múltiplos tipos com a utilização de iniciadores chamados “*consensus*” e que tem como alvo uma sequência altamente conservada do genoma. A PCR específica é baseada no desenho de iniciadores específicos para cada tipo, subtipo ou variante viral do HPV, com especificidade próxima a 100% (ALBA et al., 2009). Além disso, a determinação dos tipos virais, utilizando a PCR tipo específico, deve ser baseada em estudos de prevalência epidemiológica, uma vez que existe uma grande variação de genótipos circulantes nas diferentes regiões geográficas e isso deve ser levado em consideração no desenho do estudo (MACHADO, 2013).

Pode ser utilizada ainda, a *nested* PCR, que consiste em uma PCR de duas etapas, sendo que a segunda reação é utilizada como molde o produto de uma PCR convencional, e iniciadores que tem como alvo uma sequência interna à primeira sequência de DNA amplificada. Esta técnica é particularmente útil para

determinação em amostras com baixa carga viral ou com pequena quantidade de DNA extraído como swabs orais, ou em amostras com a qualidade do DNA comprometida, como àquelas derivadas de tecidos parafinados. Porém, devido sua alta sensibilidade, está muito sujeita a resultados falsos positivos devido à contaminação durante o preparo da reação. Dessa forma, são necessários cuidados adicionais para sua realização assim com a utilização de controles rigorosos (ALBA et al., 2009; VIDAL et al., 2012).

Além do método da PCR tipo específica, a genotipagem, ou seja, a determinação do tipo viral pode ser realizada por RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*); nesta técnica enzimas de restrição cortam o DNA produto de PCR em pontos específicos, gerando fragmentos de diferentes tamanhos que são separados e visualizados em forma de bandas, possibilitando a classificação de quase todos os tipos de HPV (KADO et al., 2001; NOBRE et al., 2008; NOBRE et al., 2010; MACHADO, 2013).

2.5 Prevalência do HPV em mucosa oral

Uma grande variação na incidência de infecção por HPV detectada em mucosa oral de indivíduos saudáveis tem sido relatada, numa extensão de 0% a 81,1% usando variados métodos e em um número limitado de indivíduos (ELAMIN et al., 1998; TERAJ et al., 1999; BOUDA et al., 2000; CANÃDAS et al., 2004; CORRENTI et al., 2004; M. GUO et al., 2007; D´SOUZA et al., 2009; KRISTOFFERSEN et al., 2012; MIGALDI et al., 2012; COLPANI et al., 2016; MC QUILLAN et al., 2017; RIBEIRO et al., 2017).

Machado (2013) identificou os tipos virais de Papilomavírus humano em mucosa oral de indivíduos do sexo masculino, avaliou a integridade das amostras e a presença do DNA viral nas células esfoliadas que foram determinadas por PCR multiplex com os *primers* GH20/PC04 e PGMY09/11. A genotipagem das amostras positivas foi realizada por TS-PCR e RFLP. Foi observada positividade para DNA-HPV em 1,3% das amostras. Os tipos determinados foram HPV6, 11, 52, 53 e 89. Práticas sexuais, como o sexo oral e a multiplicidade de parceiros, são fatores comportamentais independentes, que podem predispor os indivíduos a infecção.

A conclusão de uma revisão sistemática que analisou 18 estudos que investigaram a frequência do DNA de HPV na cavidade oral em 4.581 pessoas saudáveis determinou a prevalência agrupada de HPV16, de alto risco oncogênico e além de outros tipos. Os resultados mostraram que 1,3% dos indivíduos saudáveis tinham HPV16 na cavidade oral; 3,5% indivíduos tinham outros tipos de alto risco oncogênico e, 4,5 % indivíduos tinham outro tipo qualquer de HPV. O HPV16 correspondeu a 28% de todos os tipos detectados na região oral, incluindo orofaringe. A prevalência foi a mesma entre homens e mulheres (4,6% vs 4,4%, respectivamente) (KREIMER et al., 2011). Surpreendentemente, o HPV18 foi o mais frequente genótipo em mucosa oral normal em outros estudos (MILLER; WHITE, 1996; TERAÍ et al.,1999). Enquanto que alguns autores encontraram maior prevalência do HPV16 presente de forma assintomática ou latente em mucosa oral (ELAMIN et al., 1998).

No entanto, na pesquisa prospectiva de coorte transversal realizada por Esquenazi et al., (2010), com cem voluntários, adultos jovens e saudáveis, através da PCR amostras da cavidade oral, foi encontrada a negatividade para o HPV em todas as amostras. Sugere-se que prevalência do HPV inclui infecções sub-clínicas e/ou latentes e que a infecção com um baixo número de cópias do vírus é comum na cavidade oral (TERAÍ et al., 1999).

Em estudo completo de base populacional realizado nos EUA, o padrão específico da idade de prevalência de HPV oral foi semelhante entre homens e mulheres, com as maiores taxas observadas em indivíduos com idades de 30 a 34 anos e de 60 a 64 anos. Porém, a prevalência absoluta do HPV oral em homens foi consideravelmente maior do que em mulheres (10,1% e 3,6%, respectivamente). Foram observadas associações fortes com comportamento sexual, tais como número de parceiros e a sua correlação com a prevalência de HPV oral (GILLISON et al., 2012). Em outro estudo, também realizado em pacientes dos EUA, a prevalência do HPV 16 e a incidência do CEO foram de 5 a 7 vezes maiores em homens do que em mulheres (D'SOUZA et al., 2014).

2.6 Prevalência do HPV em lesões orais

Papiloma escamoso, verruga vulgar, condiloma acuminado e hiperplasia epitelial focal são proliferações benignas do epitélio estratificado induzidas por vírus (NEVILLE et al., 2009). Todas têm em comum a origem epitelial, o crescimento acima da superfície, são assintomáticas, podem regredir espontaneamente e/ou apresentar recidiva, apresentam áreas brancas puntiformes ou extensas, podem ser pediculadas ou sésseis e a superfície pode variar de finamente granular à papilar (FERRARO et al., 2011).

O papiloma escamoso oral é um tumor benigno que apesar de aparecer em qualquer idade e em ambos os sexos, surge mais frequentemente em indivíduos na terceira e quarta década de vida (KUMARASWAMY, 2011). Clinicamente, caracteriza-se por ser um tumor de tecidos moles, sésil ou pedunculado, branco ou cor de rosa, com uma superfície verrucosa ou lisa. Apesar ocorrer em qualquer superfície da mucosa oral, situa-se geralmente na língua ou palato mole (ANDERSON et al., 2003). A presença de HPV6 e 11 associados a estas lesões têm sido descrita em muitos estudos (FINN, 1997; KUMARASWAMY, 2011).

Asverrugas são lesões exofíticas, circunscritas, sésseis, esbranquiçadas e firmes que afetam ocasionalmente a mucosa oral, com especial incidência nos lábios, palato, processo alveolar e gengiva, sobretudo em jovens adultos. Tem sido relatada a presença nestas lesões de tipos mucosotrópicos(que exibem maior afinidade por mucosas) de HPV, tais como HPV6, 11 e 16, assim como, de tipos cutâneos, nomeadamente HPV1, 2, 4 e 7 (KUMARASWAMY, 2011; FINN, 1997).

O condiloma acuminado é transmitido por autoinoculação e pela prática de sexo oral. Ele se manifesta como lesão única, múltipla ou coalescente, de maior crescimento no eixo horizontal, formando uma massa semelhante à couve-flor. Tem sido relatada a presença nestas lesões de HPVdo tipo 6, 11 e 16 (CASTRO; DUARTE, 2004).

A hiperplasia epitelial focal, também chamada de doença de Heck, é a que mais se distancia do padrão verrucoso, apresentando-se como pápulas ou nódulos, arredondadas ou planas, que frequentemente coalescem, com limites mais nítidos que as demais e frequentemente normocrômicas. Ela está associada aos HPV13 e 32 e pode apresentar semelhança com os condilomas acuminados, sendo que as lesões da hiperplasia epitelial focal tendem a serem planas mais numerosas e com

especial localização em lábios e mucosa jugal (CASTRO et al., 2004; SANTOS et al., 2007; EVERSOLE, 2000; SAINT-GERONS et al., 2005).

O achado citológico na cavidade oral e orofaringe mais sugestivo de infecção por HPV é a observação da presença de coilócitos em espécimes de biópsias. A coilocitose é um efeito citopático viral, considerado um critério sugestivo de infecção pelo HPV do ponto de vista histopatológico (CASTRO; BUSSOLOTI, 2006; LETO et al., 2011; MONTENEGRO et al., 2014). Segundo alguns autores, a coilocitose constitui sinal patognomônico de infecção, servindo como base para indicação de testes moleculares para detecção do genoma viral (XAVIER et al., 2005; SYRJÄNEN et al., 2011).

Silva et al. (2010) avaliaram as lesões orais associadas à infecção por HPV através da percepção de coilócitos nas camadas epiteliais, por intermédio de análise morfológica. Foram estudados 104 espécimes corados por Hematoxilina-Eosina, dissociados das demais lesões orais encontradas no epitélio. Dentre as lesões avaliadas, 96 (92,30%) apresentaram coilócitos, sem, no entanto, existir correlação com idade e sexo dos pacientes, localização na cavidade oral e diagnóstico histopatológico das lesões. O estudo, portanto, sugeriu que essa infecção viral está cada vez mais abrangente em nossa população e enfatiza a importância do diagnóstico histopatológico para detecção da coilocitose. Dessa forma, recomendando a realização de métodos diagnósticos mais precisos para confirmação e tipagem viral, visando acompanhamento dos tipos de alto risco oncogênico e, conseqüentemente, a prevenção do câncer oral.

2.7 Estado de saúde bucal e infecção por HPV

Além dos fatores de riscos comumente estudados, alguns autores demonstram a importância de fatores secundários, que possuem correlação clínica com a infecção pelo HPV na cavidade oral, tais como higiene bucal precária, exposição excessiva a luz solar e traumatismos provocados por dentes lacerados, pontiagudos ou próteses mal adaptadas (RIVERO; NUNES, 2006; RIBEIRO et al., 2007; BUI et al., 2013).

Silva et al. (2011) avaliaram a saúde bucal de trabalhadores rurais que utilizavam próteses dentárias de forma geral, e em 102 indivíduos analisados,

metade deles apresentavam lesões na mucosa bucal. Segundo este estudo, mulheres com mais de 40 anos têm 4,5 vezes mais chances de apresentar lesão da mucosa bucal associada ao uso de prótese. Os autores destacaram que as lesões podem ser resultado da má adaptação das próteses ou do uso e higienização inadequada. A alta prevalência de inflamação, segundo os autores, corrobora a ideia de que a má higienização é um problema importante, sobretudo porque a maioria dos usuários de prótese (80%) não percebe a presença de infecções bucais. Os autores concluíram que se faz necessária à implantação de políticas e campanhas de conscientização de saúde e higienização nessas regiões, visto que a maioria dos entrevistados não estava bem informada sobre os riscos do uso de próteses dentárias mal adaptadas e sobre os cuidados necessários para sua manutenção.

Estudos têm demonstrado o efeito do estado de saúde e higiene bucal no desenvolvimento do câncer nesse sítio anatômico. A precária saúde bucal tais como processos inflamatórios, infecções e traumas têm sido implicados como fatores predisponentes, com risco significativo na gênese do carcinoma oral (SEROLI; RAPOPORT, 2009).

O exame da cavidade oral é realizado com maior ênfase para o diagnóstico precoce de lesões malignas e no diagnóstico de lesões benignas da mucosa bucal. Autores concluíram que pelo fácil acesso e pela simplicidade da realização do exame clínico, a boca pode ter diagnóstico precoce de lesões malignas de modo mais fácil em relação a outras localizações anatômicas. Representando um ponto positivo na detecção precoce do carcinoma oral (SEROLI; RAPOPORT, 2009).

Sabe-se que o HPV infecta a camada de células basais e para tanto a camada superior de epitélio mucoso deve ter sofrido microtraumas, como o que ocorre durante o intercuro sexual na região genital. O tropismo viral é, em parte, devido à ligação de proteínas específicas da superfície viral a proteínas receptoras da superfície das células epiteliais do hospedeiro. É ainda controversa a natureza desses receptores de superfície que permitem a ligação inicial do vírus à célula, embora alguns estudos proponham a presença do sulfato de heparina (CULP; CRISTENSEN, 2004; GIRAGLOU et al., 2001).

Pesquisadores dos EUA descobriram que pessoas com baixa saúde bucal e pessoas com uma doença bucal são, de modo significativo, mais propensas a contraírem infecções orais por HPV. O estudo envolveu 3.439 participantes com

idade de 30 a 69 anos. Ao analisar os dados, descobriram que participantes do estudo que reportaram baixa saúde bucal tiveram prevalência de 56% de infecção oral por HPV. Os com doença periodontal ou problemas relacionados com os dentes tiveram prevalência de 51% e 28%, respectivamente. Em adição, os pesquisadores descobriram uma ligação entre o número de dentes perdidos com infecção oral por HPV. As descobertas sugerem que a baixa saúde bucal é um fator de risco independente de infecção oral por HPV, sem considerar o hábito de fumar cigarros e praticar sexo oral (BUI et al., 2013).

2.8 Papilomavírus humano e o câncer bucal

O carcinoma de células escamosas (CCE) da boca, também denominado carcinoma epidermóide, é uma neoplasia maligna que se origina no epitélio de revestimento, sendo considerada a neoplasia maligna mais comum nessa região (BRENER et al., 2007). O HPV16 parece ser o tipo de HPV mais frequente associado com os carcinomas orais. O CCE pode ocorrer em qualquer localização da boca, sendo os locais mais acometidos a língua, o lábio inferior e o assoalho bucal (CARLI et al., 2009; COSTA; GOLDENBERG, 2013). É mais frequente no homem branco da 5ª a 6ª década de vida. Dentre os fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento do CCE, estão o álcool e o tabaco. O CCE pode apresentar-se, nos seus estágios iniciais, na forma de leucoplasias, eritroplasias ou uma associação de ambas. Além dessas formas clínicas, a lesão fundamental clássica é a úlcera que pode ser superficial, endofítica com bordos elevados ou exofítica (CARLI et al., 2009).

Sacramento et al. (2006) afirmaram uma possível ligação do HPV com câncer da cavidade oral, uma vez que o epitélio da cavidade oral e orofaringe é uma membrana mucosa com propensão para o desenvolvimento neoplásico, sendo exposto a vários carcinógenos nutricionais e ambientais, determinantes de lesões decorrentes de efeitos da infecção viral e mutagênese química.

Segundo Tinoco et al. (2004), as neoplasias da boca e orofaringe constituem 5% de todas as neoplasias malignas, sendo que destas, 90% são carcinomas espinocelulares. Apesar da exposição da mucosa oral a vários carcinógenos,

somente um pequeno percentual dos indivíduos desenvolvem câncer, pois é um processo multifatorial e a mutagênese é determinada também por agentes co-carcinogênicos como o HPV.

