

PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV): UMA REVISÃO DE SEUS ASPECTOS DIAGNÓSTICOS NA UTILIZAÇÃO DE BIOSSENSORES E SUAS PROFILAXIAS

Jacyanne Barros Dias¹, Tassya Sâmella Ferst de Sousa¹, Heliane Sousa da Silva²

RESUMO

Introdução: Os métodos diagnósticos são infinitos para uma variedade de doenças, especialmente àquelas que apresentam mutações em células somáticas, como exemplo, as causadas pelo Papilomavírus Humano (HPV), acometendo tanto homens como mulheres com infecções múltiplas nos genitais. **Objetivo:** evidenciar a utilização de biossensores associados ao Papanicolau para o diagnóstico do HPV. **Metodologia:** de cunho, descrito, exploratório, qualitativo e documental. Baseados em artigos científicos, documentos, livros, dissertações de mestrado e teses de doutorado. **Discussão Teórica:** As lesões que acometem o colo uterino, para surgimento do câncer invasivo tende a progredirem lentamente em NIC I, NICII e NIC III. Do ponto de vista clínico, o biossensor combina biomoléculas, imobilizada de ácido nucleicos a um transdutor para que ocorra a medição quantitativa e qualitativa do analito específico do DNA do vírus. Sua aplicabilidade está no controle ambiental, fiscalização de substâncias, dosagens bioquímicas e etc. Os biossensores podem ser classificados de acordo com o elemento de reconhecimento biológico, imobilizados na superfície do eletrodo, podendo ser biossensores enzimáticos, microbiológicos, imunossensores e genossensores. As estratégias de prevenção baseiam-se, no uso de vacinas, preventivos, realização de exames preventivos e o biossensor considerado padrão ouro para o diagnóstico HPV. **Considerações Finais:** O biossensor associado ao exame citológico (Papanicolau) permitirá um diagnóstico mais seguro, eficaz, com alta seletividade, sensibilidade, rapidez, linearidade do sinal, portátil, aplicados nos laboratório, consultórios médicos e facilitando o transporte para unidades distantes, onde acesso à saúde é restrito, considerando que o índice de infestação hoje existente no Brasil é preocupante.

Palavras chaves: Biossensor. Diagnóstico. Papilomavírus Humano (HPV).

HUMAN PAPILOMAVIRUS (HPV): A REVIEW OF ITS DIAGNOSTIC ASPECTS IN THE USE OF BIOSSENSORS AND THEIR PROFILAXIES

ABSTRACT

Diagnostic methods are endless for a variety of diseases, especially those that have somatic cell mutations, such as those caused by the Human Papillomavirus (HPV), affecting both men and women with multiple genital infections. Objective: To highlight the use of Papanicolau-associated biosensors for the diagnosis of HPV. Methodology: Outlined, described, exploratory, qualitative and documents. Based on scientific articles, documents, books, master's dissertations and doctoral theses. Theoretical Discussion: Lesions that affect the cervix for the onset of invasive cancer

¹ Acadêmicas do curso de Bacharel em Biomedicina do Instituto Educacional Santa Catarina - Faculdade Guaraí (IESC/FAG). Guaraí, Tocantins. E-mail: jacyannne@gmail.com

² Professora Doutora em Química, Instituto Educacional Santa Catarina - Faculdade Guaraí. Guaraí, Tocantins. E-mail: heliane.silva@iescfag.edu.br

tend to progress slowly in CIN I, CIN II and CIN III. Clinically, the biosensor combines immobilized biomolecules of nucleic acid to a transducer for quantitative and qualitative measurement of virus-specific analyte. Its applicability is in environmental control, substance inspection, biochemical dosages and etc. Biosensors can be classified according to the biological recognition element, immobilized on the electrode surface and can be enzymatic, immunosensor and genosensor biosensors. Prevention strategies are based on the use of vaccines, preventives, preventive tests and the biosensor considered the gold standard for HPV diagnosis. Final Considerations: The biosensor associated with the cytological examination (Papanicolaou) will allow a safer, more efficient diagnosis, with high selectivity, sensitivity, speed, linearity of the signal, portable, applied in the laboratory, doctor's offices and facilitating transport to distant units, where access. health is restricted, considering that the infestation rate currently existing in Brazil is worrying.

Keywords: Biosensor, diagnosis and Human Papillomavirus (HPV).

INTRODUÇÃO

Uma das características inerentes ao ser humano é a busca constante por tecnologias mais avançadas para o diagnóstico preciso, como a utilização de biossensores, tornando cada vez mais um instrumento laboratorial de grande definição no diagnóstico e prevenção de diversas doenças. Por outro lado, as profilaxias também são indispensáveis na saúde humana, como o uso de vacinas, preservativos e exames que fornecem medidas para atenuar e prevenir.

Os métodos diagnósticos são vastos utilizados para identificar uma grande variedade de doenças, especialmente aquelas que apresentam mutações em células somáticas, como por exemplo, as causadas pelo Papilomavírus Humano (HPV), acometendo tanto homens como mulheres com infecções múltiplas nos genitais, que como consequência, é um dos grandes responsáveis por ocorrências de cânceres¹.

Os HPVs fazem parte de uma grande família de vírus, denominada *papovaviridae*. Este vírus tem afinidade pelas epidermes e mucosas, onde são encontradas lesões na região em que o mesmo se instala, como por exemplo: na cavidade bucal, seios paranasais, laringe, uretra, mucosa traqueobrônquica, trato anogenital, esôfago, pênis, trato nasal, na conjuntiva dos olhos e pele, induzindo a formação de tumores benignos ou malignos².

As enfermidades causadas pelos HPVs de alto risco, e em especial o que contém o genótipo 16 é responsável por aproximadamente 99% dos casos de câncer cervical, sendo que, somente uma pequena parcela está relacionada aos cânceres de cabeça e pescoço, assim como, anal, vulvar, peniano e vaginal³.

