PRISCILA GARCIA FIGUEIREDO

DETECÇÃO DO DNA-HPV DE ALTO RISCO ONCOLÓGICO ANTES E QUATRO A SEIS MESES APÓS CONIZAÇÃO EM MULHERES COM NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL CERVICAL

Dissertação de Mestrado

ORIENTADORA: Profª. Drª. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

UNICAMP
2002

PRISCILA GARCIA FIGUEIREDO

DETECÇÃO DO DNA-HPV DE ALTO RISCO ONCOLÓGICO ANTES E QUATRO A SEIS MESES APÓS CONIZAÇÃO EM MULHERES COM NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL CERVICAL

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Tocoginecologia, área de Tocoginecologia

ORIENTADORA: Profª. Drª. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

UNICAMP
2002

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

F469d

Figueiredo, Priscila Garcia
"Detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico antes e quatro a seis meses após conização em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical" / Priscila Garcia Figueiredo. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Sophie Françoise Mauricette Derchain
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1.Câncer. 2.Colo do útero. 3.Biologia molecular. 4.Tratamento. I. Sophie Françoise Mauricette Derchain. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: PRISCILA GARCIA FIGUEIREDO

Orientadora: Profª. Drª. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

Membros:

1.

2.

3.

Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 07/11/2002

Dedico esta tese...

... aos meus pais, Octacílio e Dirce,
por seu amor insubstituível,
presenças fundamentais e para sempre em minha vida.

... ao meu esposo Paulo,
por seu amor infinito, pelo significado em minha vida,
razão de sempre realizar novas conquistas.

... ao meu filho Felipe,
pela alegria e emoção
que já encanta nossas vidas.

... aos meus irmãos Octacílio e Eduardo,
pelo carinho e apoio.

Agradecimentos

À Profa. Dra. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN pelo exemplo de dedicação à vida acadêmica, pela competência, dinamismo e, sobretudo, pela amizade.

À amiga doutoranda FABIANA YUMI NAKANO pela amizade, competência e indispensável colaboração na realização deste trabalho.

À amiga Dra. ELIANE REGINA ZAMBELLI M. DE OLIVEIRA pela amizade, incentivo e apoio pessoal.

À Profa. JULIA KAWAMURA TAMBASCIA, pelo incentivo e dedicação na leitura das lâminas de colpocitologia oncológica.

Às biólogas DENISE DA ROCHA PITA LIMA, ELIZABETE APARECIDA CAMPOS E LUCIA M. FAGIAN DE CARVALHO, que contribuíram com a realização dos exames de Captura Híbrida.

Às amigas NILVANA GOMES FELIPE CARMO e ANGELA MORELATO pela presença, conselhos e amizade.

Ao amigo EDSON ZANGIACOMI MARTINEZ, pelo auxilio e trabalho de análise estatística.

A todos os amigos, professores, médicos e funcionários que auxiliaram na realização deste trabalho e cujos nomes deixo de citar, mas que ao lerem estas palavras incorporarão estes sinceros agradecimentos.

Às MULHERES que confiam em nós.

A TODOS VOCÊS, AGRADEÇO DE CORAÇÃO.

Este trabalho foi financiado por:

Fundação de Amparo à Pesquisa do
Estado de São Paulo (FAPESP),
processo número 00/06394-0.

Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq),
processo número 300354/01-0.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

Resumo

Summary

1. Introdução ... 13

2. Objetivos ... 28
   2.1. Objetivo geral ... 28
   2.2. Objetivos específicos ... 28

3. Sujeitos e Métodos ... 29
   3.1. Tipo de estudo ... 29
   3.2. Seleção dos sujeitos ... 29
      3.2.1. Critérios de Inclusão ... 30
      3.2.2. Critérios de Exclusão ... 30
      3.2.3. Critérios de Descontinuação ... 31
   3.3. Coleta de dados ... 33
      3.3.1. Procedimentos realizados na consulta ... 33
   3.4. Definição dos métodos e conceitos ... 34
      3.4.1. Colpocitologia oncológica ... 34
      3.4.2. Colposcopia ... 35
      3.4.3. Captura Híbrida II ... 37
      3.4.4. Conização por cirurgia de alta freqüência (CAF) ... 38
      3.4.5. Diagnóstico histológico ... 39
   3.5. Variáveis em estudo ... 40
      3.5.1. Variáveis independentes ... 40
      3.5.2. Variáveis dependentes ... 41
   3.6. Processamento de dados ... 41
   3.7. Análise Estatística ... 42
   3.8. Aspectos Éticos ... 42

4. Resultados ... 44

5. Discussão ... 55

6. Conclusões ... 61

7. Referências Bibliográficas ... 63

8. Bibliografia de Normatizações ... 73

9. Anexos ... 74
   9.1. Anexo 1 - Carta de convocação para a paciente ... 74
   9.2. Anexo 2 – Notificação para o Profissional da Unidade Básica de Saúde ... 76
   9.3. Anexo 3 – Carta de contra-referência ... 78
   9.4. Anexo 4 – Carta de convocação às pacientes faltosas ... 79
   9.5. Anexo 5 – Carta de Notificação à Unidade Básica de Saúde ... 80
   9.6. Anexo 6 – Ficha pré-codificada ... 81
   9.7. Anexo 7 – Consentimento Livre e Esclarecido ... 84
   9.8. Anexo 8 – Lista das mulheres ... 86

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

ACO	Anticoncepcional oral
ASCUS	*Atypical squamous cells of undetermined significance* (Atipia de células escamosas de significado indeterminado)
CAF	Cirurgia de alta freqüência
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CH II	Captura Híbrida II
CO	Colpocitologia oncológica
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ELISA	*Enzime linked imunosorbent assay* (Imuno ensaio enzimático)
et al.	E outro(s), e outra(s)
HIV	*Human immunodeficiency virus* (Vírus da imunodeficiência humana)
HPV	*Human Papillomavirus* (Papilomavírus humano)
IC	Intervalo de confiança
LEEP	*Loop electrosurgical excision procedure*
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	*Polimerase chain reaction* (Reação em cadeia de polimerase)
RLU	*Relative light unit* (Unidade relativa de luz)
OR	*Odds ratio*
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