O câncer bucal tem se caracterizado como uma morbidade que acomete principalmente homens de quarenta ou mais anos de idade, estreitamente relacionada aos hábitos de fumar, mascar tabaco e consumir bebidas alcoólicas. No entanto, outros fatores também têm sido associados ao seu aparecimento, tais como hábitos alimentares, exposição ao HPV, predisposição genética, exposição solar e condição bucal (ALLEGRA; GENNARI, 2000; PERUSSI et al., 2002).

A detecção do DNA do HPV é evidência insuficiente para o estabelecimento de uma relação causal, principalmente, no carcinoma epidermóide oral (CEO), pois a infecção pode ser focal e transitória. Segundo os autores Kumaret al. (2005) e Soares (1999), há evidência de semelhança clonal entre o HPV e as células tumorais, como acontece quando da integração dentro do genoma da célula hospedeira, contradizendo a possibilidade do HPV ser um mero invasor secundário, e sugerindo assim a sua forte relação como agente causal na carcinogênese. Nas verrugas benignas e lesões pré-neoplásicas, o genoma do HPV é mantido na forma epissômica, ao passo que nos cânceres, o DNA viral é geralmente integrado ao genoma da célula hospedeira. Isso sugere que a integração do DNA é importante na transformação maligna.

Leite et al. (2005), ao revisarem trabalhos que abordam fatores de risco relacionados ao desenvolvimento do câncer bucal, relataram que é necessário fazer uma diferenciação entre fatores de risco determinantes, capazes de causar lesão no DNA, como o tabaco; fatores modificadores, capazes de alterar o meio bucal e propiciar a proliferação celular, como o álcool; e fatores causais que não atuam na carcinogênese bucal, como a higiene bucal deficiente, mas que se associam circunstancialmente.

Pereira et al. (2007) relataram que diversos fatores etiológicos estão envolvidos na etiologia CEO, dentre estes, o HPV tem sido extensivamente estudado nos últimos anos. Os subtipos de HPV16,18, 31 e 33 são os mais fortemente associados à displasia e ao CEO. A infecção oral por HPV é bastante comum e nem sempre está associada a lesões malignas. Há várias manifestações descritas da infecção oral por HPV, sendo que algumas dessas manifestações

estão mais associadas a alguns tipos do vírus (KUMARASWAMY, 2011). O CCE oral afeta geralmente pacientes de meia idade e mais velhos, consumidores crônicos de tabaco e álcool. No entanto, tem-se verificado uma crescente incidência de CCE em indivíduos sem fatores de risco conhecidos (VICENTE et al., 2002). A possível etiologia viral que implica o HPV como fator de risco tem sido relatada (FINN, 1997; VICENTE et al., 2002; KUMARASWAMY, 2011).

A mucosa genital feminina tenha uma carga viral maior do que o epitélio queratinizado dos genitais masculinos e, com isso, a transmissão pelo sexo oral realizado em mulheres seja mais eficiente do que a transmissão pelo sexo oral realizado pelos homens. Além disso, os homens teriam mais oportunidades de exposição ao vírus, uma vez que costumam ter mais parceiros sexuais durante a vida. Alguns estudos indicam, ainda, que as mulheres podem apresentar certo nível de imunidade ao HPV devido às infecções cervicais, o que pode protegê-las contra a infecção oral, enquanto esta proteção não é observada nos homens. Tais peculiaridades poderiam repercutir na incidência de CCE sem fatores de risco conhecidos (D´SOUZA et al., 2014).

Khode et al. (2014) relatam que o carcinoma epidermóide (CE) é uma neoplasia maligna que acomete a cavidade oral e regiões da orofaringe sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, associada a presença do Papilomavírus humano. Estes autores relataram que tipos de alto risco oncogênico, tal como o HPV16, são fortemente associados com o risco de câncer na orofaringe, especialmente os decorrentes das amígdalas e base da língua. O estudo também associa risco elevado de infecção oral por HPV com gênero masculino, história de outras doenças sexualmente transmissíveis e infecção por Vírus da Imunodeficiência humana (HIV) em virtude da imunossupressão gerada. Ainda observaram que os fatores de risco para infecção oral por HPV seriam idade precoce da primeira relação sexual, história de verrugas genitais, número de parceiros sexuais e sexo oral. Assinalaram que o CCE é relativamente mais comum em indivíduos mais jovens, menos dependente do consumo de álcool e tabaco e com melhores taxas de sobrevivência.

Os principais fatores de risco do câncer da cabeça e pescoço, em especial do câncer de células escamosas da cabeça e pescoço (CCECP), são o consumo de tabaco e álcool e as infecções pelo HPV. Estudos demonstram que o risco do

desenvolvimento destes tumores apresenta uma forte relação dose resposta com a frequência, duração e concentração do consumo do tabaco e álcool e que a infecção pelo HPV aumenta o risco do desenvolvimento do CCECP em casos associados ou não ao consumo destas substâncias (LEE et al., 2013).

2.9 Prevenção da infecção por HPV

Devido à pandemia já mundial de infecção pelo HPV nas últimas décadas e à morbimortalidade associada às lesões e ao risco de desenvolvimento de câncer, a sua prevenção torna-se a chave para esse importante problema de saúde pública. Campanhas de prevenção da infecção pelo HPV, bem como das outras doenças sexualmente transmissíveis, também contribuem para a conscientização dos indivíduos sobre a importância da prevenção da transmissão pela via sexual (PASSOS et al., 2008). Atualmente, a arma mais eficaz na prevenção primária da infecção pelo HPV é a vacinação, dirigida aos tipos de vírus mais frequentes, responsáveis pelas lesões genitais.

Embora a eficiência profilática da vacina seja bem estabelecida com relação as lesões genitais, na cavidade oral pouco sabe-se em virtude da escassa definição em relação aos marcadores que delimitam a doença na infecção pelo HPV.

Existem disponíveis comercialmente três vacinas profiláticas HPV aprovadas pela FDA, e em 2006, Gardasil (Merck e Company Inc, Whitehouse Station, NJ) tornou-se a primeira vacina profilática a ser aprovada para mulheres de 9 a 26 anos para a prevenção do câncer cervical e verrugas genitais protegendo contra os tipos de alto risco oncogênico HPV16 e 18. Posteriormente, a aprovação foi ampliada para os homens com indicação de prevenção de verrugas genitais (2009) e malignidades anais (2010). Em seguida, houve a aprovação da vacina Cervarix que protege contra os tipos de baixo risco oncogênico HPV6 e 11 e também para os tipos HPV16 e 18 (GlaxoSmithKline, Filadélfia, Pa), sendo que esta vacina é a utilizada no Brasil, pelo Programa Nacional de Imunização do Sistema Único de Saúde. Recentemente, a Gardasil-9 foi aprovada (2014) para uso em homens e mulheres. Essa última formulação protegendo contra os tipos HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 e 58. Todas as 3 vacinas são aprovadas para um esquema de dosagem

de 3 doses ao longo de 6 meses, embora os ensaios recentes tenham sugerido provas potenciais para esquemas de dose mais curtos (GUO et al., 2016).

3OBJETIVOS

3.1Objetivo geral

Detectar a prevalência do Papilomavírus humano em pacientes com ou sem prótese total dentária.

3.2Objetivos específicos

Determinar nos pacientes com ou sem prótese dentária os tipos virais mais frequentes e classificá-los de acordo com o risco oncogênico;

Determinar a associação entre a positividade para DNA de HPV e hábitos sócio-comportamentais que predispõem à infecção por HPV.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Essa tese teve sua aprovação concedida pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS (CEP/UFMS) N° 855.390 de 30/09/2014 número CAAE: 36389814.2.0000.0021 (Anexo A). Todos os participantes do estudo foram informados a respeito dos objetivos e princípios do projeto desenvolvido, onde cada indivíduo forneceu sua autorização por escrito, mediante assinatura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

4.2. Tipo da pesquisa

A pesquisa executada constituiu-se em um estudo transversal quantitativo com amostras do tipo não probabilístico por conveniência.

4.3. Sujeitos da pesquisa

Foram convidados a participar deste estudo 130 pacientes atendidos no ambulatório da Faculdade de Odontologia (FAODO) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), no período de 2014 a 2016, na Clínica de Estomatologia e Radiologia. A opção por esta Clínica foi em virtude do maior fluxo de indivíduos de ambos os gêneros, de distintas classes sociais e diferentes faixas etárias, sendo essa a Clínica responsável pela avaliação, tratamento dos pacientes e encaminhamento às outras Clínicas do complexo. A autorização para realização desta pesquisa na FAODO – UFMS está em anexo (anexo B).

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade maior ou igual a 30 anos, com ou sem prótese total, com mucosa oral aparentemente normal e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

Para análise epidemiológica os indivíduos envolvidos no estudo foram avaliados conforme as idades. As mesmas foram estratificadas da seguinte forma, em três subgrupos, 30 a 45 anos, 46 a 60 e maior ou igual a 61anos.

Os critérios de exclusão compreenderam idade inferior a 30 anos e ser gestante e mucosa oral com lesões.

4.4. Coleta de dados socioepidemiológicos, clínicos e amostras

Os dados secundários necessários à realização deste estudo foram obtidos durante a consulta dos pacientes. A coleta dos dados socioepidemiológicos foi realizada através da aplicação de um questionário semi estruturado, com perguntas fechadas e mistas, sigiloso identificado apenas pelo número de registro do participante (Apêndice B). Em relação ao questionário abordaram-se fatores como gênero, idade (estratificadas em faixas etárias), o comportamento sexual, como numero de parceiros nos últimos dois anos (até 2, mais de 2 ou não declarado), numero de parceiros até o momento (até 3 ou mais de 3) uso de drogas ilícitas, etilismo, tabagismo, história prévia de outras doenças sexualmente transmissíveis (DST) e uso de medicamentos controlados.

Após a anamnese e exame clínico, foram avaliadas as variáveis 1) grupo com prótese total - presença ou não de lesões e 2) sem prótese total - mucosa oral normal, no momento do exame clínico. Pacientes com prótese total e lesões não foram selecionados para coleta. Após isso foram obtidas amostras de células da cavidade oral de cada paciente, segundo Machado et al.(2013), por meio de 5-10 gentis escovações, utilizando escova cervical com ponta protegida, em regiões pré-estabelecidas: mucosa jugal direita e esquerda (posição de alto a baixo, face dorsalda língua (esquerda e direita), no interior do lábio superior e inferior (fundo de saco).

Após a esfoliação celular, as escovas foram acondicionadas em tubos cônicos do tipo *Falcon* com capacidade de 15mL e armazenadas sob refrigeração a -20°C, até o momento da realização dos testes moleculares.Os materiais coletados foram analisados e processados no Laboratório de Imunologia Biologia Molecular e Bioensaios (LABIMUNOBIO),InBio/UFMS.

4.4.1 Extração das amostras

As amostras foram extraídas pela técnica de fenol-clorofórmio devido ao seu alto rendimento e baixo custo.

Em capela de fluxo laminar, as amostras foram lavadas com solução detergente SDS 10% e Proteinase K(20mg/mL). Em seguida, essas amostras foram colocadas em banho Maria seco a 37°C, por 1 hora e 30 minutos. Posteriormente, as mesmas foram lavadas com fenol/clorofórmio e centrifugadas. Foi retirado o sobrenadante e transferido para outro tubo Eppendorf, onde foram acrescentados acetato de sódio (pH 3,0) e álcool absoluto gelado e armazenado por cerca de 12 horas no congelador. Após esse tempo, as amostras foram lavadas em álcool 70% e secas em banho Maria. Por fim, as amostras foram reidratadas em tampão de amostra e permaneceram na geladeira por 24 horas. As amostras foram armazenadas a -20°C até que as mesmas fossem utilizadas para as análises.

4.4.2 Dosagem

As amostras estudadas foram avaliadas quanto a pureza e sua concentração de material genético, pelo equipamento de espectrofotometria (Biodrop, Mettler Toledo®) em comprimentos de onda de 260 e 280 nm.

4.4.3 *Nested* PCR PGMY/GP+

Para um controle endógeno da reação de PCR, foram utilizados os *iniciadores* para β -globina, PC04 e GH20, amplificando um fragmento de 286pb, presentes no DNA humano (BAUER et al., 1991). Para detectar a presença do DNA HPV nas amostras, foram utilizados um *pool* de *iniciadores* PGMY 09/11 que amplifica um fragmento de 450pb da região L1 do genoma viral (GRAVITT et al., 2000).

Em capela de fluxo laminar, foi preparada solução contendo: tampão para PCR Tris-EDTA pH 8,4 [10X]; dNTPs 2,5mM; MgCl₂ 3,5 mM; enzima Taq DNA polimerase; *primer* para HPV PGMY09/11, *primer* para β-globina PCO4/GH20 e H₂O ultra pura estéril.

A um volume final de 45μL de solução foi adicionado 5μL do DNA 50ng/μL, recuperado de cada amostra, sendo essa mistura processada em termociclador programado a 95°C por 5 minutos para desnaturação e, em seguida, por 40 ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto. Após esses 40 ciclos, seguiu-se uma extensão final a 72°C durante cinco minutos. Os produtos foram congelados a -20°C, até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

Para obter uma especificidade maior nas amostras foram utilizados os iniciadores para HPV GP5+ e GP6+ que amplificaram um fragmento de 150pb da região L1 (QU et al., 1997).

Foi separada alíquota de 2μL dos produtos β-globina positivos e então adicionada a volume final de 23μL da seguinte solução preparada em capela de fluxo laminar: tampão para PCR Tris-EDTA pH 8,3 [10X]; MgCl₂ 50mM; dNTPs 2,5mM; enzima *Taq polimerase*; *primer* para HPV GP5+ 10mM; *primer* para HPV GP6+ 10mM; H₂O ultra pura.

Esta solução foi processada em termociclador programado a 95°C, por 5 minutos, para desnaturação; em seguida, por 40 ciclos de 94°C, por 1 minuto, 40°C por, 2 minutos e 72°C, por 1,5 minutos. Após esses 40 ciclos, seguiu-se uma extensão final a 72°C, durante cinco minutos. Os produtos foram congelados a -20°C, até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%.

4.4.4. PCR tipo-específico (TS-PCR)

As amostras positivas para DNA de HPV foram analisadas pelo método de TS-PCR adaptado de Walboomers et al. (1999). A seqüência de *iniciadores* utilizados para cada tipo está apresentada na Figura 3.

De forma individual, para cada *primer*, em capela de fluxo laminar, foi preparada uma solução contendo: água ultra pura, tampão para PCR pH 8,3 na concentração de 10X; MgCl₂ 50mM; dNTPs 2,5mM; enzima *Taq polimerase* [5 u/μL]; *primer* para HPV tipo-específico [10 pmol/μL].