Esse vírus trata-se de um epiteliotrófico, diminuto que mede em torno de 55 nm de diâmetro, possuindo uma estrutura proteica de formato icosaédrica. Este vírus é fundamentalmente composto por um capsídeo que contém 72 capsômeros, sendo que, esta estrutura não é revestida por um envelope lipoprotéico. O papilomavírus possui no interior de seu capsídeo uma única molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) circular, contendo em torno de 7200 a 8000 pares de bases nitrogenadas⁴.

A identificação da infecção por HPV ocorre pelo aparecimento de verrugas condilomatosas simples, se não tratadas, evolui para neoplasias cervicais (NIC), classificadas pelo sistema de Bethesda em intraepitelial escamosa (LIE) de baixo

grau; LIE de alto grau e carcinoma *in situ*. Este tipo de situação clínica pode ficar silenciado por anos, ou regredir espontaneamente, mas em alguns casos podem evoluir para o carcinoma invasivo⁵. Um dos métodos tradicionais para a identificação da mutação causada pelo HPV no tecido genital consiste no exame Papanicolau que se baseia na utilização do espéculo para a abertura do canal genital, possibilitando a visualização do colo. Com o auxílio da escova cervical, coletam-se as células da endocérvice em ângulo de 360°C e com espátula de Ayre, retira-se amostra da parede genital nas proximidades ectocérvice. As etapas consistem, efetua-se a fixação do material em lâmina, com coloração, análise ao microscópio e avaliação do conteúdo encontrado na amostra¹.

O exame Papanicolau de citologia oncológica, técnica que ajuda na avaliação e detecção de colócitos e outras alterações citológicas (disqueratose, papilomatose, hiperqueratose, acantose e paraqueratose), pode ser apenas um indicativo de lesões causadas pelo Papilomavírus. Mas de contrapartida, não se considera um método de diagnóstico fidedigno para HPV, pois este exame tem a habilidade de confirmar somente alterações, não podendo confirmar a presença do DNA do vírus³.

Tendo em vista, que os métodos citados anteriormente para o diagnóstico do HPV são muito invasivos, demanda de maior certo tempo de análise, de mão de obra especializada e ainda causam um certo desconforto e constrangimento à paciente, surge a seguinte pergunta norteadora do projeto: existe outro método de análise ou de diagnóstico para a detecção do HPV em pacientes que contornem as desvantagens apresentadas?

O presente trabalho apresenta um dos recursos de maior impacto no diagnóstico e prevenção de doenças que é a utilização de biossensores, que são dispositivos analíticos, que apresentam um elemento de reconhecimento biológico imobilizado na superfície de um eletrodo, acoplado a um sistema de transdução, amplificação e detecção do sinal do analito alvo⁶.

Os biossensores, do ponto de vista clínico, constituem uma importante interface de ferramenta entre a prática laboratorial, sobretudo no que diz respeito ao diagnóstico e o tratamento precoce de determinados tipos de câncer⁷. Além do mais, esses dispositivos analíticos fornecem resultados de forma rápida, precisa, são práticos, precisos, sensíveis, seletivos, são portáteis e passíveis de serem miniaturizados. Todas essas características do biossensor fazem com que a sua utilização para a identificação precoce do câncer do colo de útero seja extremamente promissor e de grande aplicabilidade na saúde, que associados ao exame citológico, buscam a otimização do tempo na entrega de laudos e até mesmo na eficácia do exame, maximizando as possibilidades de tratamento precoce, rastreabilidade da regressão e progressão da doença⁸.

Levando em consideração as informações citadas acima, esta atualização se faz necessária, pois constantemente, surgem novas técnicas para diagnósticos moleculares por meio de biossensores para diferentes tipos de mutações, possibilitando a identificação precoce da doença e possibilidades de tratamento e cura dos diferentes tipos de cânceres. Com relação às mutações causadas pelo (HPV), é de suma importância que este diagnóstico seja o mais rápido e o mais preciso possível, pois quanto mais precoce a sua detecção mais rápido será o tratamento, minimizando as possibilidades de evolução das lesões pré-cancerígenas. Desta forma, alguns autores explicam que os genossensores são tecnologias indispensáveis para diagnóstico médico e biomédico, pois exemplificam em ambas as situações a facilidade para detecção célere de agentes infecciosos à saúde humana³.

Desta forma, a presente pesquisa teve por objetivos evidenciar a utilização de biossensores associados ao Papanicolau para o diagnóstico do HPV. Para atingir esse propósito foram delimitados os seguintes objetivos específicos: discorrer a história da neoplasia uterina causada pelo vírus do HPV, descrever de forma geral a definição de biossensor, componentes, vantagens e tipos de classificações, bem como evidenciar técnicas de imobilização e principais pesquisas sobre o desenvolvimento de dispositivos analíticos para o diagnóstico do HPV e informar sobre a importância dos meios de prevenção como o uso de preservativos e vacinação.

METODOLOGIA

A presente pesquisa trata-se de uma ampla revisão da literatura, de cunho descritivo, exploratório, de natureza qualitativa e documental a respeito da importância dos biossensores no diagnóstico do HPV.

Inicialmente, foi realizada uma análise dos artigos, em leitura flutuante em especial dos resumos, onde foi de extrema valia para tomar ciência do tema em cada pesquisa, e assim, foram escolhidos os mais compatíveis para fundamentar este trabalho, sendo excluídos artigos que fugiam da temática proposta ou que apresentassem data inferior ao ano de 2009.

As plataformas on-line utilizadas para a busca de dados foram: Scholar Google (Google acadêmico), Biblioteca física e online, Scientific Electronic Library Online (SCIELO), repositórios de Universidades, Bireme e sites governamentais brasileiros, utilizando como descritores os seguintes termos: câncer do colo de útero, biossensores, Papanicolau, vírus, genossensores, testes moleculares e Papilomavírus Humano. Em seguida, foram utilizadas as palavras correspondentes na língua inglesa.