Resumo

Objetivo: avaliar a detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico antes e quatro a seis meses após a conização em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical (NIC). **Sujeitos e métodos:** foi realizado um estudo clínico de coorte, descritivo, onde foram selecionadas 78 mulheres submetidas à conização por cirurgia de alta freqüência (CAF), no período de fevereiro a dezembro de 2001, com seguimento até maio de 2002, e cujo diagnóstico histológico do cone fosse compatível com NIC 1 (n=10), NIC 2 (n=12) ou NIC 3 (n=56). O material para Captura Híbrida II (CH II) foi coletado da endocérvice antes da conização e o resultado mensurado em unidades relativas de luz (RLU). Entre quatro e seis meses após a conização foi coletado material para CH II, colpocitologia oncológica (CO) e realizada colposcopia. Foi utilizado o cálculo do *odds ratio* (OR) para análise estatística, com intervalo de confiança de 95% (IC=95%). **Resultados:** antes da conização, 67 (86%) mulheres apresentavam DNA-HPV de alto risco oncológico. A detecção do DNA-HPV esteve significativamente associada com a presença de NIC 3 no cone. Entre as 67 mulheres com DNA-HPV detectável antes da conização, apenas 22 (33%) mantiveram o exame

alterado quatro a seis meses após. A detecção do DNA-HPV após a conização não se relacionou com a carga viral prévia à conização, bem como com a presença de doença nas margens do cone ou com a idade. Alterações escamosas na CO foram encontradas em 26 mulheres durante o seguimento. Em seis mulheres confirmou-se doença histológica quatro a seis meses após a conização. A detecção do DNA-HPV após a conização associou-se com uma taxa significativamente maior de alterações colpocitológicas (OR= 4,8; IC 95%=1,7–13,7) e não se relacionou com a presença de alterações histológicas durante o seguimento (OR=6,0; IC 95%=0,8–52,3). A presença de alterações colpocitológicas também estiveram associadas com alterações histológicas (OR=12,4; IC 95%=1,2–292,1). **Conclusão:** após a conização, 67% dos casos inicialmente positivos não apresentavam DNA-HPV detectável. A detecção viral quatro a seis meses após a conização esteve significativamente associada com as alterações colpocitológicas. As alterações colpocitológicas estiveram significativamente associadas com a presença de neoplasia intra-epitelial cervical histológica quatro a seis meses após a conização.

Summary

Objective: to compare the presence of high-risk HPV DNA of women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) before conization and after 4 to 6 months. **Subjects and methods:** a descriptive cohort study enrolled 78 women undergoing LEEP conization from February 2001 to December 2002, with follow-up until May 2002. Histological findings revealed CIN 1 in 10 patients, CIN 2 in 12 patients and CIN 3 in 56 patients. These patients underwent HPV DNA detection by Hybrid Capture II test before conization and 4 to 6 months after the procedure. A new colposcopy and cytologic smear were performed between 4 to 6 months. The odds ratio (OR) was analysed statistically using 95% confidence interval. **Results:** in 67 women (86%), high risk HPV DNA could be detected before conization, and the viral detection was significantly associated with CIN 3. In 22 (33%) of these 67 women with positive HPV DNA, the results persisted 4 to 6 months after conization. Detection of HPV DNA after conization was not associated with viral load before conization, cone margins or age. Histologic disease was present in 6 of 26 women with cytologic abnormalities. The detection of HPV DNA after conization was associated with the presence of cytological

abnormalities (OR= 4,8; IC 95% 1,7–13,7) and was not associated with histological findings at follow-up (OR=6,0; IC 95% 0,8–52,3). Cytological abnormalities were also associated with histological findings after conization (OR=12,4; IC 95% 1,2–292,1). **Conclusions:** after conization, 67% of the cases that were initially positive did not demonstrate any detectable HPV DNA. Viral detection was significantly associated with cytological findings at follow-up.

1. Introdução

A escolha do método terapêutico da neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) depende de vários fatores, como a gravidade da lesão, a extensão da imagem colposcópica, a idade, o desejo reprodutivo da paciente e a disponibilidade tecnológica do serviço. Os métodos mais eficazes e seguros no tratamento da NIC são os excisionais, que permitem a avaliação histológica do espécime cirúrgico e minimizam o risco de não se diagnosticar uma neoplasia invasora. A conização clássica a frio, por cirurgia de alta freqüência por alça (CAF) e com laser são hoje as técnicas cirúrgicas mais utilizadas. A conização clássica a frio, já tem seus resultados comprovados no tratamento da NIC 3 no Ambulatório de Patologia Cervical do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (DERCHAIN et al., 1992; TEIXEIRA et al., 1998). Estudos realizados comparando a conização por CAF, conização a frio (EDUARDO et al., 1996; DUGGAN et al., 1999) ou a laser (VEJERSLEV et al., 1999) demonstraram que a conização por CAF é o método mais rápido, mais econômico e menos traumático para a paciente. É uma técnica lançada por PRENDIVILLE et al. (1989) e atualmente seu uso está

muito difundido para o diagnóstico e tratamento da NIC. Tem a vantagem de ser realizada em nível ambulatorial e de promover um espécime cirúrgico adequado para o diagnóstico histológico.

Existem controvérsias em relação ao desempenho da conização por CAF na determinação das margens do cone devido a maior freqüência de artefatos térmicos, com estudos relatando inicialmente taxas de zero a 40% de falha na avaliação das margens cirúrgicas (FELIX et al., 1994; MATHEVET et al., 1994; GARDEIL et al., 1997; TAHA et al., 2001). Por outro lado, a literatura demonstra que a conização por CAF pode ser realizada com mínimos danos térmicos, permitindo interpretação adequada das margens da peça cirúrgica nos serviços onde o procedimento é empregado rotineiramente e por equipes bem treinadas (BAGGISH et al., 1992; WRIGHT et al., 1992; TAHA et al., 2001).