Figura 3–*Primers* utilizados na genotipagem por TS-PCR de acordo com o tamanho do fragmento e sequência

| Primer (F-R) | Fragmento (pb) | Seqüência (5'-3') |
|--|-----------------------|--|
| HPV 6 F ⁽¹⁾ HPV 6 R ⁽¹⁾ | 194 | CACGTCTGCAACGACCATAG CCATGAAATTCTAGGCAGCA |
| HPV 11 F ⁽²⁾ HPV 11 R ⁽²⁾ | 210 | TCTGTGTCTAAATCTGATAC GGGTTTCTGACAGGTAATGGC |
| HPV 16 F ⁽³⁾ HPV 16 R ⁽³⁾ | 174 | TTGCAGATCATCAAGAACACGTAGA CTTGTCAGCTGGACCATCTATTT |
| HPV 18 F ⁽³⁾ HPV 18 R ⁽³⁾ | 219 | CAACCGAGCAGCAGCAGGAA CTCGTCGGGCTGGTAAATGTT |
| HPV 31 F ⁽⁴⁾ HPV 31 R ⁽⁴⁾ | 420 | GATGCAACGTGCTCAGGG GCGACCCAGTGGAACTGATCTA |
| HPV 33 F ⁽³⁾ HPV 33 R ⁽³⁾ | 90 | AAACCTTTGCAACGATCTGAGGTA GTTTACATATTCCAAATGGATTTCCTCTCT |
| HPV 45 F ⁽⁵⁾ HPV 45 R ⁽⁵⁾ | 195 | ACCAGATTTGTGCACAGAAT TTTTTCCAGTGCTCTCCA |

Nota: (1) segundo SILVA et al., 2003, (2) segundo LIN et al., 2008, (3) segundo GUO et al., 2007, (4) segundo SWAN et al., 1999, (5) segundo KARSLEN et al., 1996

A um volume final de 22µL foram adicionados 3µL de amostra bruta, sendo essa homogeneizada e acondicionada em termociclador, submetida a ciclo inicial de desnaturação por 5 minutos a 94°C, desnaturação, anelamento, extensão e extensão final por 5 minutos a 72°C, conforme mostra a Figura 4.

Os produtos foram congelados a -20°C, até serem submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

Figura 4 – Condições utilizadas para a detecção dos HPV6, 11, 16, 18, 31, 33 e 45.

| Tipo viral | Condições utilizadas |
|--------------------|--|
| HPV 6, 16, 18 e 33 | 40 ciclos de: |
| | 1 minuto a 94°C; |
| | 1 minuto a 55°C; |
| HPV 31 | 40 ciclos de: |
| | 1 minuto a 94°C; |
| | 40 segundos a 60°C; 30 segundos a 72°C; |
| HPV 45 | 45 ciclos de: |
| | 1 minuto a 94°C; |
| | 30 segundos a 51°C (10 ciclos iniciais) 30 segundos a 46°C (35 ciclos finais); 30 segundos a 72°C; |
| HPV 11 | 40 ciclos de: |
| | 1 minuto a 94°C; |
| | 30 segundos a 56°C; 30 segundos a 72°C; |

4.4.5 Detecção dos produtos da PCR

Foram pipetados 8µL do produto da PCR e adicionados a 3µL da solução tampão [2X] de corrida de azul de bromofenol. A mistura obtida foi aplicada no gel de agarose 1,5%, com 5µL do marcador de pares de bases (100bp), corado em brometo de etídio. A fonte foi ajustada para 100V, por 1 hora. Após a corrida, o gel foi observado no transiluminador(UV) e fotodocumentado pelo equipamento UVP, sendo os resultados obtidos pelo Software Doc. It-LS.

4.4.6 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Para genotipagem por digestão enzimática (RFLP) foram utilizadas as enzimas *Pst I*, *Hae III*, *Dde I*, *Rsa I* e a detecção do produto da RFLP foi realizada em gel de agarose a 3%. O perfil de restrição obtido foi analisado conforme o algoritmo proposto por Nobre et al., 2008.

Figura 5 – Endonucleases de restrição para análise por RFLP

| Enzima de restrição | Sítio de reconhecimento |
|--|-------------------------|
| RestrictionEndonuclease <i>Pst I</i> | 5'CTGCA/G'3 |
| RestrictionEndonuclease <i>Hae III</i> | 5'GG/CC3' |
| RestrictionEndonuclease <i>Dde I</i> | 5'C/TNAG3' |
| RestrictionEndonuclease <i>Rsa I</i> | 5'GT/AC3' |

Nota:Nobre et al., 2008

Cada amostra foi dividida em 5 tubos obedecendo a seqüência: *Pst I*; *Hae III*; *Dde I*; *Rsa I* e controle (amostra sem digestão). Em cada tubo foi adicionado 1,2µL do substrato enzimático, 1,0µL da enzima de restrição e 10µL da amostra purificada.

Após homogeneização, as amostras foram incubadas em termociclador (60 minutos a 37°C; 30 minutos a 85°C e 20 minutos a 25°C) e mantidas sob refrigeração a -20°C até análise em gel.

4.4.7 Detecção do produto da RFLP em gel de agarose a 3%

Foi pipetado em microtubos separados; o produto total de cada digestão enzimática acrescidos de 3 μ L de tampão de amostra de azul de bromofenol (0,05% de azul de bromofenol, 1% SDS e 50% de glicerol). A mistura obtida foi aplicada em gel de agarosea 3%, com marcador de 100 e 50bp incluído. A corrida seguiu com carga de 100mA, por 2h e 30min em tampão TBE 1X. Após a corrida, o gel foi corado em brometo de etídio, os fragmentos foram visualizados em transiluminador (UV) e o material fotodocumentado.

O perfil de restrição foi analisado conforme o algoritmo proposto por Nobre et al. (2008).

4.5 Análise estatística

A análise descritiva apresentou-se sob forma de tabelas, sendo os dados observados, expressos pela frequência (n) e percentual (%) para dados de valores médios e desvio padrão.

Com o objetivo de verificar se ocorreu associação significativa entre as variáveis clínicas e sócio epidemiológicas com a presença do HPV na cavidade oral foram aplicados os seguintes métodos:

- a) Por comparações de dados foi aplicado o teste do Qui-quadrado de Pearson (χ^2), ou exato de Fischer; e
- b) Para análise de variáveis “uso de prótese” e “prática de sexo oral” foram aplicados o teste de Regressão Logística Binária.
- c) Para análise foi utilizado pacote estatístico SPSS, versão 10.0, para Windows (MICROSOFT, 2006; NORUSIS, 2000)

5 RESULTADOS

5.1 Aspectos moleculares

5.1.1 Detecção e genotipagem do HPV

Foram envolvidos neste estudo 130 indivíduos do sexo masculino e feminino. Do total, 122 amostras (93,84%) - amplificaram o gene de β -globina humana. O DNA de HPV foi detectado em 33 amostras (33/122; 27,04%). Dos 122 pacientes envolvidos no estudo 37,70% (46/122) foram do gênero masculino e 62,29% (76/122) do gênero feminino.

Dentre as amostras obtidas de pacientes que faziam uso de prótese total dentária 43,59% (17/39) foram positivas para DNA de HPV, enquanto que entre o grupo de pacientes que não faziam uso de prótese total dentária, a positividade para DNA de HPV foi de 19,27% (16/83).

Os tipos virais mais frequentes, detectados por TS-PCR, nas amostras positivas por *nested* PCR foram os HPV6, 31, 11, 16, 31 e 45. Entre as amostras positivas por PCR PGMY09/11, que foram submetidas à RFLP, obtivemos como resultado os HPV40 e 91.

5.1.2- Aspectos moleculares da positividade para DNA de HPV associados às características epidemiológicas da população

As características epidemiológicas básicas da população que fazia uso ou não de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA de HPV podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Características epidemiológicas da população que fazia uso ou não de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA de HPV(n=122).

| Variáveis | Total | | HPV (+) | | HPV (-) | | p |
|--------------------------------|-------|--------|---------|--------|---------|--------|-------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| Idade (anos) | | | | | | | ≥0,05 |
| 30-45 | 56 | 45,90% | 11 | 19,64% | 45 | 80,35% | |
| 46-60 | 46 | 37,70% | 12 | 26,08% | 34 | 73,91% | |
| ≥61 | 20 | 16,39% | 9 | 45% | 11 | 55% | |
| Gênero | | | | | | | ≥0,05 |
| Feminino | 76 | 62,29% | 20 | 26,31% | 56 | 73,68% | |
| Masculino | 46 | 37,70% | 12 | 26,08% | 34 | 73,91% | |
| Escolaridade | | | | | | | ≥0,05 |
| Sem escolaridade/Não respondeu | 4 | 3,27% | 0 | | 4 | 100% | |
| Fundamental | 43 | 35,24% | 15 | 34,88% | 28 | 65,11% | |
| Ensino Médio | 51 | 41,80% | 16 | 31,37% | 35 | 68,62% | |
| Ensino superior | 24 | 19,67% | 1 | 4,16% | 23 | 95,83% | |
| Estado civil | | | | | | | ≥0,05 |
| Solteiro | 37 | 30,32% | 6 | 16,21% | 31 | 83,78% | |
| Casado | 61 | 50% | 16 | 26,22% | 45 | 73,77% | |
| Viúvo | 8 | 6,55% | 3 | 37,50% | 5 | 62,50% | |
| Separado | 16 | 13,11% | 7 | 43,75% | 9 | 56,25% | |
| Raça (IBGE) | | | | | | | ≥0,05 |
| Branca | 61 | 50% | 17 | 27,86% | 44 | 72,13% | |
| Preta | 20 | 16,39% | 4 | 20% | 16 | 80% | |
| Parda | 27 | 22,13% | 5 | 18,51% | 22 | 81,48% | |
| Amarela | 13 | 10,65% | 6 | 46,15% | 7 | 53,84% | |
| Indígena | 1 | 8,19% | 0 | | 1 | 100% | |
| Uso de Prótese Dentária | | | | | | | 0,025 |
| Com prótese | 39 | 31,96% | 17 | 43,59% | 22 | 56,41% | |
| Sem prótese | 83 | 68,03% | 16 | 19,27% | 67 | 80,72% | |

Nota: HPV (+): positivos para DNA de HPV; HPV(-): negativos para DNA de HPV

As características epidemiológicas da população que fazia uso ou não de prótese dentária no momento do exame clínico, sugestivas de risco de infecção, associadas à positividade para DNA de HPV(n=122) são observadas na Tabela 2.

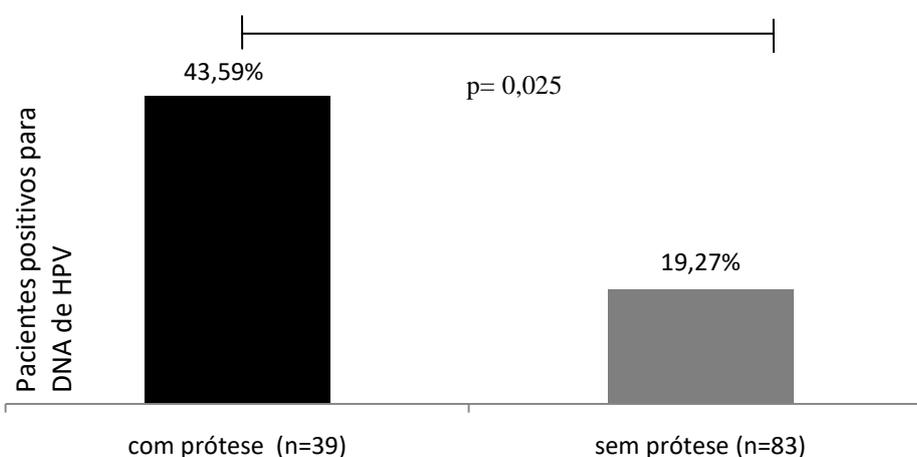
Tabela 2 - Características epidemiológicas da população que fazia uso ou não de prótese total dentária no momento do exame clínico, sugestivas de risco de infecção, associadas à positividade para DNA de HPV(n=122).

| Variáveis | Total | | HPV (+) | | HPV (-) | | p |
|--|-------|--------|---------|--------|---------|--------|-------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| Uso de Preservativo | | | | | | | ≥0,05 |
| Não | 75 | 61,47% | 20 | 26,66% | 55 | 73,33% | |
| Sim | 47 | 38,42% | 12 | 25,53% | 35 | 74,46% | |
| Prática de Sexo Oral | | | | | | | 0,01 |
| Não | 74 | 60,65% | 25 | 33,78% | 49 | 66,21% | |
| Sim | 48 | 39,34% | 7 | 14,58% | 41 | 85,41% | |
| Uso de Tabaco | | | | | | | ≥0,05 |
| Não | 105 | 86,06% | 27 | 25,71% | 78 | 74,28% | |
| Sim | 17 | 13,93% | 5 | 29,41% | 12 | 70,58% | |
| Ingestão de Álcool | | | | | | | ≥0,05 |
| Não | 75 | 61,47% | 19 | 25,33% | 56 | 74,66% | |
| Sim | 47 | 38,52% | 13 | 27,65% | 34 | 72,34% | |
| Número de parceiros até o momento | | | | | | | ≥0,05 |
| até 3 | 64 | 52,45% | 18 | 28,12% | 46 | 71,87% | |
| mais de 3 | 58 | 47,24% | 14 | 24,13% | 44 | 75,86% | |
| Número de parceiros nos últimos dois anos | | | | | | | ≥0,05 |
| até dois | 106 | 86,88% | 30 | 28,30% | 76 | 71,69% | |
| mais de dois | 12 | 9,83% | 2 | 16,66% | 10 | 83,33% | |
| não declarado | 4 | 3,27% | 0 | 0% | 4 | 100% | |
| Uso de drogas ilícitas | | | | | | | ≥0,05 |
| sim | 0 | | | | | | |
| não | 122 | 100% | 32 | 26,22% | 90 | 73,77% | |
| Diagnóstico prévio de DST | | | | | | | ≥0,05 |
| sim | 17 | 13,93% | 4 | 23,52% | 13 | 76,47% | |
| não | 104 | 85,24% | 28 | 26,92% | 76 | 73,07% | |
| não informado | 1 | 1% | 0 | 0% | 1 | 100% | |
| Uso de medicamentos controlados | | | | | | | ≥0,05 |
| sim | 51 | 41,80% | 17 | 33,33% | 34 | 66,66% | |
| não | 70 | 57,37% | 15 | 21,42% | 55 | 78,57% | |
| não informado | 1 | 1% | 0 | 0% | 1 | 100% | |

Nota: DST – Doença Sexualmente transmissíveis; HPV(+): positivos para DNA de HPV; HPV(-): negativos para DNA de HPV

Pode-se verificar que 43,59% dos pacientes envolvidos no estudo (com ou sem prótese total dentária) foram positivos para DNA de HPV e 19,27% negativos para DNA de HPV (p=0.025). Na Figura 7 observa-se a distribuição dos pacientes positivos para DNA de HPV.

Figura 6 - Distribuição dos pacientes positivos para DNA de HPV. Com prótese: pacientes positivos para DNA de HPV que utilizavam prótese total dentária. Sem prótese: pacientes que não faziam uso de prótese dentária total.* $p= 0,025$.