Os artigos escolhidos foram organizados em uma matriz, distribuídos e analisados de acordo com os itens: ano de publicação, referenciais bibliográficos, autores, proposta de conclusões, metodologia da pesquisa e objetivos. Após a comparação e análise qualitativa dos mesmos, foi possível obter aportes teóricos para embasar o estudo de revisão.

REVISÃO DA LITERATURA

História da neoplasia uterina causada pelo vírus do HPV.

A historicidade do HPV iniciou-se em 1933, por pesquisadores Shope e Hurst que descobriram a presença do vírus em coelhas selvagem. Anos mais tarde, em 1994, Rous e Kidd verificaram que o vírus produzia o câncer de pele e observando que em alguns animais domésticos, como coelhos, mesmo após o pré-tratamento com alcatrão, havia o surgimento de tumores que se comportava de forma mais branda ou benigna. Nos experimentos em humanos identificou-se que havia uma associação com HPV e verrugas tanto cutânea como vulvares, estas últimas denominadas condilomas acuminados⁹.

A ocorrência da invasão do vírus dentro da célula do hospedeiro ocorre na camada profunda que são células menos diferenciadas do epitélio escamoso que ainda tem atividade mitótica, fenda essa que favorece a entrada do vírus. Partículas entram através da junção de proteínas presente no capsídeo com receptores específico na superfície da membrana celular¹⁰. Os receptores mais prevalentes na

superfície das membranas celulares e matriz extracelular (ME) são os proteoglicanos como heparan sulfato e as proteínas integrinas $\alpha 6 \beta 4$, visto que são moléculas que encaixam na molécula alvo de seu receptor no caso o vírus do HPV¹¹.

Minutos depois que o vírus do HPV invade a célula, o DNA é exposto e o capsídeo é perdido, favorecendo a multiplicação de genes virais na célula hospedeira. Dentro da célula o vírus pode interagir de duas formas: se juntando ao material genético da célula do hospedeiro ou ficando dentro do núcleo em forma circular apenas integrado ao genoma celular¹².

As lesões que acometem o colo uterino tendem a progredirem lentamente e os quadros dessas progressões se baseiam em níveis de anormalidades, como por exemplo as NIC I, que são lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau, a NIC II, displasia moderada recobrando até dois terços do epitélio e a NIC III, displasia grave ou lesões intraepiteliais escamosas de alto grau, cobrindo o terço superior do epitélio ou carcinoma *in situ*⁹.

Nos esfregaços vistos ao microscópio, essas células apresentam displasia incluindo maturação desordenada do epitélio, mitoses, pleomorfismos, disceratose coilocitos e binucleação¹³. Já foram catalogados molecularmente mais de 100 tipos de vírus associados ao HPV, destes, 40 são aptos a infectarem o trato genital inferior. Os sorotipos 16 e 18, de alto risco oncogênicos, representam o maior percentual de casos de lesões cervicais além desses outros sorotipos 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59 e 68, que são descritos na literatura. Normalmente são encontrados em cânceres de vagina, ânus, colo uterino, pênis e vulva¹⁴.

Outro ponto importante associados ao câncer cervical são os que apresentam baixo risco (não oncogênicos), que causam o aparecimento de verrugas vaginais e lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (sorotipos 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 8). Normalmente esses sorotipos não são encontrados nos tumores. Porém as lesões no colo uterino, em geral, podem progredir, regredir e persistir para forma de câncer cervical invasivo¹⁵.

De forma geral a definição de biossensor, componentes, vantagens e tipos de classificações.

Os biossensores têm sido utilizados no diagnóstico de várias enfermidades abrangendo a detecção *in situ* de vários agentes patológicos^{16,17}, uma vez que, oferece subsídios para um rápido diagnóstico com custos-benefícios vantajosos baseado nas medidas analíticas que obedeça aos padrões ou regras estabelecidas para monitorar substâncias de interesse na demanda do diagnóstico clínico^{18,19}.

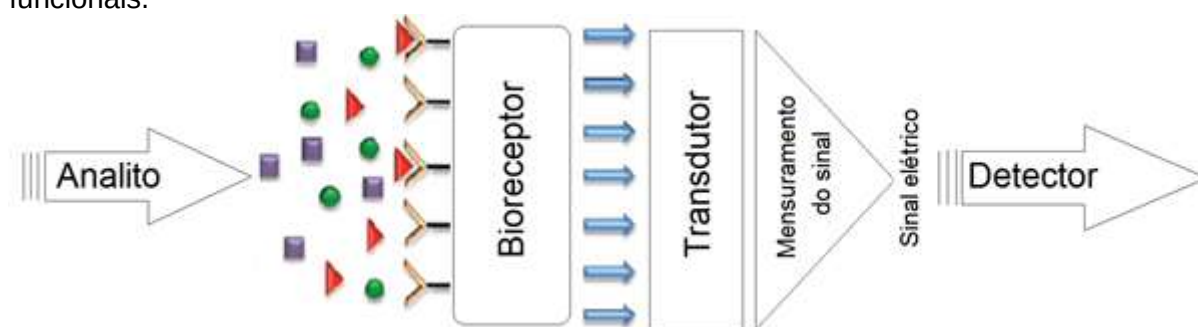
Esses aparelhos miniaturizados podem ser utilizados como método de análise qualitativa, onde detecta a presença ou não do analito alvo, ou como método de análise quantitativa, no qual vai determinar a concentração do analito de interesse presente numa amostra. Do ponto de vista clínico, esses dispositivos constituem uma importante interface de ferramenta entre a prática laboratorial, sobretudo no que diz respeito ao diagnóstico e ao tratamento precoce por efetuarem a detecção do analito em concentrações baixíssimas, muito antes dos sintomas aparecerem nos indivíduos²⁰.