A freqüência de margens comprometidas na peça cirúrgica da conização varia de 7,2% a 43,5% e depende de vários fatores, tais como grau de severidade da NIC, envolvimento da endocérvice, dimensões do cone e técnica de conização (FELIX et al., 1994; BOLLEN et al., 1999; NARDUCCI et al., 2000). Existe uma certa correlação entre o comprometimento das margens cirúrgicas do cone e as taxas de doença residual e de recidiva da doença. A freqüência de doença histológica no colo residual após a conização por CAF está significativamente relacionada ao comprometimento das margens, podendo ser observada em 30% dos cones com margens comprometidas, embora 28% das mulheres cujos cones apresentavam margens próximas comprometidas ou

com artefatos térmicos e 8% daquelas com margens livres, também apresentem recidiva (HULMAN et al., 1998).

Entretanto, as taxas de comprometimento das margens e de recidiva da NIC variam conforme os autores: SCHERMERHORN et al. (1997) avaliaram 59 mulheres submetidas à conização a frio e 21 submetidas à conização por CAF por NIC 1 (8), NIC 2 (21) e NIC 3 (51), com seguimento de 24 meses. Verificaram que 29 mulheres apresentavam margens do cone comprometidas, sendo que duas tinham resultado histológico positivo na curetagem endocervical, duas mulheres tinham margens livres com curetagem endocervical positiva e 49 mulheres apresentavam margens livres e curetagem endocervical negativa. Em relação à persistência da doença, 11 (38%) das 29 mulheres com margens comprometidas e uma (2%) entre as 49 mulheres com margens livres, apresentaram doença residual no colo uterino.

GARDEIL et al. (1997) analisaram 225 peças cirúrgicas obtidas através da excisão ampla da zona de transformação por CAF com diagnóstico histológico de NIC 3. As margens foram avaliadas em 218 casos, e destes, 113 (51,8%) apresentavam margens livres, 64 (29,4%) apresentavam margens endocervicais comprometidas, 29 (13,3%) tinham margens ectocervicais comprometidas e em 12 casos (5,5%) ambas as margens estavam comprometidas. No grupo de mulheres cujas margens do cone eram livres e que foram reavaliadas em seis meses, cinco (4,7%) mulheres apresentaram alteração colpocitológica compatível com NIC e destas, duas tinham doença residual no segundo procedimento realizado por CAF. Entre as 97 mulheres com margens comprometidas no cone

e reavaliadas em seis meses, 19 (19,6%) apresentavam colpocitologia oncológica alterada e, destas, 11 tinham doença histológica comprovada. Pôde-se observar neste estudo que o comprometimento das margens do cone esteve associado ao aumento da incidência de NIC durante o seguimento.

Por sua vez, IZUMI et al. (2000) acompanharam durante cinco anos 80 mulheres submetidas à conização a laser, sendo que 27% apresentavam margens comprometidas. Durante o seguimento, apenas duas apresentaram alterações colpocitológicas e nenhuma mulher apresentou recidiva histológica da NIC. Os autores concluíram que não há necessidade de tratamento posterior à conização em mulheres com NIC ou carcinoma microinvasor. Em 2002, entretanto, MILOJKOVIC observou que 28% das mulheres com margens comprometidas e apenas 0,9% daquelas com margens livres apresentaram recidiva da NIC entre 934 mulheres acompanhadas após uma conização por CAF. Mesmo assim, os autores recomendam que outra cirurgia seja indicada apenas quando o ginecologista encontrar uma alteração colpocitológica, colposcópica ou histológica que sugira recidiva. Finalmente, COSTA et al. (2002) acompanharam por três anos 699 mulheres submetidas à conização por CAF, e demonstram que a idade, o tamanho da lesão cervical à colposcopia, a gravidade da NIC, a profundidade ou largura do cone, e o estado de suas margens não foram fatores preditivos de doença residual ou de recidiva, e concluem que outros fatores devem estar envolvidos na evolução da doença após o tratamento.

Assim, na atualidade, tem-se preferido realizar o seguimento das mulheres submetidas à conização, independentemente de suas margens, com a realização

de colpocitologia oncológica e colposcopia e, com isso, um grande impulso tem sido dado às pesquisas que possam identificar um novo marcador de recidiva após a conização (LAPAQUETTE et al., 1993; WHITE et al., 1993; DOBBS et al., 2000; PARASKEVAIDIS et al., 2000; COSTA et al., 2002; MILOJKOVIC, 2002).

Está bem estabelecido o papel do papilomavírus humano (HPV) como o principal fator promotor da neoplasia cervical. A relação do HPV com a carcinogênese depende fundamentalmente do tipo viral (alto ou baixo risco oncológico), da carga viral e de sua persistência e integração com a célula-hospedeira. O HPV é o vírus sexualmente transmissível mais freqüente na população geral, com a prevalência de 20% a 40% nas mulheres jovens sexualmente ativas, porém, apenas 10% a 25% das mulheres infectadas pelo HPV de alto risco desenvolvem lesões neoplásicas precursoras de alto grau (NIC 2 ou 3) e menos de 1% desenvolvem câncer invasor. A infecção aguda costuma ser transitória, com duração de seis a dez meses, período em que as lesões precursoras de baixo grau (NIC1) regridem espontaneamente em 70% a 90% dos casos. Foi demonstrado que as oncoproteínas virais E6 e E7 interagem com proteínas supressoras de tumores (p53 e pRB), alterando seu ciclo celular e suas funções (SYRJÄNEN e SYRJÄNEN, 2000). As evidências sugerem que a infecção pelo HPV seja necessária, mas fatores adicionais estão envolvidos para a progressão das lesões precursoras (HERRERO et al., 1990; CUZICK et al., 1994).