As características epidemiológicas básicas da população estudada que faziam uso de prótese total dentária, associadas à positividade para DNA de HPV podem ser observadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Características epidemiológicas da população que fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA de HPV(n=39).

| Variáveis | Total | | HPV (+) | | HPV (-) | | p |
|---------------------|-------|--------|---------|--------|---------|--------|-------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| Idade (anos) | | | | | | | ≥0,05 |
| 30-45 | 6 | 15,38% | 3 | 50% | 3 | 50% | |
| 46-60 | 17 | 43,58% | 6 | 35,29% | 11 | 64,70% | |
| ≥61 | 16 | 41,02% | 8 | 50% | 8 | 50% | |
| Gênero | | | | | | | ≥0,05 |
| Feminino | 28 | 71,79% | 15 | 53,57% | 13 | 46,42% | |
| Masculino | 11 | 28,20% | 2 | 18,18% | 9 | 81,81% | |
| Escolaridade | | | | | | | ≥0,05 |
| Sem escolaridade | 1 | 1,2% | 0 | 0 | 1 | 100% | |
| Fundamental | 22 | 56,41% | 13 | 33,33% | 9 | 23,07% | |
| Ensino Médio | 11 | 28,20% | 4 | 10,25% | 7 | 17,94% | |
| Ensino superior | 4 | 10,25% | 0 | | 4 | 100% | |
| Não declarado | 1 | 1,2% | 0 | | 1 | 100% | |
| Raça (IBGE) | | | | | | | ≥0,05 |
| Branca | 16 | 41,02% | 8 | 50% | 8 | 50% | |
| Preta | 7 | 17,94% | 2 | 28,57% | 5 | 71,42% | |
| Parda | 11 | 28,20% | 3 | 27,27% | 8 | 72,72% | |
| Amarela | 5 | 12,82% | 4 | 80% | 1 | 20% | |

Nota: HPV (+): positivos para DNA de HPV; HPV(-): negativos para DNA de HPV

As características epidemiológicas sugestivas de risco de infecção da população que fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associada a positividade para HPV é observada na Tabela 4

Tabela 4 – Características epidemiológicas sugestivas de risco de infecção da população que fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA HPV (n=39).

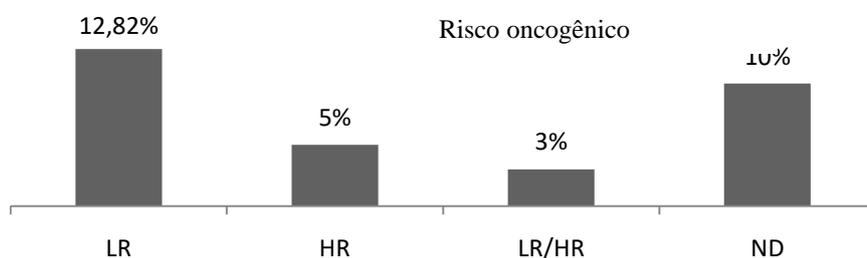
| Variáveis | Total | | HPV (+) | | HPV (-) | | p |
|---|-------|--------|---------|--------|---------|--------|--------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| Uso de Preservativo | | | | | | | ≥0,05 |
| Não | 14 | 71,79% | 14 | 50% | 14 | 50% | |
| Sim | 11 | 28,20% | 3 | 27,27% | 8 | 72,72% | |
| Prática de Sexo Oral | | | | | | | 0,01 |
| Não | 33 | 84,61% | 16 | 48,48% | 17 | 51,51% | |
| Sim | 6 | 15,38% | 1 | 16,66% | 5 | 83,33% | |
| Uso de Tabaco | | | | | | | ≥ 0,05 |
| Não | 33 | 84,61% | 14 | 42,42% | 19 | 57,57% | |
| Sim | 6 | 15,38% | 3 | 50% | 3 | 50% | |
| Ingestão de Álcool | | | | | | | ≥0,05 |
| Não | 26 | 66,66% | 12 | 46,15% | 14 | 53,84% | |
| Sim | 13 | 33,33% | 5 | 38,46% | 8 | 61,53% | |
| Números de parceiros sexuais até o momento | | | | | | | ≥0,05 |
| até 3 | 37 | 94,87% | 16 | 43,24% | 21 | 56,75% | |
| mais de 3 | 2 | 5,12% | 1 | 50% | 1 | 50% | |
| Número de parceiros nos últimos dois anos | | | | | | | ≥0,05 |
| até dois | 37 | 94,87% | 16 | 43,24% | 21 | 56,75% | |
| mais de dois | 2 | 5,12% | 1 | 50% | 1 | 50% | |
| Uso de drogas ilícitas | | | | | | | ≥0,05 |
| Sim | 0 | 0,0% | 0 | | 0 | | |
| não | 39 | 100,0% | 17 | 43,58% | 22 | 51,28% | |
| Diagnóstico prévio de DST | | | | | | | ≥0,05 |
| Sim | 6 | 15,38% | 2 | 33,33% | 4 | 66,66% | |
| não | 33 | 84,61% | 15 | 45,45% | 18 | 54,54% | |
| Uso de medicamentos controlados | | | | | | | ≥0,05 |
| Sim | 20 | 51,28% | 9 | 45% | 11 | 55% | |
| Não | 18 | 46,15% | 8 | 44,44% | 10 | 55,55% | |
| não informado | 1 | 2,56% | 0 | | 1 | 100% | |

Nota: DST – Doença Sexualmente transmissíveis; HPV(+): positivos para DNA de HPV; HPV(-): negativos para DNA de HPV

Pode-se verificar que entre os pacientes que usavam próteses dentárias 12,82% (5/39) apresentaram tipos de baixo risco oncogênico (LR-HPV), 5% (2/39)

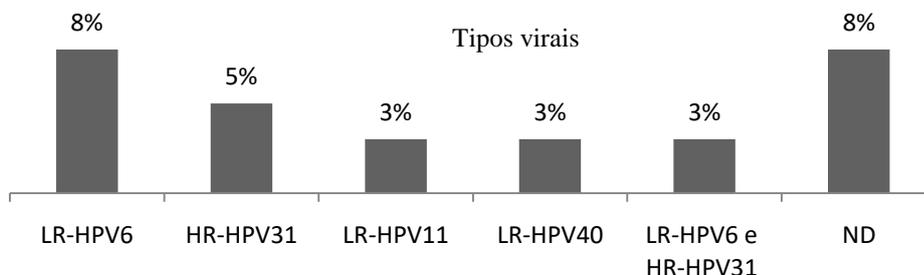
tipos de alto risco oncogênico (HR-HPV), 3% (1/39) apresentaram infecção múltipla por LR e HR-HPV e 10% (4/39) não tiveram os tipos virais definidos pelos métodos de genotipagem utilizados. Na Figura 8 observa-se a distribuição dos tipos virais encontrados, segundo o risco oncogênico, entre os pacientes que faziam uso de prótese total dentária.

Figura 7 - Distribuição dos tipos virais encontrados, segundo o risco oncogênico entre pacientes que usavam prótese total dentária: Pacientes que usam prótese total (n=39); LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; infecção múltipla por LR e HR-HPV; ND- tipos virais não determinados.



Entre os pacientes que usavam prótese total dentária os tipos virais detectados foram: LR-HPV6 (3/39; 8%), HR-HPV31 (2/39; 5%), LR-HPV11 (1/39; 3%), LR-HPV40 (1/39; 3%). Infecção múltipla por LR-HPV6 e HR-HPV31 foi observada em 3% (1/39) das amostras. Neste grupo 8%(3/39) das amostras não foram genotipadas pelos métodos utilizados. Na Figura 9 observa-se a distribuição dos tipos virais encontrados.

Figura 8 - Distribuição dos tipos virais encontrados em pacientes com prótese total dentária. Pacientes que usavam prótese total dentária (n=39); LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; infecção múltipla por LR e HR-HPV; ND- tipos virais não determinados.



As características epidemiológicas básicas da população estudada entre o grupo de pacientes que não faziam uso de prótese total dentária, associada à positividade para DNA de HPV podem ser observadas na Tabela 5.

Tabela 5- Características epidemiológicas da população que não fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA HPV (n=83).

| Variáveis | Total | | HPV (+) | | HPV (-) | | p | |
|---------------------|-------------------------|----|---------|----|---------|----|--------|--|
| | n | % | n | % | n | % | | |
| Idade (anos) | | | | | | | ≥0,05 | |
| | 30-45 | 50 | 60,24% | 8 | 16% | 42 | 84% | |
| | 46-60 | 26 | 31,32% | 6 | 23,07% | 20 | 76,92% | |
| | ≥61 | 7 | 8,43% | 2 | 28,57% | 5 | 71,42% | |
| Gênero | | | | | | | ≥0,05 | |
| | Feminino | 48 | 57,83% | 6 | 12,5% | 42 | 87,50% | |
| | Masculino | 35 | 42,16% | 10 | 28,57% | 25 | 71,42% | |
| Escolaridade | | | | | | | ≥0,05 | |
| | Fundamental | 20 | 24,09% | 3 | 15% | 17 | 85% | |
| | Ensino Médio | 41 | 49,39% | 12 | 29,26% | 29 | 70,73% | |
| | Ensino superior | 20 | 2,40% | 1 | 5% | 19 | 95% | |
| | Não declarado | 1 | 1,2% | 0 | | 1 | 100% | |
| Estado civil | | | | | | | ≥0,05 | |
| | Solteiro/Viúvo/Separado | 40 | 48,19% | 8 | 20% | 32 | 80% | |
| | Casado | 43 | 51,80% | 8 | 18,60% | 35 | 81,39% | |
| Raça (IBGE) | | | | | | | ≥0,05 | |
| | Branca | 44 | 53,01% | 9 | 20,45% | 35 | 79,54% | |
| | Preta | 14 | 16,86% | 3 | 21,42% | 11 | 78,57% | |
| | Parda | 16 | 19,27% | 2 | 12,50% | 14 | 87,50% | |
| | Amarela | 8 | 9,63% | 2 | 25% | 6 | 75% | |
| | Indígena | 1 | 1,2% | 0 | | 1 | 100% | |

Nota: HPV(+): positivos para DNA de HPV; HPV(-): negativos para DNA de HPV

As características epidemiológicas sugestivas de risco de infecção da população que não fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA de HPV é observada na Tabela 6.

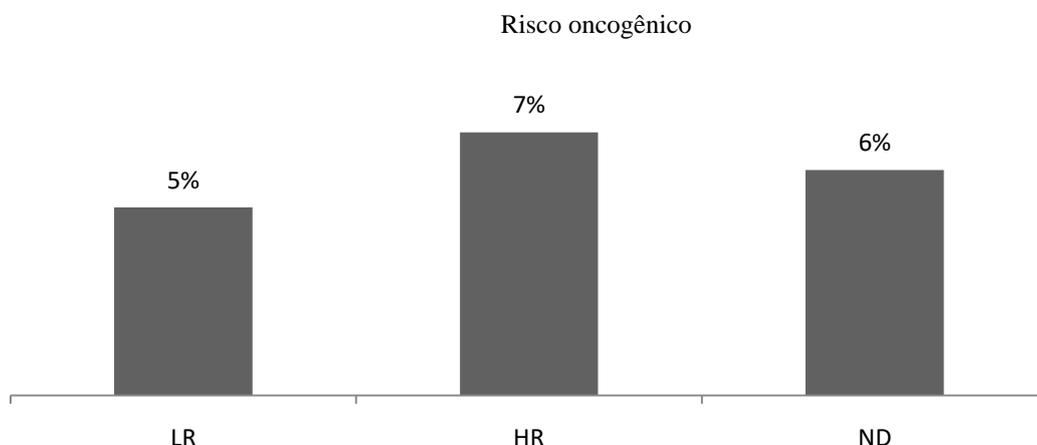
Tabela 6- Características epidemiológicas sugestivas de risco de infecção da população que não fazia uso de prótese total dentária no momento do exame clínico, associadas à positividade para DNA de HPV (n=83).

| Variáveis | Total | | HPV (+) | | HPV (-) | | p |
|--|-------|--------|---------|--------|---------|--------|-------|
| | n | % | n | % | n | % | |
| Uso de Preservativo | | | | | | | ≥0,05 |
| Não | 48 | 57,83% | 7 | 8,33% | 41 | 85,41% | |
| Sim | 35 | 42,16% | 9 | 25,71% | 26 | 74,28% | |
| Prática de Sexo Oral | | | | | | | 0,0 |
| Não | 41 | 49,39% | 10 | 24,39% | 31 | 75,60% | |
| Sim | 42 | 50,60% | 6 | 14,28% | 36 | 85,71% | |
| Uso de Tabaco | | | | | | | ≥0,0 |
| Não | 73 | 87,95% | 14 | 19,17% | 59 | 80,82% | |
| Sim | 10 | 12,04% | 2 | 20% | 8 | 80% | |
| Ingestão de Álcool | | | | | | | ≥0,0 |
| Não | 49 | 59,03% | 8 | 16,32% | 41 | 83,67% | |
| Sim | 34 | 40,96% | 8 | 23,52 | 26 | 76,47% | |
| Número de parceiros até o momento | | | | | | | ≥0,0 |
| até 3 | 67 | 80,72% | 12 | 17,91% | 55 | 82,08% | |
| mais de 3 | 14 | 16,86% | 4 | 28,57% | 10 | 71,42% | |
| Não declarado | 2 | 2,40% | 0 | | 2 | 100% | |
| Número de parceiros nos últimos dois anos | | | | | | | ≥0,0 |
| Até dois | 78 | 93,97% | 16 | 20,51% | 16 | 79,48% | |
| mais de dois | 3 | 3,61% | 0 | | 3 | 100% | |
| Não declarado | 2 | 2,40% | 0 | | 2 | 100% | |
| Uso de drogas | | | | | | | ≥0,0 |
| sim | 0 | | 0 | | 0 | | |
| não | 83 | 100,0% | 16 | 19,27% | 67 | 80,72% | |
| Diagnóstico prévio de DST | | | | | | | ≥0,0 |
| sim | 11 | 13,25% | 2 | 18,18% | 9 | 81,81% | |
| não | 72 | 86,74% | 14 | 19,44% | 58 | 80,55% | |
| Uso de medicamento | | | | | | | ≥0,0 |
| sim | 30 | 36,14% | 8 | 26,66% | 22 | 73,33% | |
| não | 53 | 63,85% | 8 | 15,09% | 45 | 84,90% | |

Nota: DST – Doença Sexualmente transmissíveis; HPV(+): positivos para DNA de HPV; HPV(-): negativos para DNA de HPV

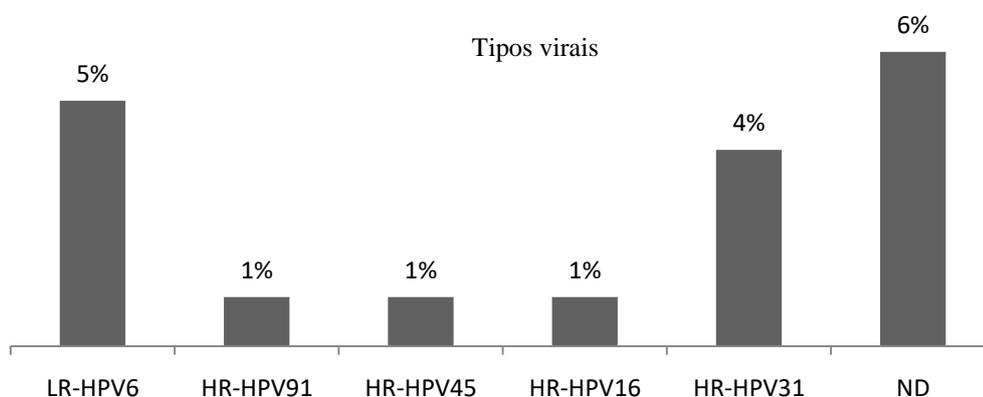
Pode-se verificar que entre os pacientes que não usavam prótese total dentária 5% (4/83;) apresentavam LR-HPV (LR), 7% (6/83) HR-HPV, e 6% (5/83) não tiveram os tipos virais definidos pelos métodos de genotipagem utilizados. Na Figura 9 observam-se os tipos virais encontrados segundo o risco oncogênico, entre pacientes que não usavam prótese total dentária.