Desta forma, os biossensores podem ser definidos como dispositivos analíticos que convertem o sinal obtido de um evento de reconhecimento biológico em um sinal elétrico mensurável. Os componentes de um biossensor são: o biorreceptor, transdutor e detector. O biorreceptor é constituído por elemento químico ou biológico imobilizado na superfície do eletrodo que tem o compromisso

de detectar a amostra de interesse. O transdutor tem a função de transduzir o sinal biológico em outro tipo de sinal como por exemplo o sinal elétrico e o detector apresenta função de processar os sinais vindos de um transdutor que serão analisados e ampliados. O sinal gerado é proporcional à concentração do analito²¹.

A análise de um biossensor baseia-se em uma ligação entre afinidade do analito com a camada biorreceptora imobilizada na superfície do eletrodo, visto que essa afinidade específica resulta na resposta de alteração de uma ou mais propriedades físico-químicas, como por exemplo, alteração de massa, transferência de calor, transferência de elétrons, alteração de pH, íons específicos ou liberação de gases, que são avaliados pelo transdutor, em tempo real²⁰. A figura 1 mostra um esquema de um biossensor com os seus constituintes.

Figura 1. Configuração de um biossensor, mostrando a organização dos seus componentes funcionais.



Fonte: Oliveira, 2016.

Sabendo o vasto conhecimento dos biossensores e seu reconhecimento nos dias atuais, suas utilidades são vastas devido à sensibilidade, reprodutibilidade, tempo de resposta, seletividade e estabilidade. Eles podem ser aplicados em diversas áreas, como no controle ambiental, na fiscalização de substâncias de metais pesados, pesticidas e fenóis, diagnóstico clínico, abrangendo as dosagens bioquímicas, teste rápidos, teor de contágio de microrganismo, na indústria de alimento, em análises forenses, entre outros⁵.

Os biossensores podem ser classificados de acordo com o tipo de transdutor do sinal gerado por meio do evento de reconhecimento biológico entre sonda-alvo, no qual os principais tipos existentes são:

A) biossensor térmico: caracterizado por medir a mudança da temperatura provocadas por meio de reações exotérmicas catalisadas por enzimas^{22, 23}.

B) biossensor piezoelétrico: é caracterizado pela variação da frequência e pela variação da massa, devido ao aumento da massa do eletrodo através da interação da sonda com o analito alvo²⁴.

C) biossensor óptico: se baseia na fluorescência, comprimento de onda, fosforescência, absorção e índice de refração, permitindo a identificação do analito usando um ou mais atributos da radiação óptica^{22, 25}.

D) biossensor eletroquímico: caracterizado no processo de duração da biointeração entre o analito alvo e a biomolécula imobilizada, que ocorre através de reações químicas produzindo e consumindo elétrons ou íons²⁴.

Esses dispositivos analíticos também podem ser classificados quanto ao elemento de reconhecimento biológico, no qual são imobilizados na superfície do eletrodo ácidos nucleicos, anticorpos, antígenos e enzimas²⁴.

Os biossensores enzimáticos são embasados por reações catalisadas por enzimas que foram imobilizadas na superfície do eletrodo, sendo o mais prevalente

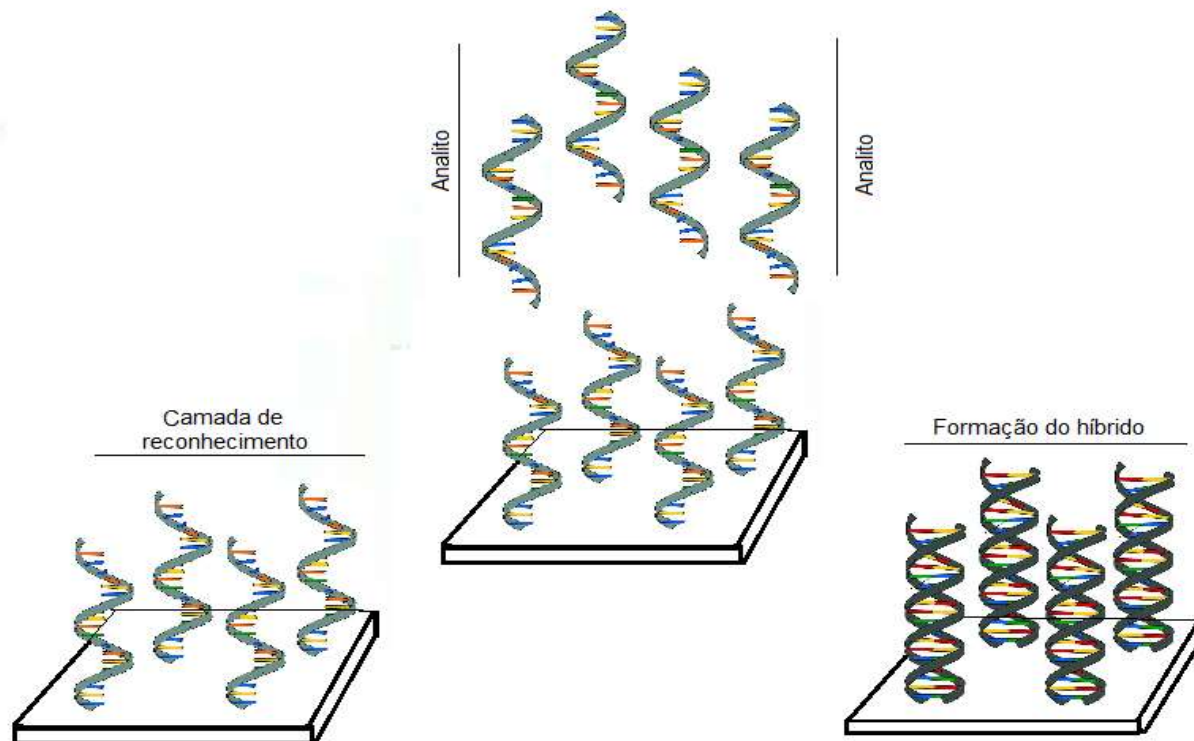
o glicosímetro, utilizado para aferição da glicose presente no sangue total, tendo como elemento de conhecimento a glicose oxidase ou a desidrogenase. A sua monitoração baseia-se no aparecimento de reagentes ou produto de reação que é emitido por um sinal que muda a concentração de prótons, como a liberação ou absorção de gases (NH_3 ou O_2), ou uma emissão refletância de luz ou absorção²⁷.