Os métodos diagnósticos das lesões induzidas pelo HPV avaliam as alterações morfológicas e incluem o exame clínico, a colposcopia, a colpocitologia oncológica e a histologia. A identificação da infecção pelo HPV propriamente

dito inclui os métodos biológicos, como as hibridizações moleculares de ácidos nucléicos tipo *Southern Blot*, a Captura Híbrida (CH), a hibridização *in situ* e a reação em cadeia de polimerase (PCR) (ALVES, 1996). As técnicas de biologia molecular, desenvolvidas a partir dos anos 80, utilizaram a hibridização molecular para detectar seqüências de DNA viral em tumores humanos e sugeriram a existência de diferentes tipos dentro do grupo de HPV. GISSMANN e ZUR HAUSEN (1976) demonstraram a pluralidade de vírus existentes, através do mapeamento genético, que poderia permitir uma caracterização tipo-específica. As mulheres nas quais se detecta o DNA-HPV de alto risco oncológico apresentam 70% de chance de ter seu esfregaço cervical anormal nos dois anos subseqüentes (ZUR HAUSEN, 1990). O valor potencial da análise da infecção pelo HPV depende da situação em que é utilizada e as considerações são diferentes para a colpocitologia oncológica e histologia, que devem ser avaliadas separadamente (SCHIFFMAN et al., 1993; ELUF-NETO et al., 1994).

A hibridização *in situ* tem a vantagem de permitir a localização tecidual e até intracelular de seqüências nucleotídicas dos vírus. Entretanto, sua sensibilidade é muito baixa, pois exige alta carga viral para uma boa visualização das reações (LIZARD et al., 1998; SYRJÄNEN e SYRJÄNEN, 2000). A reação em cadeia de polimerase (PCR) é o melhor método conhecido até hoje para detecção de DNA. Porém, a principal desvantagem da PCR deriva de sua alta sensibilidade que leva a um grande número de diagnósticos positivos sem correlação clínica, sendo, portanto, um teste de baixo valor preditivo positivo, mas de altíssimo valor preditivo negativo para neoplasia cervical. Uma grande

vantagem do método é a multiplicidade de materiais a partir dos quais se pode realizar a PCR (SYRJÄNEN e SYRJÄNEN, 2000).

Há cerca de oito anos foi introduzido um novo método de detecção do DNA viral, a Captura Híbrida. Este método *(Digene Diagnostics Inc.)* foi desenvolvido por LÖRINCZ et al. (1992) e tem como virtudes laboratoriais a acuidade diagnóstica, com bons índices de sensibilidade e especificidade, um tempo reduzido na realização das provas (de cinco a seis horas) e a boa relação custo-benefício (ALVES, 1996). Apresenta ainda a vantagem de estar disponível na forma de *kit* padrão e mostra utilidade prática na avaliação das mulheres com alterações colpocitológicas sugestivas de NIC (LÖRINCZ, 1997). O método baseia-se em uma hibridização molecular convencional, onde diferentes tipos de soluções de sondas não-radioativas de ácidos ribonucléicos ou desoxirribonucléicos são colocados a reagir em dois tubos com amostras desnaturadas que contêm o DNA a ser pesquisado: um tubo com sondas homólogas a genótipos de HPV de baixo risco oncológico (6, 11, 42, 43 e 44), e outro com sondas homólogas aos tipos de alto risco oncológico (16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 e 56) (FERENCZY, 1995).

Com a Captura Híbrida tipo I realizada em tubos, a sensibilidade do método variava em torno de 70% a 75%, sendo esta taxa de detecção considerada muito baixa para aplicabilidade clínica (FERENCZY, 1995; LÖRINCZ, 1997; DERCHAIN et al., 1999). Atualmente, os exames realizados por Captura Híbrida de segunda geração (Captura Híbrida II) são realizados em microplacas semelhantes às reações imunoenzimáticas tipo ELISA, de procedimento rápido

e leitura confiável, antecipando uma estratégica possibilidade de estudo do HPV em grandes amostras. Apresentam uma significativa diminuição no tempo de preparo, em torno de três horas, uma expressiva melhoria na sensibilidade das reações e são aplicáveis em aparelhos usualmente utilizados na rotina dos laboratórios de patologia clínica (FERRIS, 1998). Ao *pool* de vírus originais acrescentaram-se quatro tipos virais de alto risco oncológico (tipo 39, 58, 59 e 60). Os estudos demonstram que o teste é capaz de detectar quantidades de DNA-HPV entre 0,2 a 1pg DNA/ml (CLAVEL et al., 1998).

Além de detectar a presença ou ausência do DNA-HPV, alguns métodos de biologia molecular permitem estimar a quantidade de cópias virais (YLITALO et al., 2000; JOSEFSSON et al., 2000; JOHNSTON, 2000; SUN et al., 2001; LÖRINCZ et al., 2002; SUN et al., 2002). Através da CH II considera-se que uma unidade de luz relativa (RLU) corresponda a um picograma (pg) de DNA/ml e que haja uma colinearidade progressiva (LÖRINCZ et al., 2002). Alguns autores, utilizando diferentes pontos de corte em relação à carga viral, consideram que a lesão cervical histológica é mais grave em mulheres nas quais se detecta o DNA-HPV de alto risco oncológico em uma carga viral maior que 10 RLU (SUN et al., 2001, 2002). Outros autores, utilizando PCR em métodos semi-quantitativos observaram que a carga viral é importante fator preditivo de lesões mais graves, principalmente quando se considera o HPV tipo 16 (ZERBINI et al., 2001). HO et al. (1995) verificaram que mulheres com NIC e DNA-HPV de alto risco oncológico e com carga viral maior que 200 RLU, tinham maior chance de apresentar persistência da NIC.

Em relação à transformação de um epitélio cervical normal em uma neoplasia intra-epitelial cervical, ainda existem dúvidas se a evolução para a neoplasia tem relação com a carga viral. YLITALO et al. (2000) e JOSEFSSON et al. (2000) concluíram em seus estudos de coorte reconstituído que mulheres com alta carga de HPV 16 avaliada por PCR apresentavam duas a 68 vezes mais risco de evoluir para NIC 3, dependendo da carga viral, quando comparadas às mulheres sem a presença do HPV 16, em um seguimento de até 17 anos.