Figura 9 - Distribuição dos tipos virais encontrados em pacientes sem prótese total dentária. Pacientes que não usam prótese total (n=83); LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; ND- tipos virais não determinados.



Pode-se verificar que os principais tipos virais encontrados entre os pacientes que não faziam uso de prótese total dentária foram: LR-HPV6 (4/83; 5%), HR-HPV91 (1/83; 1%), HR-HPV45 (1/83; 1%), HR-HPV16 (1/83; 1%), HR-HPV31(3/83; 4%) e 6% (5/83) foram amostras não determinadas não tiveram seus tipos virais determinados. Na Figura 10 observa-se a distribuição dos tipos virais encontrados.

Figura 10 - Distribuição dos tipos virais encontrados em pacientes sem prótese dentária. Pacientes que não usavam prótese total (n=83); LR- baixo risco oncogênico; HR- alto risco oncogênico; infecção múltipla por LR e HR-HPV; ND- tipos virais não determinados.



Considerando que as variáveis “uso de prótese” e “prática de sexo oral” foram significantes quando analisadas para o grupo de pacientes HPV positivos, realizou-se a análise de Regressão Logística Binária (Apêndice B) para averiguar qual delas

seria determinante na aquisição da infecção. Após a análise obteve-se que os pacientes que faziam uso de prótese total apresentaram 2,1 vezes mais chances de serem positivos para DNA de HPV. ($\chi^2=9,037$; GL=2; $p=0,0011$).

6 DISCUSSÃO

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de investigar, em pacientes com prótese total dentária, a presença do DNA de HPV, os tipos virais mais frequentes, associando com os aspectos socioepidemiológicos e fatores comportamentais que expõem o paciente à infecção. Os resultados definiram maior prevalência de DNA de HPV, presença de tipos de alto risco oncogênico e 2,1 vezes mais chances de apresentar o DNA de HPV para os pacientes que faziam uso de prótese total no momento da coleta das amostras, corroborando com a literatura (LEITE *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2011; GILLISON *et al.*, 2012).

Rapaport (2005) relatou que o HPV pode infectar células da camada basal do epitélio desde que exista solução de continuidade, como exemplo, micro traumas no epitélio. Em nosso estudo encontramos que 43,59% dos pacientes que usavam prótese dentária total apresentaram positividade para o DNA de HPV, enquanto entre os pacientes que não faziam uso de prótese total somente 19,27% foram positivos. Nossos resultados corroboram com dados da literatura que apontam que a infecção pelo vírus pode ser potencializada pela mucosa lesada por trauma ou abrasão, o que pode ocorrer, por exemplo, com o uso de próteses totais dentárias mal adaptadas, ou com condições precárias de higiene (GIRAGLOU *et al.*, 2001; CULP; CRISTENSEN, 2004).

Dentre os pacientes que usavam próteses dentárias, encontramos os tipos HPV6, 11,31,e 40, como os mais frequentes, sendo que os de baixo risco oncogênico (LR-HPV) apresentaram maior prevalência (12,82%) quando comparados aos 5% obtidos para os tipos de alto risco oncogênico (HR-HPV). Outros estudos que avaliam a presença de DNA de HPV na cavidade oral, independente do uso de prótese total dentária, relatam maior frequência dos HPV 16 e 18, entretanto diferenças quanto à população estudada e os métodos utilizados para genotipagem podem ser a justificativa para tal achado (CORRENTI *et al.*, 2004; INCA, 2012; MILLER, WHITE, 1996; TERAJ *et al.*, 1999; KUMARASWANY; VIDHYA, 2011; VIDOTTI, 2012).

Na cavidade oral, amplo espectro de genótipos de HPV foram isolados, sendo que os tipos HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, e 35 isolados na mucosa oral normal (CORRENTI *et al.*, 2004; VILLERS, 2004; DOOBAR, 2015). Liamaz-Martinez *et al.* identificaram os tipos HPV6, 11, 16, 18, 31 e 33 em cavidade oral com e sem lesões,

sendo que na mucosa oral normal o HPV6 e o HPV11 foram os mais frequentes (23,3% e 6,7%). Contrariando as evidências do estudo de Bottalico et al., (2011) encontramos em nosso estudo genótipos descritos com α -papilomavírus). Estudo de prevalência realizado no EUA encontrou os HR-HPV16, 66 e 51 e os LR-HPV 62,55 e 89, enquanto que Kristoferson et al., (2012) evidenciaram os tipos HPV6, 11 e 16. No presente estudo houve maior prevalência dos tipos de baixo risco oncogênico entre os pacientes que faziam uso de prótese, enquanto que entre os pacientes que não faziam o uso de prótese os tipos de alto risco oncogênico foram mais prevalentes. Tal fato pode ser justificado considerando a diferença entre a faixa etária predominante nos grupos, 84,62% dos pacientes que faziam uso de prótese total tinham 46 anos ou mais, enquanto que entre os pacientes que não faziam uso de prótese 60,24% tinham idade igual ou inferior a 45 anos. Indivíduos mais jovens devido aos hábitos sociocomportamentais, estão mais expostos à infecção, com maior variação de tipos virais.

Segundo alguns estudos a maior prevalência da infecção por HPV ocorre em pacientes jovens, com um pico de infecção bem nítido abaixo dos 25 anos. Após este período a prevalência da infecção tende a declinar em virtude do estabelecimento da resposta imune específica ao vírus. Nos pacientes cuja infecção não é eliminada pela resposta imune, o vírus tende a persistir, aumentando o risco de transformação maligna e surgimento de neoplasias (TROTIER; FRANCO, 2006; BASEMAN; KOUTSKY, 2005). Nosso estudo objetivou investigar pacientes com idade de 30 anos ou mais, que se infectados, apresentassem infecção viral persistente, ou seja, com maior risco de progressão maligna.

Constatou-se nos resultados do presente trabalho que entre os pacientes sem prótese dentária, com mucosa oral normal, houve maior frequência de positividade para o HPV em indivíduos ≥ 61 anos (28,57%), sendo o maior número de indivíduos do gênero masculino (28,57%). No homem a maior faixa de prevalência da infecção não abrange um grupo etário específico e não se concentra entre indivíduos mais jovens, em contraste com resultados para o sexo feminino. Estes achados sugerem que o indivíduo do sexo masculino pode apresentar potencial para persistência da infecção em longo prazo e elevada taxa de reinfecção (SMITH *et al.*, 2011). Tal resultado corrobora com diversos autores que relatam que os meios de transmissão para cavidade oral na maioria dos casos podem ser a transmissão horizontal,

relações sexuais e sexo oral independente do uso de prótese dentária (GIRALDO et al., 1996; ZURHAUSEN, 1996; GALO, 2012; MACHADO, 2013).

De acordo com a literatura, o fator de risco mais consistente para a infecção pelo HPV é o elevado número de parceiros sexuais. Práticas envolvendo sexo oral também têm sido amplamente associadas ao risco de infecção pelo HPV. (D'SOUZA et al., 2007; D'SOUZA et al., 2009). Llamas-Martínez et al. (2008) descrevem que o aumento da incidência do HPV na mucosa oral tem relação direta com os fatores comportamentais do indivíduo.

Parece também haver uma relação entre o início precoce da atividade sexual e um maior risco de aquisição da infecção HPV, possivelmente pelo aumento do tempo de exposição ao vírus. Vários estudos transversais relatam que quanto mais precoce o início da atividade sexual, mais provável a infecção pelo HPV, assim a esta variável soma-se outros fatores de risco, tais como o elevado número de parceiros ao longo da vida (BURCHELL et al., 2006; GRAVITT, 2011).

Apesar das hipóteses sobre o HPV ser transmitido para a região oral em função de práticas sexuais, não há um consenso perante os questionamentos aplicados, uma vez que a maioria das respostas em questionários sócio epidemiológicos baseiam-se em declarações do paciente (MACHADO, 2013). O papel da prática do beijo na boca na transmissão do HPV oral também é bastante discutido, uma vez que pelo estudo de D'Souza et al. (2009), houve maior associação da infecção pelo HPV entre os que declaram essa prática e a despeito de não declararem a prática do sexo oral. Comprovadamente o comportamento sexual é um importante fator associado à infecção, sendo o contato direto entre os epitélios, ou seja, sem o uso adequado de proteção, o fator responsável (D'SOUZA et al., 2009; COLPANI et al., 2016; CHEN et al., 2016). No presente trabalho a prática do sexo oral esteve associada à infecção por HPV em ambos os grupos, tanto entre pacientes que utilizavam prótese total como entre pacientes que não faziam uso, corroborando a importância deste fator de risco na transmissão da infecção para este sítio anatômico.

A genotipagem dos tipos virais detectados é de relevância, considerando a cavidade oral e devido ao potencial risco de desenvolvimento de lesões malignas, induzidas pelos tipos de alto risco oncogênico. A TS-PCR aplicada em nosso estudo objetivou a identificação dos tipos mais prevalentes na mucosa oral assintomática e em lesões benignas e malignas (KREIMER et al., 2010). A

combinação de dois métodos de genotipagem (TS-PCR e RFLP) ainda é escassa nos estudos epidemiológicos, sendo bastante vantajosa na detecção de infecções múltiplas. Observa-se que a maior vantagem da utilização da TS-PCR é a capacidade de identificar um maior número de genótipos de HPV, no entanto este procedimento requer várias reações de amplificação, fato que demonstra a inviabilidade do método para pesquisas em larga escala amostral (CARVALHO *et al.*, 2010). Entretanto, sabe-se que a técnica com maior precisão de resultados na genotipagem continua sendo o sequenciamento (Lee *et al.*, 2009).

Embora o HPV seja predominantemente encontrado em praticamente todos os casos de câncer cervical, a prevalência da infecção pelo HPV na população masculina e na cavidade oral, também é significativa, porém, é assintomática na maioria dos casos e estreitamente relacionada aos hábitos de fumar e consumir bebidas alcoólicas (FINN, 1997; ALLEGRA; GENNARI, 2000; PERUSSI *et al.*, 2002; VICENTE *et al.*, 2002; KUMARASWAMY, 2011; GILLISON *et al.*, 2012; KHODE *et al.*, 2014). No presente trabalho, de forma contrária à maioria da literatura, não houve diferença estatisticamente significativa entre a infecção para os gêneros masculino e feminino e nem associação com os hábitos de fumar e consumir bebidas alcoólicas, como discutido anteriormente devemos ressaltar que tais hábitos, neste estudo foram auto declarados.

O tabagismo é citado como um dos principais fatores ambientais associados ao aparecimento de patologias orais, inclusive aquelas induzidas pelo HPV, sendo em alguns estudos considerado como cofator para a infecção das mucosas pelo Papilomavírus Humano (VIDOTTI, 2012). Entretanto, outros autores como BUI *et al.*, (2013) contestam este resultado, alicerçados no possível efeito do tabaco na cavidade oral e orofaríngea, considerando que o hábito de fumar provoca o aumento da queratinização nas superfícies das mucosas, tornando o epitélio menos suscetível a microtraumas.

Quanto ao consumo de álcool, vê-se, nesse estudo, que a incidência do consumo alcoólico também foi reduzida e pouco expressiva, ressaltando também a auto declaração deste hábito. Estudos apontam para aumento da incidência de neoplasias associadas ao HPV, enquanto que as mesmas associadas ao consumo de álcool e tabaco têm diminuído, além disso, demonstram que o risco do desenvolvimento destes tumores apresenta uma forte relação dose resposta com a

frequência, duração e concentração do consumo do álcool e do tabaco (ALLEGRA; GENNARI, 2000; PERUSSI et al., 2002; VICENTE et al., 2002; LEITE et al., 2005; PEREIRA et al., 2007; SEROLI; RAPOPORT, 2009; BUI et al., 2013; LEE et al., 2013; KHODE et al., 2014).

Todas as substâncias ingeridas apresentam ações específicas na mucosa oral. O álcool, além de proporcionar o aparecimento de doenças gastrointestinais, distúrbios vasculares e perturbações nervosas (INCA, 2011), facilita a absorção de carcinógenos na mucosa, em função da solubilização de alguns agentes tóxicos e pelo aumento da permeabilidade celular, que pode ser acentuada em mucosa não queratinizada e mucosa jugal, se comparada a tecidos queratinizados (MOLINA et al., 2002; SMITH et al., 2004).

Quanto ao uso contínuo de medicamentos e sua relação com a infecção por HPV na cavidade oral, temos que dentre as diversas classes de medicamentos utilizados com ou sem prescrição por um profissional de saúde, algumas podem causar reações adversas na mucosa oral. Estudo visando determinar a hipossalivação em pacientes idosos demonstrou que mais de 80% dos medicamentos prescritos causam xerostomia (GUPTA, EPSTEIN, SROUSSI, 2006). Em nosso estudo pode-se observar o relato do uso de anti-hipertensivos e antidepressivos, embora não ocorresse relação significativa com a presença de HPV DNA. Segundo Loureiro et al. (2004), alguns medicamentos de uso sistêmico, ainda que ministrados corretamente, podem desencadear o surgimento de úlceras na cavidade oral, que muitas vezes são decorrentes de hiperdosagem, como por exemplo o uso de hipertensivos e antidepressivos.

A literatura nos indica que pessoas com saúde bucal precária e pessoas com doença bucal são, de modo significativo, são mais propensas a contraírem infecções orais, entre elas as causadas por HPV. Estudos relatam que em pacientes com saúde bucal precária a prevalência desta infecção oral é elevada (PERRY et al., 2015). Pacientes com doença periodontal ou outros problemas relacionados aos dentes, também mostram elevada frequência de infecção por este vírus (BUI et al., 2013). Em adição, é conhecida a relação entre o número de dentes perdidos com infecção oral por HPV (GILLISON et al., 2000; RIVERO; NUNES, 2006; SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2010; RIBEIRO et al., 2017). Estas descobertas em conjunto

sugerem que a saúde bucal precária é um fator de risco para a infecção oral por HPV.