Os biossensores microbiológicos apresentam alta sensibilidade, estabilidade e viabilidade *in vitro* para detectar algas, leveduras e bactérias, pois, ocorre a imobilização de um microrganismo no eletrodo. Os microrganismos são considerados análogos possuindo enzimas coenzima/cofatores que são capazes de reconhecer o analito alvo através de produtos químicos. São largamente utilizados também na detecção de benzeno, tolueno, fenol e outros compostos²⁸.

Os imunossensores são sensíveis e seletivos tendo como potencial identificar níveis baixíssimos do analito alvo como drogas, vírus, hormônios, bactérias, marcadores tumorais e pesticidas. Contudo se baseia na resposta imunológica entre antígeno e anticorpo que são imobilizados na superfície do eletrodo²⁹.

Os genossensores são baseados no reconhecimento da fita simples de DNA imobilizada na superfície do eletrodo com a fita complementar do analito alvo presente na amostra. Esse processo de reconhecimento que ocorre o pareamento das bases nitrogenadas, numa dada temperatura, recebe o nome de hibridização^{30, 31}, tal fato é mostrado na figura 2.

Figura 2. Ilustração esquemática das etapas envolvidas do evento DNA hibridização do biossensor eletroquímico.



Fonte: Ferreira, 2014.

Em destaque no relatório disponível pela União Internacional de Química Pura e Aplicada- IUPAC (2010), é vasto os tipos de DNA utilizado como elementos no biorreconhecimento como moléculas de PNA, RNA, DNA e aptâmeros³⁰.

Ácidos nucleicos peptídicos (PNA) são ácidos nucleicos sintéticos, eficazes por serem mais estáveis em intervalos maiores de pH e temperatura. Possuem especificidade na detecção de mutações de ponto, como polimorfismos de nucleotídeo único, ocorrendo um mau acoplamento entre as bases únicas de PNA-DNA do híbrido³².

Os aptâmeros se mostram mais estáveis que o DNA e o RNA, por possuírem síntese e armazenamento mais resistentes à desnaturação, apresentam afinidade por ligantes e não são reconhecidos por íons e anticorpos, se mostrando mais preferíveis na utilização em biossensores³³.

Técnicas de imobilização e principais pesquisas sobre o desenvolvimento de dispositivos analíticos para o diagnóstico do HPV.

Uma das etapas cruciais na construção de um biossensor é a imobilização do elemento de reconhecimento biológico na superfície do eletrodo. Para garantir uma imobilização eficaz é necessário efetuar uma modificação química do eletrodo em questão para que o mesmo adquira grupos funcionais e possam interagir com o biorreceptor. As principais técnicas para a imobilização da sonda na superfície do eletrodo são: adsorção química, ligação covalente, adsorção física e ligação por afinidade³².

Na adsorção química a imobilização da sonda baseia-se em monocamadas de um agente como alcanos tiolados, sobre o eletrodo, onde são capazes de fixar moléculas biológicas. Um exemplo que ilustra a adsorção química é o processo de imobilização do DNA pelo agrupamento tiol presente no aminoácido cisteína que tem afinidade pelo ouro (Au)³⁴.

A ligação covalente possui uma alta sensibilidade de detecção, pois não permite que biomoléculas inespecíficas se liguem à superfície do eletrodo, porque possui na sua extremidade final da sonda o biorreconhecimento que tem maior especificidade pelo tipo de eletrodo escolhido. Os mais grupos funcionais mais utilizados para essa modificação estão na cadeia lateral de alguns aminoácidos como tiol, carboxílico, amino e etc. A adsorção física representa um método simples de imobilização, pois ocorre interação eletrostática entre os grupos aniônicos presentes na sonda de DNA e as cargas catiônicas que recobrem a superfície do eletrodo²⁴.

Na ligação por afinidade, o processo de imobilização da sonda ocorre por meio da utilização da biotina que tem uma maior sensibilidade aos quatro sítios de ligação na avidina ou na estreptavidina, conectando a sonda ao eletrodo do trabalho³².

Após a imobilização da sonda no eletrodo, o biossensor é colocado em contato com a amostra para a detecção e quantificação do analito alvo. Essa detecção ocorre por meio da transdução do sinal obtido entre a reação da sonda com o alvo. Os principais tipos de detecção utilizados nos genossensores é a detecção eletroquímica que permite a análise de baixos níveis de concentração do analito³⁵.

O método de detecção direta nos genossensores, baseia-se na mensuração do sinal de corrente antes e após o processo de hibridização. A intensidade da corrente elétrica antes da formação do híbrido é maior, devido uma maior exposição e oxidação da guanina na superfície do eletrodo. Após o processo do pareamento das bases nitrogenadas, os resíduos de guanina ficam menos suscetíveis à oxidação, conseqüentemente, ocorre um decréscimo do sinal de corrente gerado.

Das bases nitrogenadas presentes na molécula de DNA, a guanina apresenta maior facilidade de sofrer oxidação no eletrodo e, portanto, pode ser usada para a detecção da hibridização pelo método direto³³.

No método de detecção indireta, mensura-se o sinal de corrente elétrica antes e depois da hibridização com a fita complementar. Porém, após submeter a sonda na presença do analito alvo para ocorrer a formação do híbrido, coloca-se uma substância eletroativa, como o brometo de etídio, que se intercala na molécula de DNA, fazendo com que o sinal eletroquímico gerado, seja aumentado³⁶.