No entanto, CLAVEL et al. (2000) demonstraram que de 204 mulheres com DNA-HPV detectável através da CH II, 14 desenvolveram NIC de alto grau num seguimento de quatro a 22 meses e destas, somente cinco apresentavam alta carga viral inicial, concluindo que sua quantificação através da CH II não pôde ser considerada um teste sensível na prática clínica para predizer a presença ou não de lesões intra-epiteliais de alto grau. E, finalmente, LÖRINCZ et al. (2002) em um seguimento de dez anos não observaram nenhuma relação entre a carga viral de DNA-HPV de alto risco oncológico, distribuída de forma logarítmica crescente, com a maior ou menor incidência de NIC 3; porém, deve-se salientar que não houve especificação do tipo viral de maior carga entre o *pool* de vírus incluídos na CH II.

Quando se avalia o seguimento de mulheres tratadas por NIC através da conização, muitos estudos analisam a taxa de cura ou recidiva embasados em aspectos morfológicos. Entretanto, ainda são poucos os estudos que avaliam a detecção do vírus como método preditivo da evolução da doença. No seguimento terapêutico das lesões do trato genital inferior induzidas pelo HPV, STRAND et

al. (1997) demonstraram que a infecção por HPV permanece após o tratamento dos condilomas acuminados ou planos de vagina e vulva, porém tende a desaparecer nas mulheres tratadas por NIC e, uma infecção persistente após a conização poderia indicar que o colo continua exposto ao fator oncológico, podendo estar associado a um aumento da recidiva e progressão da doença. Segundo TATE et al. (1996), a detecção de HPV é rara nos tecidos escamosos morfologicamente normais que cercam os locais onde há NIC. Isso não exclui a infecção oculta da história natural da NIC, mas indica que quando as lesões cervicais HPV-induzidas ocorrem, a infecção oculta não se dissemina no epitélio normal circunjacente. Este fato é consistente com a baixa taxa de recorrência da NIC tratada por excisão, assim como com os baixos índices de positividade do HPV durante o seguimento.

BOLLEN et al. (1999) avaliaram 43 mulheres submetidas à conização e que apresentaram alguma alteração colpocitológica durante o seguimento. Verificaram que, nesses casos, o risco de apresentar alguma alteração histológica era 5,3 vezes maior naquelas em que a detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico era positiva do que naquelas em que o DNA-HPV era ausente. Todas as mulheres que não apresentaram recidiva da lesão não tiveram DNA-HPV detectável, embora apenas 50% das mulheres com DNA-HPV positivo apresentassem doença histológica. Em estudo retrospectivo, CHUA e HJERPE (1997), comparando 26 mulheres com recidiva após a conização com 22 mulheres sem recidiva, identificaram a presença de DNA-HPV por PCR no material de biópsia fixado em parafina em 25 das 26 mulheres com recidiva

histológica da NIC. Os autores não detectaram o DNA-HPV nas 22 pacientes sem recidiva após a conização e pertencentes ao grupo-controle.

Por outro lado, DISTEFANO et al. (1998) detectaram o DNA viral por PCR no material da conização por CAF em 100% das 36 mulheres estudadas. Após a conização, entre as 27 mulheres que não apresentaram recidiva, nove permaneceram com DNA-HPV positivo, e todas as nove mulheres com recidiva da lesão histológica apresentaram DNA-HPV detectável. Segundo os autores, a persistência viral não esteve diretamente relacionada com a presença de alteração morfológica.

KANAMORI et al. (1998) avaliaram os blocos cirúrgicos de 53 mulheres com NIC 3 e carcinoma microinvasor submetidas à histerectomia em menos de dois meses após a conização. Na avaliação prévia à conização, metade das mulheres (27/53) apresentavam DNA-HPV de alto risco oncológico detectado por PCR. Na avaliação histológica do cone, sete pacientes tinham margens comprometidas e 46, margens livres de doença. Foi encontrada doença histológica residual na peça da histerectomia em duas das 46 mulheres com margens livres, ambas sem DNA-HPV detectável e em quatro das sete mulheres com margens comprometidas, sendo que duas tinham DNA-HPV detectável. A taxa de detecção viral de 50% no momento da conização em mulheres com NIC 3 e carcinoma microinvasor demonstra, entretanto, uma alta taxa de falso negativo do PCR utilizada pelos autores.

Assim, apesar de a maioria dos autores que estudaram a detecção do DNA-HPV após a conização ser unânime em dizer que a detecção do DNA-HPV ajuda a selecionar as mulheres que apresentarão recidiva (TATE et al., 1996; CHUA e HJERPE, 1997; BOLLEN et al., 1999), outros não verificaram uma associação muito grande entre a detecção viral e a presença de doença residual (DISTEFANO et al., 1998; KANAMORI et al., 1998).

A conização é um método que permite o diagnóstico da gravidade da lesão cervical; entretanto, também tem um objetivo terapêutico. Classicamente, mulheres cujo resultado histológico do cone apresenta neoplasia intra-epitelial cervical são consideradas tratadas quando suas margens estão livres, embora 8% apresentem doença residual após um segundo procedimento e cerca de 4% a 17% apresentem recidiva durante o seguimento (KANAMORI et al., 1998; TEIXEIRA et al., 1998). Quando as margens do cone estão comprometidas, a conduta posterior é controversa, visto que 70% das mulheres não têm doença residual na peça cirúrgica do procedimento posterior. KANAMORI et al. (1998) concluem que a doença residual pode estar presente em mulheres cujo cone apresenta margens livres de doença, e que o DNA-HPV pode estar presente em mulheres com colo normal após a conização.