No presente estudo, quando analisamos em conjunto as variáveis “uso de prótese” e “prática de sexo oral”, encontramos que o uso de prótese representou 2,1 vezes maior chance de presença do DNA de HPV na amostra obtida do paciente. No caso específico desse estudo, a presença de microtraumas ocasionados pelo uso da prótese total, poderia representar um importante fator predisponente à infecção, associado à má higienização comumente observada nestes paciente. Na maioria das vezes as condições socioeconômicas de tais pacientes não são propensas às substituições preconizadas da prótese, considerando a vida útil, ou então tais pacientes por desconhecimento ou faltas de condições adequadas não procedem à contínua higienização adequada.

O presente estudo mostrou a predisponibilidade dos pacientes que fazem uso de prótese total dentária à presença do DNA de Papilomavírus humano na cavidade oral, mostrando inclusive a presença de tipos de alto risco oncogênico e infecções múltiplas neste grupo. Além do uso de prótese total, a prática do sexo oral também foi considerada um fator predisponente à infecção por este vírus, ressaltando a importância do contato sexual como meio de transmissão. Nossos resultados indicam a necessidade do acompanhamento periódico e orientação do paciente que faz uso de prótese total com objetivo de preservar as condições básicas de saúde bucal e monitorar o surgimento de lesões com potencial maligno.

Nosso estudo limitou-se a avaliação da infecção por HPV na mucosa oral em pacientes com ou sem prótese total dentária sem considerar o uso de próteses parciais. Entretanto, o caráter inédito e exclusivo de abordagem dessa população, indicou que a mesma é constantemente exposta a hábitos que predispõem o indivíduo a infecção. Podemos considerar que o número de pacientes participantes do nosso estudo também foi uma limitação, fato corroborado pela ocorrência da coleta em uma instituição de ensino, sujeito ao calendário letivo, além de outras variações socioculturais. Portanto, apesar das dificuldades para elaboração e condução, novos estudos prospectivos e transversais nessa população são necessários, visando fornecer uma base sólida e concreta para a concepção de estratégias eficazes de prevenção à infecção pelo HPV.

7 CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos os achados do estudo demonstram que:

- O DNA de HPV foi detectado em 27,04% (33/122) dos pacientes envolvidos no estudo.

- Os tipos virais mais prevalentes entre as amostras positivas para DNA de HPV foram LR-HPV6, e 11, e HR-HPV 16, 31 e 45.

- Entre os pacientes com prótese dentária total 43,59% foram positivos para DNA de HPV e os tipos de baixo risco oncogênico foram mais prevalentes (12,82%).

- O uso de prótese total dentária e sexo oral foram comportamentos associados à presença do DNA de HPV, sendo que o uso de prótese representou 2,1 vezes mais chances do paciente apresentar o DNA de HPV;

- Entre os pacientes que não utilizavam prótese total dentária 19,27% foram positivos para DNA de HPV, sendo os tipos de alto risco oncogênico mais prevalentes (7%).

REFERÊNCIAS

Alba, A.; Cararach, M.; Rodríguez-cerdeira C. The Human papillomavirus (HPV) in human pathology: description, pathogenesis, oncogenic role, epidemiology and detection techniques. **The Open Dermatology Journal**, v. 3, p. 90-102, 2009.

Allegra, F.; Gennari, P.U. **As doenças da mucosa bucal**. São Paulo-Santos, 2000.228p.

Anderson, M.D.P.; Miles, L.A.C.M.; Nuovo, G.J. The histologic differentiation of oral condylomaacuminatum from its mimics. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod**,v.96, n.4, p.420-8, 2003.

Bauer, H.M; Ting, Y.; Greer, C.E.; Chambers, J.C.; Tashiro, C.J.; Chimera, J, et al.Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. **JAMA**, v. 265, n. 4, p. 472-7, Jan. 1991.

Barnes, L. **World health organization classification of tumours: pathology & genetics of head and neck tumours**. Lyon, IARC Press, 2005. 430p.

Baseman JG, Koutsky LA.The epidemiology of Human papillomavirus infections. **J Clin Virol** 2005; 32 Suppl 1: S16-S24.

Bernard, H.U.; Chan, S.Y.; Manos, M.M.; Ong, C.K.; Villa, L.L.; Delius, H.et al.Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 170, n. 5, p. 1077-85, Nov. 1994.

Brener, S.et al.Carcinoma de células escamosas bucal: uma revisão de literatura entre o perfil do paciente, estadiamento clínico e tratamento proposto. **RevBras Cancerol**, v.53, n.1, p. 63-9, 2007.

Bouda, M., Gorgoulis, V.G., Kastrinakis, N.G., Giannoudis, A.; Tsoli, E., Danassi-Afentaki, D. et al.“High risk” HPV types are frequently detected in potentially malignant and malignant oral lesions, but not in healthy oral mucosa. **Mod Pathol**, v. 13, n. 6, p. 644-53, 2000.

Bottalico, D.; Chen, Z.; Dunne, A.; Ostolozza, J.; Mckinney, S.; Sun, C.et al;The oral cavity contains abundant known and novel human papillomaviruses from the Betapapillomavirus and Gammapapillomavirus genera. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n. 5, p. 787-792, Sep. 2011

Bui, T.C.; Markham, C.M.; Ross, M.W.; Mullen, P.D. Examining the association between oral health and oral HPV infection. **CancerPrevRes**. Universidad do Texas Health Science Center. Published Online First, 2013.

Burchell, A. N.; Winer, R. L.; DE Sanjosé, S.; Franco, E. L. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. **Vaccine**, v. 31, Suppl 3:S3, p. 52-61, Aug. 2006.

Chappuis, J.M; Papa, B.M.; Maldonado, M.S.; Consigli, J.E. Patologia branca de la mucosa oral. **Archivos argentinos de dermatología**, v. 48, n. 5, p. 209-33, 1998.
Castro, T.P.P.G.; Bussoloti Filho, I. Prevalência do papilomavírus humano (HPV) na cavidade oral e na orofaringe. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v.72, n.2, p.272-82, 2006.

Castro, T.M.P.P.G.; Duarte, M.L. Condiloma lingual: relato de caso clínico. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 70, n. 4, p. 565-8, 2004.

Carli, M.L, et al. Características clínicas, epidemiológicas e microscópicas do câncer bucal diagnosticado na Universidade Federal de Alfenas. **Rev Bras Cancerol**, v.55, n.3, p. 205-11, 2009.

Castro, TMPPG, et al. Manifestações orais associada ao papilomavírus humano (HPV) conceitos atuais: revisão bibliografia. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 70, n. 4, p. 546-50, 2004.

Cañadas, M.P.; Bosch, F.X.; Junquera, M.L.; Ejarque, M.; Font, R. et al. Concordance of prevalence of human papillomavirus DNA in anogenital and oral infections in a high-risk population. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 1330-2, 2004.

Cavalcanti, S.M.B.; Carestiato, F.N. Infecções causadas pelos papilomavírus humanos: atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnóstico. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 18, n. 1, p. 73-9, 2006.

Carvalho, N.O.; Castilho, D.M.; Perone, C.; Januário, J.N.; Melo, V.H.; Filho, G.B. Comparison of HPV genotyping by type-specific PCR and sequencing. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 1, p. 73-8, 2010.

Carvalho, J.J. Papilomavírus humano. In: Carvalho, J.J. **Manual prático do HPV: papilomavírus humano**. São Paulo: Instituto Garnet;, 2004. p.13-4.

Costa, L.A.; Goldenberg, P. Papilomavírus humano (HPV) entre jovens: um sinal de alerta. **Saúde e Sociedade**, v. 22, n. 1, p. 249-61, 2013.

Correnti, M.; Rivera, H.; Cavazza, M.E. Detection of human papillomaviruses of high oncogenic potential in oral squamous cell carcinoma in a Venezuelan population. **Oral Dis**, v. 10, n. 3, p. 163-6, 2004.

Colpani, V.; Bidinotto, A.B.; Falavigna, M.; Giozza, S.P.; Benzaken, A.S.; Pimenta, C. et al. Prevalence of papillomavirus in Brazil: a systematic review protocol. **BMJ Open**. v. 6, n.11, 2016.

Culp, T.D.; Christensen, N.D. Kinetics of in vitro adsorption and entry of papillomavirusvirions. **Virology**, v. 319, p. 125-61, 2004.

Chen, F.; Yan, L.; Liu, F.; Huang, J.; Liu, F.; Wu, J. et al. Oral human papillomavirus infection, sexual behaviors and risk of oral squamous cell carcinoma in southeast of China: A case-control study. **J Clin Virol**, v. 85, p. 7-12, 2016.

D'Souza, G.; Kreimer, A.R.; Viscidi, R.; Pawlita, M.; Fakhry, C.; Koch, W.M. et al. Case-control study of human papilomavírus and oropharyngeal cancer. **The New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 19, p. 1944-56, 2007.

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

D'Souza, G.; Cullen, K.; Bowie, J.; Thorpe, R.; Fakhry, C. Differences in oral sexual behaviors by gender, age, and race explain observed differences in prevalence of oral human papillomavirus infection. **Plos One**, v. 9, n. 1, 2014.

D'Souza, G. DA. The role of HPV in head and neck cancer and review of the HPV vaccine. **Prev Med**, v. 53, n. 1, 2011.

de Villiers, E.M.; Fauquet, C.; Broker, T.R.; Bernard, H.U.; ZurHausen, H. Classification of papillomaviruses. **Rev Med Virology**, v. 324, p.17-27, 2004.

Doorbar, J.; Egawa, N.; Griffin, H.; Kranjec, C.; Murakami, I. Humanpapilomavirus molecular biology and disease association. **Rev Med Virol**, v. 25, Suppl 1:2-23, 2015.

Doorbar, J.; Quint, W.; Banks, L.; Bravo, I.G.; Stoler, M.; Broker, T.R.; Stanley, M.A. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. **Vaccine**, v.20, n. 30, Suppl 5:F55-70, 2012.

Elasball, A.A.; Saad, E.L.; Din, A.A.; Abdallah, R.R.; Ahmed, H.H. Cervical and oral screening for HR-HPV types 16 and 18 among sudanese women cervical lesions. **Infectious Agents and Cancer**, v. 7, n. 1, p. 17, 2012.

Esquenazi, B.I.F.; Carvalho, M.G.C.; Barros, F.S. A frequencia do HPV na mucosa oral normal de indivíduos sadios por meio da PCR. **Braz J Otorrinol**, v. 76, n. 1, 2010.

Elamin, F.; Steingrimsdottir, H.; Wanakulasuriya, S.; Johnson, N.; Tavassoli, M. Prevalence of human papillomavirus infection in premalignant and malignant lesions of the oral cavity in U.K. subjects: a novel method of detection. **Oral Oncol**, v. 34, n. 3, p. 191-7, 1998.

Eversole, L.R. Papillary lesions of the oral cavity: relationship to human papillomaviruses. **J Calif Dent Assoc**, v. 28, n. 12, p. 922-7, 2000.

Faridi, R.; Zahra, A.; Khan, K.; Idrees, M. Oncogenic potential of human papillomavirus (HPV) and its relation with cervical cancer. **Virol J**, v. 8, n. 269, p. 1-8, 2011.

Ferraro CTL; Canedo, NHSC; Oliveira, SP; Carvalho, MGC; Dias, EP. Infecção oral pelo HPV e lesões epiteliais proliferativas associadas HPV oral infection and proliferative epithelial associated lesions, **J Bras Patol Med Lab**, v. 47, n. 4, p. 451-9, 2011.

Fredericks, .BD.; Balklin, A.; Daniel, H.W.; Schonrock, J.; Ward, B.; Frazer, I.H. Transmission of human papillomaviruses from mother to child. **J Obstet Gynaecol**, v. 33, p. 1-30, 1993.

Finn, P. HPV - associated diseases of oral mucosa. **Clinics in Dermatology**, v.15, p. 399-413, 1997.

Galo, A.A. **Prevalência de HPV na saliva da população da clínica dentária universitária da VCP- Viseu.** [dissertação]. Universidade Católica Portuguesa. Portugal, 2012.

Gravitt, P.E.; Peyton, C.I.; Alessi, T.Q.; Wheeler, C.M.; Coutlée, F.; Hildsheim, A., et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. **Journal Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 357-61, 2000.

Gillison, M.L.; Broutian, T.; Pickard, R.K. et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. **J Am Med Assoc**, v. 307, p. 693-703, 2012.

Gillison, M.L.; Koch, W.M.; Capone, R.B.; Spafford, M.; Westra, W.H. et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 92, n. 9, p. 709-20, 2000.

Gillison, M.L.; Broutian, T.; Pickard, R.K.; Tong, Z.Y.; Xiao, W.; Kahle, L. et al. Prevalence of oral hpv infection in the united states, 2009-2010. **JAMA**, v. 307, n. 7, p. 693-703, 2012.

Giraldo, P.C.; Simões, J.A.; Ribeiro Filho, D.A.; Tambascia, J.K.; Dias, A.L.; Pacello, P.C. Avaliação citológica da orofaringe de mulheres portadoras de HPV genital. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 18, n. 9, p. 737-42, 1996.

Giroglou, T.; Florin, L.; Schafer, F.; Streeck, R.E.; Sapp, M. Human papillomavirus infection requires cell surface heparin sulfate. **J Virol**, v. 75, p. 1565-70, 2001.

Giovannelli, L.; Campisi, G.; Lama, A.; Giambalvo, O.; Osborn, J.; Margiotta, V. et al. Human papillomavirus DNA in oral mucosal lesions. **J Infect Dis.**, v. 185, p. 833-6, 2002.

Guo, T; Eisele, DW; Fakry, C. The Potential Impact of Prophylactic Human Papillomavirus Vaccination on Oropharyngeal Cancer. **Cancer**, v. 122, p. :2313-23, 2016.

Gupta, A.; Epstein, J. B.; Sroussi, H. Hyposalivation in elderly patients. **Journal (Canadian Dental Association)**, v. 72, n. 9, p. 841-846, Nov. 2006.

Guo, M.; Sneige, N.; Silva, E.G.; Jan, Y.J.; Cogdell, D.E.; Lin, E. et al. Distribution and viral load of eight oncogenic types of human papillomavirus (HPV) and HPV 16

integration status in cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. **Modern Pathology**, v. 20, n. 2, p. 256-66, 2007.

Herrero, R.; Castellsague, X.; Pawlita, M. et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. **J Natl Cancer Inst**, v.95, p. 1772–83, 2003.

Hubbard, R.A. Human papillomavirus testing methods. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 127, n. 8, p. 940-5, 2003.

Inca. Instituto Nacional de Câncer [Internet]. **HPV: perguntas e respostas mais frequentes. Estimativa 2012** [acesso em 14 jan de 2017] Disponível em: <http://www.inca.gov.br/conteudo.view.asp?>

Inca. Instituto Nacional de Câncer [Internet]. **Câncer de boca. estimativas para biênio-2018 a 2019.** [acesso em 24 jan de 2018] Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/boca+/definicao>

INCA. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2011: Incidência de Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro, 2011.