Como visto anteriormente, os biossensores apresentam diversas vantagens na sua utilização como análise da amostra em tempo real, não demandam obra qualificada para análise, etc. Desta forma, muitas pesquisas têm sido realizadas no desenvolvimento de biossensores para a detecção do HPV. Um biossensor eletroquímico que determinava a presença do oligonucleotídeo do vírus HPV adsorvido em eletrodo de ouro impresso. A detecção do oligonucleotídeo foi realizada de forma direta, onde se verificava a oxidação de purinas (guanina e adenina) e fragmentos de DNA na superfície dos eletrodos, por meio de voltametria de onda quadrada³⁷.

Em uma outra pesquisa, foi desenvolvido um imunossensor utilizando um copolímero conjugado poli (5-hidroxi-1,4-naftoquinona-co-5-hidroxi-2-carboxietil-1,4-naftoquinona) para a detecção de infecção por HPV. Esse dispositivo é capaz de identificar a interação entre o peptídeo antigênico L1 do principal HPV-16 proteína do capsídeo, um epítipo dominante envolvido na infecção viral na vacina profilática e no anticorpo relevante. O HPV-16-L1 foi enxertado como sonda para detectar o anticorpo HPV-16³⁸.

No mesmo ano, alguns pesquisadores desenvolveram um trabalho similar onde verificou-se o desempenho analítico dos filmes de nanotubos de carbono de polianilina com múltiplas paredes (PANi-MWCNT) em matrizes de eletrodos de platina interdigitados para a detecção do vírus HPV³⁹.

Em contrapartida, foram realizadas pesquisas, permitindo o desenvolvimento de um nanobiosensor usando um transistor de efeito de campo do nanotubo de carbono (CNTFET) e o condicionamento de sinal. Os circuitos projetados têm interface com o sensor para amplificar o biopotencial gerado com a reação química do antígeno com o anticorpo colocado sobre o eletrodo de CNTFET⁴⁰.

Estes trabalhos realizados têm sido promissores para a detecção em tempo real de HPV, no entanto, mais estudos são necessários para determinar a viabilidade dos ensaios para aplicações clínicas.

Meios de prevenção como o uso de preservativos e vacinação.

O uso da vacina é uma medida profilática indispensável para a imunização de variadas patologias incluindo as infecções causadas pelo o HPV^{41, 42}. No Brasil, são disponibilizados dois tipos de vacinas: as terapêuticas e preventivas baseadas na resposta imune celular (linfócito T) para se ativarem e a outra se baseia na resposta imune humoral (linfócito B)⁴³.

Com isso, são disponibilizadas no mercado duas doses de vacina bivalente: a Cervarix® (GlaxoSmithKline – GSK), que protege o paciente de dois tipos de (HPV) 16 e 18 e a vacina quadrivalente (a Gardasil®), que protege o paciente de quatro tipos variantes do vírus: 6, 11, 16 e 18⁴². Para se obter uma proteção eficaz é recomendável 3 doses da vacina em um tempo recomendado de seis a doze meses⁴¹. Mas para manter sua eficácia completa, varia de cinco a dez anos de indivíduo para indivíduo necessitando de um reforço a cada 5 anos⁴⁴.

As vacinas são compostas por partículas iguais ao do vírus (virus-like particles – VLP) originárias das proteínas (L1 e L2) presentes no capsídeo do vírus do HPV^{45,46}. Indivíduos que apresentam infecção pré-existent, os antígenos L1 e L2 não são detectados, visto que não existe um efeito terapêutico, pois a limitação está no fato de que a vacina não contra-ataca infecções pré-existent do HPV^{47, 48}.

A proteção contra infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) no sexo masculino e feminino são o uso dos preservativos, apesar dos mesmos não oferecerem proteção completa ao (HPV). Visto que essas transmissões ocorrem pelo o contato de epidermes a epidermes, vaginal com vaginal, mãos com genital e entre outros, o mesmo vale para lesões na vulva, vagina e lesões masculinas tende a progredir e transmitir ao parceiro. Diante disso, estudos comprovaram na Austrália, em uma clínica de DST, aproximadamente 2.000 mil casos e entre casos de controles que o uso de preservativos tende a cair significativamente o risco de adquirir o condiloma acuminado entre ambos os sexos mostrando que prevenção ainda é indispensável¹⁴.

As estratégias de prevenção para o controle epidemiológico preconizada nos serviços de saúde. Baseia-se, na orientação da sociedade sobre o uso de vacinas e realização periódica de exames preventivos tanto nas medidas primárias e secundárias considerado o padrão ouro para o diagnóstico do HPV⁵. Os programas de atenção básica a saúde para prevenção clínica por meio de exames e diagnóstico, está voltada para a parte educativa, preventiva, diagnóstico precoce, cura, prognóstico e qualidade de vida para esse tipo de patologia e demais doenças⁴⁹.

Notoriamente, os dispositivos analíticos, como biossensor, têm sido desenvolvidos para diagnóstico de várias doenças, abordando a detecção in situ de agentes infecciosos como HPV. Em comparado com a instrumentação de laboratório clássico, o biossensor está sendo cada vez mais explorado com alternativa promissora e simples para um diagnóstico por que tem a capacidade de diferenciar mais de um tipo de doença em um único analito. Além disso, pode ser uma alternativa barata e célere para medidas analíticas convencionais, devido oferecer parâmetros de sensibilidade, estabilidade, seletividade, tempo de resposta e possibilidade de reutilização do mesmo⁵.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Papilomavírus apresenta grandes incidências tanto nos países desenvolvidos como subdesenvolvidos. A limitação da detecção do vírus pelos testes citológicos existentes por apresentarem elevados custos, favorece que mulheres acometidas por lesões, evoluam para o carcinoma cervical invasivo pela falta do diagnóstico precoce. O método citológico associado à utilização de biossensores permitirá detectar da presença do DNA do vírus em uma amostra biológica, propiciando uma detecção precoce do mesmo, favorecendo a administração de terapia adequada, para evitar a evolução da doença.

