

O teste de HPV: presente e futuro

Pedro Vieira-Baptista¹, Carlos Sousa², Conceição Saldanha³

¹ Especialista em Ginecologia e Obstetrícia, Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Centro Hospitalar de São João, Porto

² Especialista em Microbiologia, LAP - Laboratório de Anatomia Patológica, Unilabs, Porto

³ Especialista em Anatomia Patológica, LAP - Laboratório de Anatomia Patológica, Unilabs, Porto

A citologia cervical ou teste de Papanicolaou ficará nos anais da história pelo seu impacto na diminuição do cancro do colo, especialmente nos países ou regiões onde foi implementado um rastreio organizado. Contudo, com a descoberta de que o vírus do papiloma humano (HPV) é condição *sine qua non* para o surgimento da esmagadora maioria destas neoplasias e suas lesões precursoras^{1,2}, o curso da história, naturalmente, adaptou-se.

Paralelamente a este conhecimento, a biologia molecular cresceu a largos passos e rapidamente se passou à investigação de vacinas (profiláticas e terapêuticas) e de testes de rastreio para a presença de infecção pelo HPV.

Em termos de rastreio, rapidamente se percebeu que a sensibilidade dos testes de HPV (pesquisa de vírus de risco alto ou intermédio) superava a da citologia, ainda que à custa de uma discreta diminuição da especificidade³ (alguns dos testes positivos, representam infecções transitórias e não verdadeira “doença” cervical).

Várias têm sido as modalidades de rastreio propostas, desde o advento destes testes^{4,5}:

1) Citologia em primeira linha e teste de HPV reflexo (na triagem dos ASC-US)

Neste caso, todas as alterações superiores ou iguais a LSIL têm indicação para colposcopia. Os ASC-US são triados com teste de HPV e, se positivo (independentemente do genótipo), são igualmente orientados para colposcopia; se negativo, repete o rastreio três anos depois. É lícito usar o teste de HPV na triagem das citologias LSIL, em mulheres acima dos 35-40⁶ e, especialmente, nas menopáusicas (quanto mais nova a mulher, maior a probabilidade de que o teste seja positivo, diminuindo assim o seu interesse). Esta estratégia, obriga a que a citologia seja colhida em meio líquido – caso contrário, seria necessário convocar novamente a mulher para nova colheita. De salientar que, em termos de resultados, a citologia convencional é sobreponível à realizada em meio líquido⁷.

2) Co-teste (citologia e teste de HPV concomitantemente)

Diferentemente do caso anterior, aqui pode surgir uma outra situação: citologia normal e teste de HPV positivo. Se usados testes em que seja realizada genotipagem para o HPV16 e 18 (ex. cobas[®] HPV, Roche; Aptima[®] HPV, GenProbe; GeneXpert[®] HPV, Cepheid; RealTime High Risk HPV[®], Abbot Molecular), nos casos em que haja positividade para pelo menos um destes genótipos, a indicação é de realização de colposcopia. Nos restantes, os testes deverão ser repetidos ao fim de um ano e, se algum deles alterado, realizada colposcopia. Podem igualmente ser aplicadas as opções discutidas no ponto seguinte.

O ligeiro ganho de sensibilidade decorrente da adição dos dois testes parece não justificar o aumento dos custos em termos de rastreio organizado⁸.

3) Teste de HPV em primeira linha (com triagem dos positivos por genotipagem do 16 e 18, citologia, marcadores de metilação, p16/Ki67, etc.) Apresenta-se como o futuro, contudo, impõe-se que haja triagem dos testes positivos, para redução da referência para colposcopia e para evitar subsequentes procedimentos desnecessários e potencialmente danosos. A utilização de testes com genotipagem parcial (HPV16 e 18) poderá ser preferencial. Alternativamente, no caso de testes que não façam esta distinção ou para os casos em que haja positividade para os “outros” HPVs de alto risco, pode recorrer-se à citologia – eventualmente com recurso a p16/Ki67 (CINTec Plus[®], Roche) ou aos marcadores de metilação. O teste a aplicar em segunda linha deverá ser de especificidade elevada.