KJELLBERG et al. (2000) acompanharam 108 mulheres submetidas à conização a laser por vários graus de NIC, coletando o DNA-HPV antes, e três anos após. De 82 mulheres que inicialmente apresentavam DNA-HPV detectável, apenas três (2,7%) tinham DNA-HPV após três anos e nestes casos, o tipo viral era diferente. Os autores encontraram apenas duas pacientes com atipias

escamosas na colpocitologia oncológica e nenhuma recorrência histológica da doença. Deve-se considerar, entretanto, o longo tempo entre os exames e a possibilidade de uma nova infecção.

LIN et al. (2001) avaliaram mulheres com NIC 3 submetidas à histerectomia duas a sete semanas após a conização por margens comprometidas ou curetagem endocervical positiva. Entre as 75 mulheres avaliadas, 52 apresentavam DNA-HPV detectado antes da cirurgia por Captura Híbrida II, e entre estas, 27 tinham doença residual na peça cirúrgica. Entre as 23 mulheres nas quais não se detectou o DNA-HPV, nenhuma apresentou doença residual. Os autores concluem que a Captura Híbrida II é um teste muito sensível e com excelente valor preditivo negativo. Deve-se considerar, entretanto, o tempo muito curto entre a conização e a pesquisa do DNA-HPV.

KUCERA et al. (2001) avaliaram 142 mulheres tratadas por NIC com conização por CAF e as acompanharam com CO e pesquisa de DNA-HPV por Captura Híbrida II durante 12 meses. Concluíram que ao final deste período, 94% das mulheres nas quais inicialmente detectava-se o DNA-HPV de alto risco oncológico não apresentavam mais o vírus.

Em um trabalho muito recente, CRUICKSHANK et al. (2002) concluem que a persistência de DNA-HPV 16 e 18 após a conização foi um fator significativamente associado com a recidiva da doença em mulheres tratadas por NIC 3 e, ACLADIOUS et al. (2002) acrescentam que, além da detecção viral após a conização, o tabagismo foi o único fator associado à recidiva, conferindo

às fumantes um risco três vezes maior de desenvolver recidiva da NIC quando comparadas às não-fumantes.

Assim, há um interesse crescente em utilizar testes que envolvam a detecção do DNA-HPV, sozinho ou em associação com a colpocitologia oncológica, tanto diretamente em programas de rastreamento como no diagnóstico de mulheres com alterações colpocitológicas ou no controle após o tratamento da NIC. O rastreamento das lesões cervicais tem sido caracterizado hoje por duas grandes linhas de pesquisa: aquela baseada nos aspectos morfológicos da colpocitologia oncológica e aquela baseada na detecção de tipos virais de alto risco oncológico (CLAVEL et al., 1998; SYRJÄNEN e SYRJÄNEN, 2000). Se por um lado a colpocitologia oncológica é clássica e apresenta margens de erro consideráveis que podem ocorrer desde a coleta, fixação, coloração ou leitura da lâmina, por outro lado, os métodos de detecção viral por biologia molecular são novos, caros e ainda sem eficácia comprovada. Quando se opta por uma ou outra destas duas metodologias no rastreamento e diagnóstico das lesões cervicais, notam-se diferenças de sensibilidade, especificidade e principalmente custos que não são iguais para todos os países ou para todas as situações clínicas.

Quando se avalia uma população de mulheres tratadas através da conização, parece oportuno analisar a capacidade da detecção viral a fim de predizer a recidiva da doença. O seguimento de mulheres após a conização oferece possibilidades muito diferentes, quando comparadas aos programas de rastreamento populacional. Neste caso, a maioria das pacientes, senão todas, apresentam a infecção por HPV anteriormente ao procedimento e a conização é

realizada para evitar o câncer invasor. A persistência da infecção viral parece ser o principal fator relacionado à presença de doença residual ou recidiva da NIC, independentemente das margens do cone. Entretanto, atualmente, nota-se na assistência médica a transferência muito rápida do conhecimento para a prática, sem uma determinação anterior da utilidade deste conhecimento.

Através da revisão da literatura, concluiu-se que ainda existe um desconhecimento sobre a utilidade máxima dos métodos morfológicos e biológicos em predizer a presença da neoplasia intra-epitelial cervical no seguimento de mulheres após a conização. Não somente falta definir o papel da CO e colposcopia, mas também mensurar o valor dos testes biomoleculares de detecção do DNA-HPV, sua tipagem e carga viral, durante o seguimento. Este estudo foi projetado para tentar compreender se: 1) a conização, quando se retira toda a lesão, trata apenas a alteração morfológica ou leva também ao desaparecimento do vírus 2) a detecção viral após a conização, associa-se com a presença de doença nas margens do cone ou com algum outro fator 3) a detecção de vírus de alto risco oncológico após a conização está associada a maior taxa de recidiva ou à doença residual.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a taxa de detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico antes e quatro a seis meses após a conização, em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical.

2.2. Objetivos específicos

1. Avaliar a taxa de detecção e a carga viral do DNA-HPV de alto risco oncológico antes da conização, segundo a gravidade da lesão cervical.

2. Comparar a taxa de detecção do DNA-HPV antes da conização e quatro a seis meses após, segundo a carga viral, o diagnóstico histológico do cone, as margens do cone e a idade.

3. Avaliar a relação entre a detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico após a conização e as alterações morfológicas da colpocitologia oncológica, da colposcopia e da histologia durante o seguimento.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Tipo de estudo

Este é um estudo clínico de coorte.

3.2. Seleção dos sujeitos

Foram selecionadas, consecutivamente, no Laboratório de Citopatologia do CAISM, as lâminas de 443 mulheres cujo resultado da colpocitologia oncológica apresentou alterações das células escamosas sugestivas de NIC 2 ou NIC 3, coletadas no período de maio de 2000 a dezembro de 2001. Foi encaminhada, junto com o resultado do exame, uma carta através da qual estas mulheres foram convidadas para serem atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM (Anexo 1). Também foi encaminhada uma carta explicativa do projeto de pesquisa ao profissional de saúde que atua no local onde foi realizada a coleta da CO (Anexo 2). Estas cartas foram enviadas pelo malote que transporta os resultados das colpocitologia oncológica para as Unidades Básicas de Saúde onde foram coletadas, através das quais as mulheres foram localizadas e contatadas.