Apesar de ter uma limitação na utilização em saúde pública, já são feitos diagnósticos clínicos em laboratórios apresentando ter confiabilidade na ocorrência dos resultados, pois reduz substancialmente custos de produção aos biossensores e conferindo vantagem para a sua aplicação. O biossensor associado ao exame citológico (Papanicolau) permitirá um diagnóstico mais seguro, eficaz, com alta seletividade, sensibilidade, rapidez, linearidade do sinal, portátil, ajudando no manuseio em laboratório de análises clínica, consultórios médico e facilitando o

transporte para unidades distantes, onde a atenção básica de saúde é de difícil acesso.

A prevenção contra o vírus do HPV é indispensável, pois consiste em evitar sua disseminação e que proliferem a outros parceiros. Muitos são engajados na procura do diagnóstico pensando no seu bem-estar e do próximo. Essa prevenção pode ser realizada por meio da vacinação, utilização de preservativos e conscientização da população através dos profissionais da saúde. Tal conscientização, tem papel de orientar para que os índices sejam mínimos, considerando que os índices de infestação hoje existentes no Brasil são considerados preocupantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Feitosa, TR. Diagnóstico Citológico do Papiloma Vírus Humano (HPV). Recife (PE), 2013.
2. Blake, DR. Middleman AB. Human Papillomavirus Vaccine Update. *Pediatric Clinics of North America*, 2017; V. 64, p. 321-329.
3. Ferreira, DSC. Desenvolvimento de genossensores para o diagnóstico do papilomavírus humana (HPV). Universidade Federal de Pernambuco. 22 ed. Recife, 2014; p. 125- 16.
4. Castro, TPPG. Filho, IB. Prevalência do Papilomavirus humano (HPV) na cavidade oral e na orofaringe. *Rev. Bras otorrinolaringol. Ponta Verde Maceió (AL)*, 2006; 272-82.
5. Lindroth Y. Bjelkenkrantz K. Forslund O. Spectrum of HPV types before and after treatment of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 and 3. *Journal of Clinical Virology*, 2017; V. 97, p. 38-43
6. Viswanathan, S.; Rani, C.; Delerue-Matos, C. Ultrasensitive detection of ovarian câncer marker using immunoliposomes and gold nanoelectrodes. *Analytica Chimica Acta* 726, 79, 2012.
7. Rornkainen, NJ. Halsal, HB. Heineman WR. Electrochemical biosensors. *Chem Soc Rev.* May, 2010; 39(5):1747–63.
8. Yanga, G. Xiaoa, Z. Tanga, C. Deng, Y. Huang, H. Hea, Z. Recent advances in biosensor for detection of lung cancer biomarkers. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019; v. 141, p. 1-11.
9. Consolaro, M.; Engler, S. *Citologia Clínica Cérvico-Vaginal – Texto e Atlas*. 1ª ed. Roca, 2012.
10. Raybould, R. Fiander, A. Hinbbitts, S. Human Papillomavirus Integration and its Role in Cervical Malignant Progression. 2011; p.1–7.

11. Horvath, CAJ. Boulet, GAV. Renoux, VM. Delvenne, PO. BOGERS, J-PJ. Mechanisms of cell entry by human papillomaviruses: an overview. *Virology*. 2010 Jan; 7:1–7.
12. Brebi, PM. Roa, JCS. Epigenetic alterations in preneoplastic and neoplastic lesions of the cervix. *Clin Epigenetics*. 2012 Jan; 4(1):1–7.
13. Brankowski, BJ. Hearne, AE. Lambrou, NC. Fox, HE. Wallach, EE. *Manual de Ginecologia e Obstetrícia do Johns Hopkins*. 2º ed. Artmed. Porto Alegre, 2016.
14. Maia, A. Martins, CR. Jacyntho, C. Fedrizzi, EN. Junior, GM. Mello, I. Junior, JE. Focchi, J. Teixeira, J. Júnior, LRC. Cardial, MT. Neves, NA. Nicolau, SN. Farias, SL. *Patologia do trato Genital Inferior e Colposcopia*. Atheneu. São Paulo, 2010.
15. Ferreira, AW. Moraes, SL. *Diagnóstico laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes*. 3 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2013.
16. Nascimento, GA. Souza, EVM. Campos-Ferreira, DS. Aarruda, MS. Castelletti, CHM. Wanderley, MSO. et al. Electrochemical DNA biosensor for bovine papillomavirus detection using polymeric film on screen-printed electrode. *Biosens Bioelectron*. 2012 Oct; 38(1):61–6.
17. Bora, U. Sett, A. Singh, D. Nucleic Acid Based Biosensors for Clinical Applications. 2013; 1(1):1–8.
18. Gil, EDS. Melo, GR DE. Electrochemical biosensors in pharmaceutical analysis. *Brazilian J Pharm Sci*. 2010 Sep; 46(3):375–91.
19. Tamayo, J. Kosaka, PM. Ruz, JJ. San Paulo, Á. Calleja, M. Biosensors based on nanomechanical systems. *Chem Soc Rev*. 2012 Feb 7; 42(3):1287–311.
20. Arya, SK. Saha, S. Ramirez-Vick, JE. Gupta, V. Bhansali, S. Singh, SP. *Analytica Chimica Acta* Recent advances in ZnO nanostructures and thin films for biosensor applications: Review. *Anal Chim Acta*. 2012; 737:1–21.
21. Dhull, V. Gahlaut, A. Dilbaghi, N. Hooda, V. Acetylcholinesterase biosensors for electrochemical detection of organophosphorus compounds: a review. *Biochem Res Int*. 2013 Jan; 2013:731501
22. Bohunicky, B. Mousa, S. Biosensors: the new wave in cancer diagnosis. *Nanotechnol Sci Appl*. 2011 Dec; 4:1–10.
23. Lee, W. Lee, J. Koh, J. Development and applications of chip calorimeters as novel biosensors. *Nanobiosensors Dis Diagnosis*. 2012; 1:17–29.
24. Monosik, R. Stredansky, M. Šturdik, E. Biosensors - classification characterization and new trends. *Acta Chim Slovaca*. 2012 Apr 1; 5(1):109–20.
25. Dai, C. Choi, S. *Technology and Applications of Microbial Biosensor*. 2013; 2013(August):83–9.