IARC. **International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Human Papillomaviruses.** France: Lyon, 2007.

Kashima, H.K.; Shah, F.; Lyles, A.; Glackin, R.; Muhammad, N.; Turner, L. et al. A comparison of risk factors in juvenile-onset and adult onset recurrent respiratory papillomatosis. **The Laryngoscope**, v. 102, n. 1, p. 9-13, 1992.

Kado, S.; Kawamata, Y.; Shino, Y.; Kasai, T.; Kubota, K.; Iwasaki, H, et al. Detection of human papillomaviruses in cervical neoplasias using multiple sets of generic polymerase chain reaction primers. **Gynecology Oncology**, v. 81, n. 1, p. 47-52, 2001.

Karlsen, F.; Kalantari, M.; Jenkins, A.; Pettersen, E.; Kristensen, G.; Holm, R. et al. Use of multiple PCR primer sets for optimal detection of human papillomavirus. **Journal Clinical Microbiology**, v. 34, n. 9, p. 2095-2100, 1996.

Kreimer, A.R.; Rodriguez, A.C.; Hildesheim, A.; Herrero, R.; Porras, C, et al. CVT Vaccine Group. Proof-of-principle evaluation of the efficacy of fewer than three doses of a bivalent HPV16/18 vaccine. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 103, n. 19, p. 1444-51, 2011.

Kreimer, A. R. Oral sexual behaviors and the prevalence of oral human papillomavirus infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 199, n. 9, p. 1253, 2009.

Kreimer, A.R.; Bhatia, R.K.; Messegue, A.L.; González, P.; Herrero, R.; Giuliano, A.R. Oral human papillomavirus in individuals: a systematic review of the literature. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 37, n. 6, p. 386–91, 2010.

Kellokoski, ; Syrjänen, S.; Yliskoski, M.; Syrjänen, K. 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, p. 19-23, 1992.

Kim, S.M. Human papilloma virus in oral cancer. **J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg**, v. 42, n. 6, p. 327-36, 2016.

Kristoffersen, A. K.; Enersen, M.; Kverndokk, E.; Sunde, P. T.; LandiN, M.; Solheim, T.; Olsen, I.; Grinde, B. Human papillomavirus subtypes in oral lesions compared to oral mucosa. **Journal of Clinical Virology**, v. 53, n. 4, p. 364-6, 2012.

Khode, S.R.; Dwivedi, R.C.; Rhys-Evans, P.; Kazi, R. Exploring the link between human papilloma virus and oral and oropharyngeal cancers. **J Can Res Ther**, v.10, n.3, p. 492-8, 2014.

Kumaraswamy, K.L., M. Human papilloma virus and oral infections: An update. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 7, n. 2, 2011.

Kumar, V.; Abbas, A.K.; Fausto, N. Robbins e Cotran. **Patologia – bases patológicas das doenças**. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 356.

Leite, ACE; Guerra, ENS; Melo, NS. Fatores de risco relacionados ao desenvolvimento do câncer da boca. *Revista de Clínica e Pesquisa Odontológica*, Curitiba, v. 1, n. 3, p. 31-36, 2005.

Leto, M.G.P. et al. Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 2, p. 306-17, 2011.

Lee, S. H; Vigliotti, V.S.; Vigliotti, J.S; Pappu, S. Validation of human papillomavirus genotyping by signature DNA sequence analysis. **BMC Clinical Pathology** 2009, 9:3

Lee, Y. C.; Zugna, D.; Richiardi, L.; Merletti, F.; Marron, M.; Ahrens, W et al Smoking addiction and the risk of upper-aerodigestive-tract cancer in a multicenter case-control study. **International Journal of Cancer**, v. 133, n. 11, p. 2688-95, 2013.

Llamas-Martinez, S.; Esparza-Gomez, G.; Campo-Tapero, J.; Cancela-Rodriguez, P.; Bascones-Martinez, A.; Moreno-Lopes, A. *et al.* Genotypic determination by PCR-RFLP of human papillomavirus in healthy oral mucosa, oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma samples in Madrid (Spain). **Anticancer Research**, v. 28, n. 6A, p. 3733-41, 2008.

Lin, CY; Chao, A; Yang, YC; Chou, HH; Ho, CM; Lin, RW. *et al.* Human papillomavirus typing with a polymerase chain reaction-based genotyping array compared with type-specific PCR. **Journal of Clinical Virology**, v. 42, n. 4, p. 361-7, 2008.

Loureiro, C. C. S., Adde, C. A., Perez, F. E. G. *et al.* Efeitos adversos de medicamentos tópicos e sistêmicos na mucosa bucal. Revista **Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 70, n. 1, p. 106-111, jan./fev., 2004.

Machado, A.P. **Detecção e tipagem de papilomavírus humano em mucosa oral de indivíduos do sexo masculino**. [dissertação]. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande. 2013.

Marone, S.A.; Gusmão, R.J. **HPV em outras especialidades, epidemiologia, diagnóstico e tratamento**. In: Carvalho JM, Oyakawa N. 1º Consenso Brasileiro do HPV. São Paulo: Editora BG Cultural; 2000. p.87-95.

Guo, M.; Sneige, N.; Silva, E.G. *et al.* Distribution and viral load of highly oncogenic types of human papillomavirus (HPV) and HPV 16 integration status in cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. **ModPathol**, v. 20, p. 256–66, 2007.

Migaldi, M.; Pecorari, M.; Forbicini, G.; Nanni, N.; Grottola, A.; Grandi, T. *et al.* Low prevalence of human papillomavirus infection in the oral mucosa of a Northern Italian population. **J Oral Pathol Med**, v. 41, v. 1, p. 16-20, 2012.

Milectic, I.D.; Schiffman, D.D.; Milectic, V.D.; Satterly-Miller, E.A. Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. **PhysiopBehav**, v. 60, p. 243-8, 1996.

Miller, C.S.; White, D.K. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 82, v. 82, p. 57-68, 1996.

McQuillan, G.; Kruszon-Moran, D.; Markowitz, L.E.; Unger, E.R.; Paulose-Ram, R. Prevalence of HPV in adults aged 18-69: united states, 2011-2014. **NCHS Data Brief**, v. 280, p. 1-8, 2017.

Montenegro, L.A.S.; Veloso, H.H.P.; Cunha, P.A.S.M.A. Papiloma vírus humano como fator carcinogênico e co-carcinogenico do câncer oral e da orofaringe. **Rev Odontol Bras Central**, v.23, n.67, 2014.

Molina, P. E.; McClain, C.; Valla, D. Guidot, D.; Diehl, A. M.; Lang, C. H.; Neuman, M. Molecular pathology and clinical aspects of alcohol-induced tissue injury. **Alcoholism, Clinical and Experimental Research**, v. 26, n. 1, p. 120-128, Jan. 2002.

Münger, K.; Baldwin, A.; Edwards, K.M.; et al. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. **J Virol**, v. 78, p. 11451–60, 2004.

Neville, B.W. et al. **Patologia oral e maxillofacial**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. cap.10, p. 362-8.

Nobre, R.J.; Cruz, E.; Real, O.; de Almeida, L.P.; Martins, T.C. Characterization of common and rare human papillomaviruses in Portuguese women by the polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism and sequencing. **Journal of Medical Virology**, v. 82, n. 6, p. 1024-32, 2010.

Nobre, R.J.; Almeida, L.P.; Martins, T.C. Complete genotyping of mucosal human papillomavirus using a restriction fragment length polymorphism analysis and an original typing algorithm. **J Clin Virol**, v. 42, p. 13-21, 2008.

Okada, M.M.; Gonçalves, M.A.; Giraldo, P.C. **Epidemiologia e patogênese do papilomavírus humano (HPV)**. In: Carvalho, J.J.; Oyakawa, N. I Consenso Brasileiro de HPV. 1ed. São Paulo: Editora BG; 2000. p.1-6.

Passos, M.R.L.; Almeida, G.; Giraldo, P.C.; Cavalcanti, S.M.B.; Côrtes, J.C.J.; Bravo, R.S et al. Papilomavírose humana em genital, parte I. DST – **J Bras Doenças Sex TRANSM**, v. 20, n. 2, p. 108-24, 2008.

Pereira, K.M.A.; Santos, P.P.A.; Rocha, D.A.P.; Lima, K.C. Human papillomavirus and oral cancer: a review of actual concepts. **Rev Odontol UNESP**, v. 36, n. 2, p. 151-6, 2007.

Pereyra, E.A.; Tacla, M. HPV na mulher colposcopia. In Carvalho, J.J. Oyakawa, N. 1ª Consenso Brasileiro de HPV. 1ed. São Paulo: BG Editora, p.17-33, 2000.

Perry, B.J.; Zammit, A.P.; Lewandowski, A.W.; Bashford, J.J.; Dragovic, A.S.; Perry, E. J. et al. Sites of origin of oral cavity cancer in nonsmokers vs smokers: possible evidence of dental trauma carcinogenesis and its importance compared with human papillomavirus. **JAMA Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 141, n. 1, p. 5-11, 2015.

Perussi, M.R, et al. Carcinoma epidermóide da boca em idosos de São Paulo. Rev. Assoc. Méd. Bras, v. 48, n. 2, p. 341-4, 2002.

Qu, W. et al. PCR Detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primer systems. **J Clin Microbiol**, v. 35, n. 6, p. 1304-10, 1997.

Rivero, E.R.C.; NUNES, F.D. HPV in oral squamous cell carcinomas of a Brazilian population: amplification by PCR. **Braz Oral Res**, v. 20, n. 1, p. 21-4, 2006.

Ribeiro, M.G.; Marcolino, L.D.; Ramos, B.R.; Miranda, E.A.; Trento, C.L.; Jain, S.; Gurgel, R.Q.; Silva, M.G.; Dolabella, S.S. High prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral mucosal lesions of patients at the Ambulatory of Oral Diagnosis of the Federal University of Sergipe. **Journal of Applied Oral Sci**, v. 25, n. 1, p. 69-74, 2017.

Rapaport, D. Biologia do HPV. In: Rosenblatt, C.; Wroclawski, E.R.; Lucon, A.; Pereyra, E.A.G. **HPV na prática clínica**: São Paulo: Atheneu; 2005, p.7-23.

Rautava, J.; Syrjane, S. Human papillomavirus infections in the oral mucosa. **The Journal of the American Dental Association**, v. 142, n. 8, p. 905-915, Aug. 2011.

Santiago, E.; Camacho, L.; Junquera, M. L.; Vázquez, F. Full HPV typing a single restriction enzyme. **Journal of Clinical Virology**, v. 37, n. 1, p. 38-46, 2006.

Santos, P.P.A. et al. Hiperplasia epitelial focal (doença de Heck) em descendente de índios brasileiros: relato de caso. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, n. 6, p. 431-4, 2007.

Saiut-Gerons, R.S. et al. Hiperplasia epitelial focal. Una rara enfermedad em nuestro médio. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 10, n. 2, p. 128-31, 2005.

Sacramento, P.; Babeto, E.; Colombo, J.; Ruback, M.; Bonilho, J.; Fernandes, A. The prevalence of human papillomavirus in the oropharynx in healthy individuals in a Brazilian population. **J Medical Virology**, v. 78, p. 614-8, 2006.

Seroli, W.; Rapoport, A. Avaliação da saúde bucal no diagnóstico de pacientes com câncer bucal. **Rev Bras Cir Cabeça Pescoço**, v. 38, nº 3, p. 157-162, 2009.

Sánchez-Vargas, L. O.; Díaz-Hernandez, C.; Martínez-Martínez, A. Detection of human papilloma virus (HPV) in oral mucosa of women with cervical lesions and their relation to oral sex practices. **Infectious Agents and Cancer**, v. 5, p. 25, 2010.

Sedlacek, TV. Advances in the diagnosis and treatment of human Papillomavirus infection. **Clin Obstet Gynecol**. v.42, n.02, jun, p-206-20, 1999.

Swan, D.C.; Tucker, R.A.; Tortolero-Luna, G.; Mitchell, M.F.; Wideroff, L.; Unger, E.R. et al. Human papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV Type. **J Clin Microbiol**, v. 37, n. 4, p. 1030-4, 1999.

Smith, J. S.; Gilbert, P. A.; Melendy, A.; Rana, R. K.; Pimenta, J. M. Age-specific prevalence of human papillomavirus infection in males: a global review. **The Journal of Adolescent Health**, v. 48, n. 6, p. 540-552, June. 2011.

Silva, L.A.G.; Piva, M.R.; Santos, T.S.S.; Filho, P.R.S.M; Lobo, J.S. Análise morfológica de lesões orais relacionadas ao HPV. **Rev Cir Traumatol Buco-Maxilofacial**, v. 10, n.1, p.81-8, 2010.

Silva, A.M.T.C.; Cruz, A.D.; Silva, C.C.; Borges, F.R.; Curado, M.P. Genotipagem de Papiloma Vírus Humano em paciente com papilomatose laríngea recorrente. **Rev Bras de Cancerol**, v. 49, n. 3, p. 167-74, 2003.

Silva, H.F.S.; Filho, P.R.S.M.; Piva, M.R. Denture-related oral mucosal lesions among farmers in a semi-arid Northeastern Region of Brazil. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, v. 16, n. 6, p. 740-4, 2011.

Snijders, P. J.; Heideman, D. A.; Meijer, C. J. Methods for HPV detection in exfoliated cell and tissue specimens. **Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B Microbiol**, v. 118, n. 6-7, p. 520-8, 2010.

Soares, C.P. Papilomavírus humano (HPV) – um estudo de revisão. **Rev Ciênc Farm**, v. 20, n. 11, p. 11-34, 1999.

Sugerman, P.B.; Shillitoe, E. J. The high risk human papillomaviruses and oral cancer evidence for and against a causal relationship. **Oral Diseases**, v. 3, p. 130-47, 1997.

Summersgill, K.F.; Smith, E.M.; Levy, B.T.; Kirchner, L.; Hausen, T.H.; Turek, L.P. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 91, :62-9, 2001.

Sugiyama, M.; Bhawal, U.K.; Dohmen, T.; Dohmen, T.; Ono, S.; Miyauchi, M. et al. Detection of human papillomavirus-16 and HPV-18 in normal, dysplastic, and malignant oral epithelium. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 95, p. 594-600, 2003.

Syrjanen, S.L.G.; Von Bultzingslowen, I.; Aliko, A.; Arduino, P.; Campisi, G.; Challacombe, S. et al. Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. **Oral Diseases**, v. 17, (Suppl.1), p. 58-72, 2011.

Scully, C. Oral squamous cell carcinoma: from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. **Oral Oncol**, v. 38, p. 227-34, 2002.

Terai, M.; Takagi, M. Human papillomavirus in oral cavity. **Oral Med Pathol**, v. 6, p. 1-12, 2001.

Terai, M.; Takagi, M.; Matsukura, T.; Sata, T. Oral wart associated with human papillomavirus type 2. **J Oral Pathol Med**, v. 28, p. 137-40, 1999.