Nestas cartas constavam duas datas possíveis para a consulta no CAISM, agendadas previamente. A mulher poderia escolher uma das duas datas para comparecer à consulta, de acordo com sua disponibilidade. As consultas foram realizadas entre fevereiro e dezembro de 2001, com seguimento realizado até maio de 2002.

3.2.1. Critérios de Inclusão

Foram incluídas 144 mulheres com colpocitologia oncológica sugestiva de NIC 2 ou NIC 3, que apresentaram morfologia do colo uterino e achados colposcópicos com condições técnicas para realização da conização por CAF, e cujo resultado histológico do cone foi compatível com neoplasia intra-epitelial cervical.

3.2.2. Critérios de Exclusão

Foram adotados como critérios de exclusão, mulheres com história anterior de eletrocoagulação, crioterapia ou conização, mulheres gestantes, lactantes, as sabidamente infectadas pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) ou com qualquer patologia que contra-indicasse a realização do procedimento ambulatorialmente.

Foram excluídas do estudo 23 mulheres: seis, porque foram submetidas à conização a frio devido ao fato de apresentarem colo uterino de dimensões pequenas e também por apresentarem alterações colposcópicas maiores de

grandes extensões, o que seria difícil a remoção de toda a lesão por CAF. Excluíram-se, ainda, duas mulheres que foram submetidas à cauterização por apresentarem CO NIC 2 e achados colposcópicos menores de extensão pequena que não necessitavam de CAF e 12 mulheres cuja colposcopia era normal e satisfatória que não apresentavam indicação de conização. Outras três foram excluídas por recusarem o tratamento (Figura 1).

3.2.3. Critérios de Descontinuação

Após a coleta dos exames e realização da conização por cirurgia de alta freqüência, nove mulheres foram descontinuadas da pesquisa por apresentarem diagnóstico histológico mais grave, sendo quatro casos de carcinoma escamoso microinvasor, dois casos de carcinoma escamoso invasor, dois casos de adenocarcinoma *in situ* e um caso de adenocarcinoma invasor. Outras sete mulheres em cujos espécimes cirúrgicos não foram detectadas lesões histológicas, retornaram com orientações ao serviço de origem. Entre as 20 mulheres cujo diagnóstico histológico do cone mostrou NIC 1 com margens livres, dez optaram por realizar o seguimento no serviço de origem, sendo enviada uma carta de contra-referência (Anexo 3). Desta forma, permaneceram 95 mulheres no estudo.

Entre as 95 mulheres que deram continuidade ao estudo, 78 (82%) retornaram para seguimento quatro a seis meses após a conização. Entre as 17 mulheres que não compareceram neste primeiro retorno, três retornaram em dez meses para controle. Entre estas mulheres faltosas, sete apresentavam NIC 2 no espécime cirúrgico, sendo uma com margens endocervical e

ectocervical comprometidas. Dez mulheres apresentavam NIC 3 no espécime cirúrgico, sendo que apenas uma apresentava ambas as margens do cone livres na avaliação histológica. A estas mulheres foi encaminhada uma carta de convocação com data marcada para retorno. (Anexo 4). Também foi notificada a Unidade Básica de Saúde de origem através de carta (Anexo 5) (Figura 1).