26. Kirsch, J. Siltanen, C. Zhou, Q. Revzin, A. Simonian, A. Biosensor technology: recent cervical advances in threat agent detection and medicine. *Chem Soc Rev.* 2013 Nov 21; 42(22):8733–68.
27. Taguchi, M. Ptitsyn, A. Mclamore, ES. Claussen, JC. Nanomaterial-mediated Biosensors for Monitoring Glucose. *J Diabetes Sci Technol.* 2014 Mar 2;(2):403–11.
28. Su, L. Jia, W. Hou, C. Lei, Y. Microbial biosensors: a review. *Biosens Bioelectron* 2011 Jan 15;26(5):1788–99.
29. Liu, J. Chen, C-F. Chang, C-W. Devoe, DL. Flow-through immunosensors using antibody-immobilized polymer monoliths. *Biosens Bioelectron.* 2010 Sep 15; 26(1):182–8.
30. Palecek, E. Bartosik, M. Electrochemistry of nucleic acids. *Chem Rev.* 2012 Jun 13; 112(6):3427–81.
31. Paniel, N. Baudart, J. Hayat, A. Barthelmebs, L. Aptasensor and genosensor methods for detection of microbes in real world samples. *Methods.* Elsevier Inc.; 2013 Dec 15; 64(3):229–40.
32. Labuda, J. Brett, AMO. Evtugyn, G. Fojta, M. Mascini, M. Ozsoz, M. et al. Electrochemical nucleic acid-based biosensors: Concepts, terms, and methodology (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem.* 2010 Apr 20; 82(5):1161–87.
33. Palchetti, I. Mascini, M. Electrochemical nanomaterial-based nucleic acid aptasensors. *Anal Bioanal Chem.* 2012 Apr; 402(10):3103–14.
34. Wang, W. Electrochemical investigation on the film of L-cysteine self-assembled to nanoparticles on a gold electrode. *J Biophys Chem.* 2012; 03(01):39–4.
35. Tosar, JP. Branãs, G. Laíz, J. Electrochemical DNA hybridization sensors applied to real and complex biological samples. *Biosens Bioelectron.* 2010 Dec 15; 26 (4):1205–17.
36. Ortiz, M. Fragoso, A. Ortiz, PJ. O’Sullivan, CK. Elucidation of the mechanism of single-stranded DNA interaction with methylene blue: A spectroscopic approach. *J Photochem Photobiol A Chem.* Elsevier B.V.; 2011 Feb; 218(1):26–32.
37. Zari, N. Amine, A. Ennaji, M. Label-free DNA biosensor for electrochemical detection of short DNA sequences related to human papilloma virus. *Anal. Lett.* 2009; v. 42, 519–535.
38. Pero, B. Kapella, A. LE, V.H. Aanquetin, G. Zhang, Q.D. Reisberg, S. Noel, V. Tran, L.D. Duc, H.T. Pham, M.C. Towards the detection of human papillomavirus infection by a reagentless electrochemical peptide biosensor, *Electrochim. Acta* 56 (2011) 10688–10693.

39. Dai, L. Tran, D.T. Nguyen, B.H. Nguyen, Q.P. Do, H. Le Nguyen. Development of interdigitated arrays coated with functional polyaniline/MWCNT for electrochemical biodetection: application for human papilloma virus, *Talanta* 85 (2011) 1560–1565.
40. Gopinath, PG. Anitha, VR. Mastani, A. Design of biosensor array with current boost and signal conditioning circuits for HPV detection. *Alexandria Engineering Journal* (2018) 57, 671–681.
41. Zarchi, MK. Behtash, N. Chiti, Z. Kargar, S. MINI-REVIEW Cervical Cancer and HPV Vaccines in Developing Countries. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2009; 10:2001–6.
42. Nieto, K. Salvetti, A. AAV Vectors Vaccines Against Infectious Diseases. *Front Immunol.* 2014 Jan; 5(January):5.
43. Dochez, C. Bogers, JJ. Verhelst, R. Rees, H. HPV vaccines to prevent cervical cancer and genital warts: an update. *Vaccine.* Elsevier Ltd; 2014 Mar 20; 32(14):1595–601.
44. Bonanni, P. Boccalini, S. Bechini, A. Efficacy, duration of immunity and cross protection after HPV vaccination: a review of the evidence. *Vaccine.* 2009 May 29; 27 Suppl 1:A46–53.
45. Ma, B. Xu, Y. Hung, C. Wu, T. HPV and Therapeutic Vaccines: Where are We in 2010? *Curr Cancer Ther Rev.* 2010; 6(410):81–103.
46. Basu, P. Banerjee, D. Singh, P. Bhattacharya, C. Biswas, J. Efficacy and safety of human papillomavirus vaccine for primary prevention of cervical cancer: A review of evidence from phase III trials and national programs. *South Asian J câncer.* 2013 Oct; 2 (4):187–92.
47. Huang, C. Monie, A. Weng, W. Wu, TC. Review Article DNA vaccines for cervical cancer. 2010; 2(1):75–87.
48. Nigam, A. Saxena, P. Acharya, AS. Mishra, A. Batra, S. HPV Vaccination in India: Critical Appraisal. *ISRN Obstet Gynecol.* 2014; 2014:1–5.
49. Ferreira, F.P. Desenvolvimento de genossensor eletroquímico para diagnóstico de meningite pneumocócica. Uberlândia MG, 2017.
50. Oliveira, A. E. F.; PEREIRA, A. C. Biossensores e a Indústria Alimentar – Revisão. *Rev. Virtual Quim.* São João Del-Rei-MG, 2016.