Tinoco, J.A.; Silva, A.F.; Oliveira, C.A.B.; Rapoport, A.; Fava, A.S.; Souza, R.P. Correlação da infecção viral pelo papilomavirus humano com as lesões papilomatosas e o carcinoma epidermóide na boca e orofaringe. *Rev Assoc Med Bras*. 2004; 50:252-6.

Trottier, H.F.E. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. **Vaccine**, v. 24, n.1, p. 15, 2006.

Tota, J.E., Chevarie-Davis, M.; Richardson, L.A.; Devries, M.; Franco, E.L. Epidemiology and burden of HPV infection and related diseases: implications for prevention strategies. **Preventive Medicine**, v. 53, n. 1, p. 12-21, 2011.

VENUTI, A.; PAOLINI, F. HPV detection methods in head and neck câncer. **Head and Neck Pathology**, v. 6, n. 1, p. 63-74, 2012.

Vidal, F.C.B.; Nascimento, M.D.S.B.; Ferraro, C.T.L.; Brito, L.M.O. Análise crítica dos métodos moleculares para detecção do papilomavírus humano: revisão da literatura. **FEMINA**, v. 40, n. 5, 2012.

Vicente, J.C.H.Z.; Sebastián, L.A.J. Expression of cyclin D1 and Ki-67 in squamous cell carcinoma of the oral cavity: clinicopathological and prognostic significance. **Oral Oncology**, v. 38, n. 3, p. 301-8, 2002.

Vidotti, L.R. **Detecção de DNA-HPV na mucosa oral e sua associação com DNA-HPV genital**. [dissertação]. São Luis. Universidade Federal do Maranhão; 2012.

WESTRA, W. H. Detection of human papillomavirus (HPV) in clinical samples: Evolving methods and strategies for the accurate determination of HPV status of head and neck carcinomas. **Oral Oncology**, v. 50, n. 9, p. 771-9, 2014.

Walboomers, J.M.; Jacobs, M.V.; Manos, M.M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **J Pathol**, v. 189, p. 12-9, 1999.

Yakin, M.; Gavidí, R.O.; Cox, B.; Rich, A. Oral cancer risk factors in New Zealand. **NZ Med J**, v.3, n. 130, p. 30-38, 2017.

Xavier, S.D. et al. Prevalência de achados sugestivos de papilomavírus humano (HPV) em biópsias de carcinoma espinocelular de cavidade oral e orofaringe: estudo preliminar. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v.71, n.4, p.510-4, 2005.

Zhang, Z.Y.; Sdek, P.; Cao, J.; Chen, W.T. Human papillomavirus type 16 and 18 in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 33, p. 71-4, 2004.

Zaravino, S.A.; Mamma, S.I.N.; Sourvinos, G.; Spandidos, D.A. Molecular detection methods of human papillomavirus (HPV). **The IntJournal of Biological Markers**, v. 24, n. 4, p. 215-22, 2009.

Hausen, H.Z. Viruses in human tumors – reminiscences and perspectives. **AdvCancer Res**, v. 68, p. 1-22, 1996.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estudo: Infecção pelo HPV em pacientes com ou sem prótese total dentária

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado, com o objetivo de melhorar o diagnóstico e tratamento das lesões bucais. Os dados fornecidos por você para este estudo, bem como os resultados de seus exames, serão sigilosos e protegidos, sendo utilizados apenas para fins de pesquisa jamais associados a sua identidade. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Eu, _____ (somente as iniciais), abaixo assinado (a) concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário(a) do estudo **Infecção pelo HPV em pacientes com ou sem prótese total dentária**. Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas.

Estou ciente que:

1. O estudo se faz necessário para que se possa melhorar o diagnóstico da infecção por Papilomavírus humano, bem como prevenir de forma mais eficaz o câncer de boca;
2. Após meu consentimento será realizada uma coleta por descamação com uma pequena escova, de regiões pré-estabelecidas da cavidade oral, mucosa bucal direita (posição de alto a baixo), mucosa bucal esquerda (posição de alto a baixo), lado direito, face dorsal e lado esquerda a 4°C até o momento da extração, sendo estes métodos forma padrão de coleta para análise deste tipo de amostra, totalmente seguros e necessários para o diagnóstico e tratamento, não oferecendo nenhum risco e com o mínimo de desconforto possível;
3. A participação neste projeto não me acarretará qualquer ônus pecuniário com relação aos procedimentos médico-clínico-terapêuticos efetuados, e estou ciente que não receberei nenhuma forma de pagamento pela minha participação neste estudo;
4. Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;
5. Estou ciente que caso eu não consinta a utilização da amostra para estudos futuros, a mesma será descartada de forma adequada.
6. A desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico. Não virá interferir no atendimento ou tratamento médico;
7. Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo absoluto, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados;
8. Caso eu desejar, poderei pessoalmente tomar conhecimento dos resultados, ao final desta pesquisa;
9. O benefício por mim recebido se resumirá na obtenção de diagnóstico preciso de minha lesão, resultando em tratamento mais adequado;
10. Caso tenha alguma dúvida ou reclamação posso entrar diretamente em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo telefone: 3345-7187.
11. Concordo que a amostra obtida seja utilizada em futuros estudos.

(OBS: Caso concorde em participar do estudo proposto, por favor rubrique a primeira página deste termo de consentimento livre e esclarecido)

() Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

() Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

Paciente (Rubrica): _____

Testemunha 1: _____

Testemunha 2: _____

Responsável pelo Projeto
Alessandra Cardoso da S. Nascimento
Cirurgiã-Dentista, especialista e Mestre em Prótese dentária

Laboratório de Imunologia da UFMS DPA/CCBS: (67) 33457388

Campo Grande, _____ **de** _____ **de** _____.

APÊNDICE B

QUESTIONÁRIO SOCIOEPIDEMIOLÓGICO

Projeto: Infecção pelo HPV em pacientes com ou sem prótese total dentária

1. Data: ____/____/____ Número do registro: _____

2. Idade: _____

3. Raça: (____) Branca(____) Preta (____) Parda (____) Amarela (____) Indígena

4. Qual seu estado civil?
(____) solteiro(____) casado/com companheira (____) viúvo (____) separado

5. Nível de Escolaridade
(____) Nunca freqüentou a escola(____) Fundamental incompleto (____) Fundamental completo
(____) Nível médio incompleto (____) Nível médio completo (____) Ensino Superior Completo
(____) Ensino Superior Incompleto (____) Pós Graduação

6. Idade da primeira relação sexual: _____

7. Número de parceiras nos últimos dois anos: _____

8. Número aproximado de parceiras desde a primeira relação sexual: _____

9. Faz uso de preservativo (camisinha)?
(____) Não (____) Sim (____) Às vezes

10. Faz sexo oral?
(____) Não (____) Sim (____) Às vezes

11. Faz uso de drogas?
(____) Não (____) Sim Qual: _____

12. Relato de Doença Sexualmente Transmissível (DST)
(____) Não (____) Sim Qual: _____

13. Faz uso do tabaco (cigarro, cachimbo, fumo)?
(____) Não (____) Sim (____) Às vezes
Há quanto tempo? (____) 6 meses ou menos (____) 1 a 2 anos (____) 3 a 5 anos (____) + de 5 anos

14. Ingestão de Álcool?
(____) Não (____) Sim (____) Às vezes

Com que frequência? (___) diária(___) 3 vezes por semana (___) 2 ou menos vezes por semana
Qual a bebida? (___) cerveja(___) cachaças, destilados, uísque

15. Faz uso de algum medicamento controlado?

(___) Não (___) Sim Qual:_____

APENDÍCE C

TABELAS DE ESTATÍSTICAS E ANÁLISE DE REGRESSÃO LOGÍSTICA BINÁRIA

| | B | S.E. | Wald | df | Sig. | Exp(B) | 95% C.I. for EXP(B) | |
|-----------------------------|--------|------|-------|----|------|--------|---------------------|-------|
| | | | | | | | Lower | Upper |
| Step 1 ^a protese | ,733 | ,541 | 1,840 | 1 | ,175 | 2,082 | ,722 | 6,007 |
| sexoral | -1,233 | ,639 | 3,724 | 1 | ,054 | ,291 | ,083 | 1,019 |
| Constant | -,887 | ,426 | 4,347 | 1 | ,037 | ,412 | | |

a. Variable(s) entered on step 1: protese, sexoral.

| | | | protese | | Total |
|-------|---|--------------|---------|-------|--------|
| | | | 0 | 1 | |
| HPV | 0 | Count | 42 | 18 | 60 |
| | | % within HPV | 70,0% | 30,0% | 100,0% |
| | | % of Total | 50,6% | 21,7% | 72,3% |
| | 1 | Count | 10 | 13 | 23 |
| | | % within HPV | 43,5% | 56,5% | 100,0% |
| | | % of Total | 12,0% | 15,7% | 27,7% |
| Total | | Count | 52 | 31 | 83 |
| | | % within HPV | 62,7% | 37,3% | 100,0% |
| | | % of Total | 62,7% | 37,3% | 100,0% |

| Crosstab | | | | | |
|-----------------|--------------|--------------|---------|--------|--------|
| | | | sexoral | | Total |
| | | | 0 | 1 | |
| HPV | 0 | Count | 31 | 29 | 60 |
| | | % within HPV | 51,7% | 48,3% | 100,0% |
| | | % of Total | 37,3% | 34,9% | 72,3% |
| | 1 | Count | 19 | 4 | 23 |
| | | % within HPV | 82,6% | 17,4% | 100,0% |
| | | % of Total | 22,9% | 4,8% | 27,7% |
| Total | Count | 50 | 33 | 83 | |
| | % within HPV | 60,2% | 39,8% | 100,0% | |
| | % of Total | 60,2% | 39,8% | 100,0% | |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 4,998 ^a | 1 | ,025 | | |
| Continuity Correction ^b | 3,929 | 1 | ,047 | | |
| Likelihood Ratio | 4,895 | 1 | ,027 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | ,041 | ,025 |
| Linear-by-Linear Association | 4,938 | 1 | ,026 | | |
| N of Valid Cases | 83 | | | | |

a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8,59.

b. Computed only for a 2x2 table

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|------------------------------------|--------------------|----|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Pearson Chi-Square | 6,646 ^a | 1 | ,010 | | |
| Continuity Correction ^b | 5,417 | 1 | ,020 | | |
| Likelihood Ratio | 7,191 | 1 | ,007 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | ,012 | ,008 |
| Linear-by-Linear Association | 6,566 | 1 | ,010 | | |
| N of Valid Cases | 83 | | | | |

a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,14.

b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

| | | Value | Approx. Sig. |
|--------------------|------------|-------|--------------|
| Nominal by Nominal | Phi | ,245 | ,025 |
| | Cramer's V | ,245 | ,025 |
| N of Valid Cases | | 83 | |

- a. Not assuming the null hypothesis.
- b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

Symmetric Measures

| | | Value | Approx. Sig. |
|--------------------|------------|-------|--------------|
| Nominal by Nominal | Phi | -,283 | ,010 |
| | Cramer's V | ,283 | ,010 |
| N of Valid Cases | | 83 | |

- a. Not assuming the null hypothesis.
- b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

ANEXO A

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Infecção pelo Papilomavirus Humano em pacientes com ou sem prótese dentária

Pesquisador: ALESSANDRA CARDOSO DA SILVA NASCIMENTO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 36389814.2.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: FUND. DE APOIO E DE DESENV. DO ENSINO, CIENCIA E TECN. DO ESTADO DO MS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 855.390

Data da Relatoria: 30/09/2014

Apresentação do Projeto:

Infecção pelo Papilomavirus Humano em pacientes com ou sem prótese dentária

O presente trabalho pretende detectar em pacientes com ou sem prótese total a presença do HPV, determinar os tipos virais encontrados, associar com os aspectos clínicos e socioepidemiológicos. As amostras serão coletadas no Ambulatório de Doenças Buciais da Faculdade de Odontologia (FAODO) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Serão coletados dados primários dos participantes da pesquisa, utilizando um conjunto de perguntas fechadas emistas, totalmente estruturado em um modelo de questionário adaptado. Posteriormente será realizada pelo Odontólogo membro da equipe do projeto a anamnese completa observando-se o protocolo e exame clínico intrabucal durante o qual o indivíduo será considerado portador de próteses se esta estiver sendo usada no momento do exame. O exame clínico da mucosa será realizado de forma abrangente e sistêmica, e utilizando a seguinte seqüência: mucosa labial e sulco superior e inferior; área labial das comissuras e mucosa jugal; língua (superfícies dorsal e ventral e seus bordos); e por fim assoalho da boca, palato duro e mole, margens alveolares e gengiva. Os dados serão anotados em uma ficha clínica, desenvolvida especificamente para a pesquisa. Os materiais coletados serão analisados e processados no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, do Centro de Ciências Biológicas e

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 **CEP:** 79.070-110
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** biotica@propp.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Continuação do Parecer: 855.390

da Saúde – CCBSUFMS.

Objetivo da Pesquisa:

Detectar a infecção pelo HPV em pacientes com ou sem prótese total.

Detectar a presença do DNA de HPV em pacientes que utilizam prótese total; Detectar a presença do DNA de HPV em pacientes que não fazem uso de prótese dental; Determinar os tipos virais encontrados nas amostras HPV positivas; Associar a presença do DNA de HPV e os tipos virais encontrados aos aspectos clínicos; Relacionar a presença do DNA de HPV e os tipos virais encontrados aos parâmetros socioepidemiológicos analisados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos não comprometem a realização da pesquisa

Benefícios . Estabelecer uma correlação entre uso de próteses dentárias e a infecção pelo HPV se faz necessária, pois a prevenção contínua e o diagnóstico precoce pode ser a melhor forma de reduzir o número de casos incidentes, assim com o auxílio de profissionais tanto da área médica como odontológica podem auxiliar a população para aprimorar-se na prevenção e obter o melhor tratamento quando necessário

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa é de relevância para a sociedade e comunidade médica e odontológica

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória estão presentes

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110
UF: MS Município: CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7167 Fax: (67)3345-7167 E-mail: biotica@propp.ufms.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



Continuação do Parecer: 855.390

CAMPO GRANDE, 03 de Novembro de 2014

Assinado por:
Edilson dos Reis
(Coordenador)

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110
UF: MS Município: CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 Fax: (67)3345-7187 E-mail: bioetica@propp.ufms.br

ANEXO B

AUTORIZAÇÃO PARA COLETA DAS AMOSTRAS NA FAODO



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que autorizo a coleta de amostras da cavidade oral dos pacientes voluntários atendidos nas clínicas da Faculdade de Odontologia, com a finalidade de participar do projeto de pesquisa **“Infecção pelo Papilomavírus humano em pacientes com ou sem prótese total dentária, na cidade de Campo Grande – Mato Grosso do Sul”**, desenvolvido pela doutoranda **Alessandra Cardoso da Silva Nascimento** do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Campo Grande, 14 de agosto de 2014.


Paulo Zarate Pereira
Diretor da Faodo

Faculdade de Odontologia
Cidade Universitária, s/n Caixa Postal 549 Fone: (67) 3345-7681
CEP 79070-900 Campo Grande (MS)