Estas orientações baseiam-se no conceito de estratificação do risco: mulheres com o mesmo risco, devem ter a mesma orientação, independentemente dos testes que realizaram (por exemplo, o risco de uma mulher com citologia LSIL com teste de HPV negativo é semelhante ao de uma com citologia NILM e um teste de HPV positivo para HPV de alto risco que não o 16 ou o 18 – daí que devam ter a mesma orientação: repetir o(s) teste(s) aos 12 meses. Assim, a partir de dados do *Kaiser Permanent Northern California Medical Care Plan* e de acordo com o risco de desenvolvimento de lesão de CIN3+ aos cinco anos, preconiza-se^{4,9}:

- Risco superior a 5%: colposcopia;
- Risco de 2-5%: reavaliação em 6-12 meses;
- Risco de 0,1-2%: reavaliação aos 3 anos;
- Risco inferior a 0,1%: co-teste aos 5 anos.

De notar que as indicações anteriores podem ser diferentes no caso de mulheres grávidas e/ou com menos de 25 anos. Nas mulheres mais jovens, a prevalência de infecção é elevada, bem como a de lesões de CIN. No entanto, a maior parte das infecções é transitória e muitas das lesões (mesmo de alto grau) têm grande potencial de regressão. Por estes motivos, e pelo impacto dos tratamentos no futuro obstétrico, o rastreio está contra-indicado abaixo dos 21 anos (excepto em mulheres imunodeprimidas) e até aos 25 anos deve ser especialmente conservador.

Os testes de HPV têm papel muito limitado abaixo dessa idade (a taxa de positividade diminui substancialmente acima dos 30 anos) e, por norma, devem ser desaconselhados.

Relativamente aos intervalos de rastreio, em caso de negatividade, é consensual que os testes de HPV não devem ser usados com intervalos de menos de três anos. Em contexto de rastreio organizado, os cinco anos parecem ter uma boa relação em termos de custo-benefício (sendo a tendência, inclusivamente, a que este intervalo venha a ser alargado¹⁰). Todavia, e especialmente em termos de cuidados individuais, parece haver algum benefício na utilização dos mesmos com intervalos de três anos - o teste de HPV isolado a cada três anos pode evitar mais doença invasiva do que o co-teste com intervalos de cinco^{11,12}.

Os testes de HPV têm igualmente vindo a assumir um papel de grande relevo no seguimento após conização¹³ (havendo inclusivamente estudos a defender que um teste negativo aos seis meses após conização possa, eventualmente, ser considerado um “teste de cura”¹⁴) e, no seguimento após colposcopia.

Na prática clínica os testes de genotipagem total têm reduzido interesse, especialmente, pela sua mais baixa especificidade, devendo ser reservados para estudos epidemiológicos¹⁵. Estão actualmente disponíveis centenas de testes no mercado, apesar de a maior parte destes não estar validada clinicamente. O teste de Hybride Capture[®] II, da Quiagen, continua a ser o teste de referência para a validação¹⁶.

Adicionalmente, há que ter em atenção qual o meio líquido que se está a utilizar; têm surgido novos meios no mercado, contudo, a taxa de degradação dos ácidos nucleicos, nestes, é desconhecida, bem como a compatibilidade com as técnicas de biologia molecular e os limiares analíticos aos quais correspondem o melhor compromisso entre a sensibilidade e a especificidade clínicas. O clínico deve conhecer bem o teste com que trabalha, nomeadamente saber se este tem controlo interno da amostra ou não (detecção simultânea do gene da beta-globina, por exemplo): no caso de testes sem este mecanismo, um resultado que deveria ser inválido (ausência de células, por exemplo), vai ser considerado como negativo.

O impacto das vacinas profiláticas na redução do número de lesões pré-invasoras levará décadas a atingir o nadir, contudo, o rastreio de mulheres vacinadas na adolescência está a iniciar-se; sendo expectável um número muito menor de lesões neste grupo de mulheres, o valor preditivo positivo da citologia vai diminuir¹⁷. Os testes de HPV afiguram-se como uma melhor escolha: a sua maior sensibilidade, associada a uma previsível diminuição do número de infecções, colocam-nos em clara vantagem em relação à citologia. Um dos grandes desafios do rastreio passará também pela coexistência de uma coorte de mulheres vacinadas e não vacinadas, sendo que esta última só abandonará o rastreio dentro de três a quatro décadas.

Os testes de HPV poderão ser a forma de levar o rastreio às mulheres que não o procuram ou, até, que o evitam: a auto-colheita pode ser uma opção neste grupo. Tratando-se de testes moleculares e não implicando obrigatoriamente a colheita directa de células da zona de transformação, os resultados da auto-colheita têm sido sobreponíveis aos de colheitas efectuadas por profissionais de saúde¹⁸.

Vivemos dias apaixonantes no combate a este, que ainda é, um grande problema dos nossos dias, especialmente nos países subdesenvolvidos. A conjugação VIH/SIDA e HPV tem efeitos devastadores sobre as mulheres da África subsariana, onde o rastreio dificilmente chegará de forma eficaz: resta a vacinação massiva. A nossa realidade, ainda que na cauda da Europa, é uma sombra do que se vive na maior parte do hemisfério sul. O sucesso do rastreio organizado, no centro do país, contrasta com o que se passa nas outras regiões. Parece ser o momento certo para pegar neste exemplo e

adaptá-lo ao resto do país. Se somos líderes na vacinação, porque não o conseguimos (todos) ser no rastreio?

Resta a dúvida se a citologia cervical vai sobreviver – da forma actual ou com a “modernização” molecular (p16/Ki67)... Sobreviverá como um teste de segunda linha, de triagem?

Será necessária muita educação e sensibilização, não só junto das mulheres, mas também dos profissionais de saúde. Existirão sempre “velhos do Restelo” a não querer ver a partida do Papanicolaou, mas o inevitável concretizar-se-á – contudo, lembrá-lo-emos como um teste que salvou milhões de mulheres!

1. Walboomers JM, Jacobs M V, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189(1):12–9. doi:10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F.
2. Zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1977;78:1–30.
3. Mayrand M-H, Duarte-Franco E, Rodrigues I, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med.* 2007;357(16):1579–88. doi:10.1056/NEJMoa071430.
4. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2013;17(5 Suppl 1):S1–S27. doi:10.1097/LGT.0b013e318287d329.
5. *Consenso sobre infecção por HPV e neoplasia intraepitelial do colo vulva e vagina.* Sociedade Portuguesa de Ginecologia; 2014.
6. Ronco G, Cuzick J, Segnan N, et al. HPV triage for low grade (L-SIL) cytology is appropriate for women over 35 in mass cervical cancer screening using liquid based cytology. *Eur J Cancer.* 2007;43(3):476–80. doi:10.1016/j.ejca.2006.11.013.
7. Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2008;111(1):167–77. doi:10.1097/01.AOG.0000296488.85807.b3.
8. Naucler P, Ryd W, Törnberg S, et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101(2):88–99. doi:10.1093/jnci/djn444.

9. Vieira-Baptista P, Sousa C, Saldanha C, Fonseca-Moutinho JA. Consenso da ASCCP 2012 – o que traz de novo e implicações para o dia-a-dia. *Acta Obs Ginecol Port.* 2013;7(4):241–248.
10. Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *BMJ.* 2008;337:a1754.
11. Gage JC, Schiffman M, Katki HA, et al. Reassurance against future risk of precancer and cancer conferred by a negative human papillomavirus test. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(8). doi:10.1093/jnci/dju153.
12. Kim JJ. Practice-based evidence for primary HPV testing in the United States. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(8). doi:10.1093/jnci/dju213.
13. Ribaldone R, Boldorini R, Capuano A, Arrigoni S, Di Oto A, Surico N. Role of HPV testing in the follow-up of women treated for cervical dysplasia. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;282(2):193–7. doi:10.1007/s00404-009-1316-5.
14. Cubie HA, Canham M, Moore C, Pedraza J, Graham C, Cuschieri K. Evaluation of commercial HPV assays in the context of post-treatment follow-up: Scottish Test of Cure Study (STOCS-H). *J Clin Pathol.* 2014;67(6):458–63. doi:10.1136/jclinpath-2013-202014.
15. Rebolj M, Lynge E, Bonde J. Human papillomavirus testing and genotyping in cervical screening. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2011;11(7):1023–31. doi:10.1586/era.11.84.
16. Meijer CJLM, Berkhof J, Castle PE, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer.* 2009;124(3):516–20. doi:10.1002/ijc.24010.
17. Mayrand M-H, Franco EL. Integrating novel primary- and secondary-prevention strategies: the next challenge for cervical cancer control. *Future Oncol.* 2010;6(11):1725–33. doi:10.2217/fon.10.141.
18. Arbyn M, Castle PE. Offering self-sampling kits for HPV testing to reach women who do not attend in the regular cervical cancer screening program. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2015. doi:10.1158/1055-9965.EPI-14-1417.