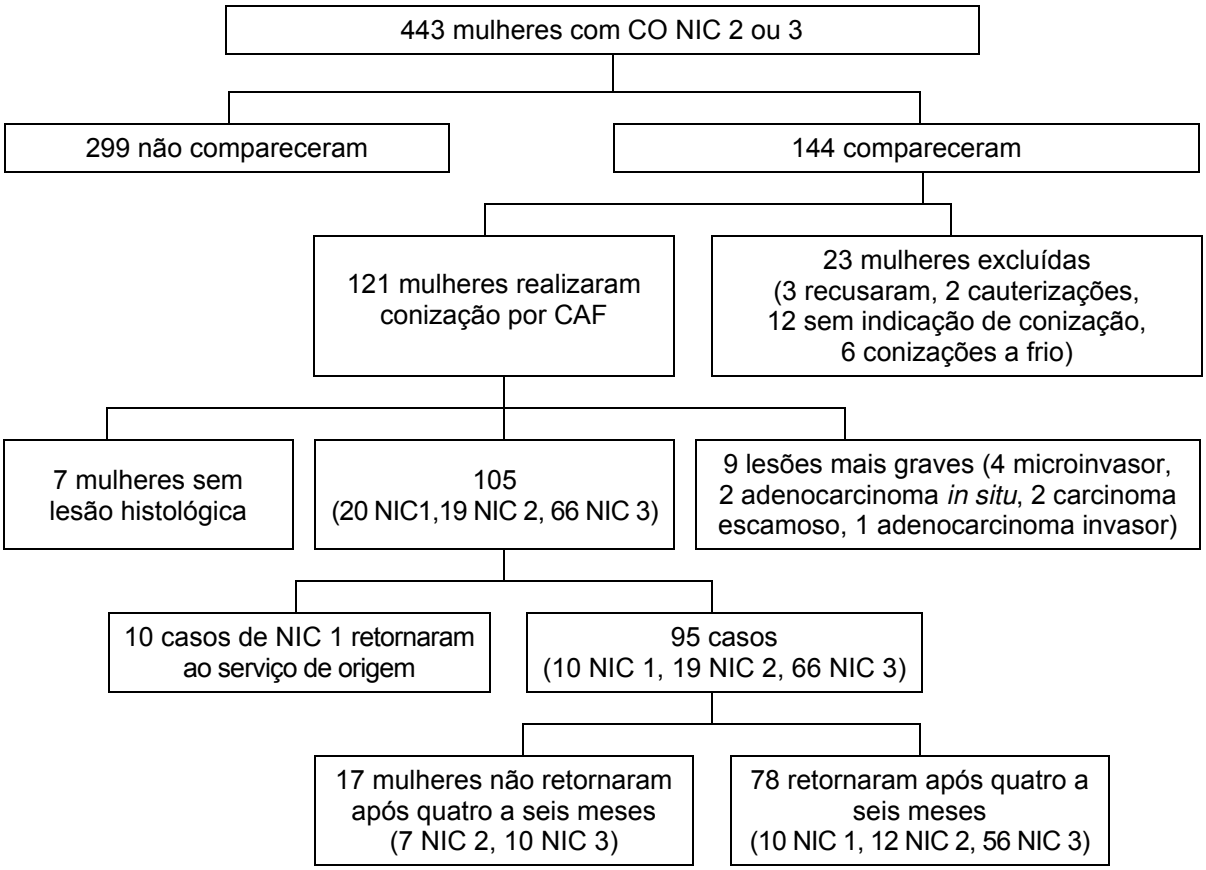

Figura 1. *Distribuição das mulheres incluídas no estudo.*

3.3. Coleta de dados

Neste estudo prospectivo, as pacientes foram atendidas, entrevistadas, examinadas e submetidas à conização. Todos os procedimentos diagnósticos, incluindo a coleta de CO, colposcopia, coleta de material para detecção do DNA-HPV por CH II e biópsias colpodirigidas, foram realizados no Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM, em dia especialmente reservado para este estudo. Anotou-se em um livro de controle o número da CO de encaminhamento, o nome da paciente, o dia marcado para a consulta e o seu comparecimento. Para as mulheres que compareceram, anotou-se o número do prontuário e colocou-se, em ordem de atendimento, um número na ficha pré-codificada, especialmente desenhada para este estudo (Anexo 6).

3.3.1. Procedimentos realizados na consulta

Após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 7), as mulheres responderam a um questionário e foram submetidas a exame ginecológico com inspeção dos genitais externos e região perianal. A seguir, uma espátula de Ayre e uma escova endocervical foram utilizadas para coleta de material da ectocérvice e da endocérvice para nova colpocitologia oncológica. Finalmente, realizou-se a colposcopia com ácido acético a 3% com observação de toda a zona de transformação. Quando a imagem colposcópica fosse sugestiva de ausência de lesão ou quando houvesse suspeita de invasão realizava-se biópsia colpodirigida.

Entre as 78 mulheres incluídas no estudo, 14 tinham sido submetidas à biópsia cervical no serviço de origem. No Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM, a biópsia do colo uterino sob visão colposcópica foi realizada em nove mulheres. Assim, 23 casos foram biopsiados previamente à conização, sendo que todos mantinham lesão residual na peça do cone.

Uma vez indicada a conização, o retorno da paciente era marcado para a primeira fase do ciclo menstrual. Em caso de irregularidade menstrual, um teste rápido de gravidez era realizado. Antes de se iniciar a conização por CAF era coletado material para detecção do DNA-HPV através da Captura Híbrida II.

Após a conização, as mulheres retornavam em 30 dias para o resultado histológico do cone, sendo posteriormente agendado um retorno entre quatro a seis meses para seguimento e conduta.

3.4. Definição dos métodos e conceitos

3.4.1. Colpocitologia oncológica

O esfregaço cervical foi constituído de amostras representativas do fundo de saco vaginal, ectocérvice e endocérvice. Este material foi avaliado pelo Laboratório de Citopatologia do CAISM. A coloração das lâminas foi realizada pelo método de Papanicolaou e foram avaliadas com base no Sistema de Bethesda (KURMAN & SALOMON, 1997):

- **Alterações inflamatórias**: alterações celulares inflamatórias não-induzidas pelo HPV.

- **Lesões escamosas pré-invasoras**:

  - ASCUS: alterações de células maduras com atipias escamosas de origem indeterminada.

  - NIC 1/HPV: alterações displásicas de células maduras de células superficiais e intermediárias.

  - NIC 2: alterações de células parabasais, imaturas.

  - NIC 3: alterações de células imaturas caracterizadas por núcleos alterados, cromatina grosseira e irregular, membrana nuclear espessa e irregular, presença de nucléolo, perda da coesão celular e citoplasma escasso. Inclui os casos antigamente classificados como displasia acentuada e carcinoma *in situ.*

  - **Atipias glandulares pré-invasoras**: considerando as alterações glandulares sugestivas de atipias indeterminadas e adenocarcinoma *in situ.*

  - **Carcinoma Invasor** (escamoso ou glandular): células atípicas com anisocitose e pleomorfismo acentuados resultando em células bizarras com anisocariose intensa, cromatina densa e nucléolos irregulares com associação de intenso processo inflamatório, necrose celular e/ou hemorragia.

3.4.2. Colposcopia

Foi realizada com aplicação de ácido acético a 3% e observação com colposcópio com luz branca e filtro verde, em aumentos de seis a 40 vezes.

As imagens colposcópicas encontradas foram classificadas conforme a Nomenclatura Internacional dos Achados Colposcópicos (STAFL e WILBANKS, 1991), descrita abaixo:

- **Achados colposcópicos normais:** epitélio escamoso normal (liso, róseo e sem traços característicos, originalmente estabelecidos sobre a cérvix e a vagina), epitélio colunar e zona de transformação (área estabelecida entre o epitélio escamoso original e o epitélio colunar) sem áreas suspeitas.

- **Achados colposcópicos anormais:** alterações dentro da zona de transformação, descritas como epitélio acetobranco* (plano ou micropapilar), pontilhado*, mosaico*, leucoplasia*, área de epitélio iodo negativa ou vasos atípicos. Estas alterações também são descritas da mesma forma fora da zona de transformação.

- **Suspeita colposcópica de câncer invasor franco.**

- **Insatisfatórios:** considerados os casos em que não se visualizou a junção escamo-colunar.

*** Indicam alterações menores ou maiores:** alterações menores correspondem ao epitélio acetobranco fino, mosaico fino, pontilhado fino ou leucoplasia fina. Alterações maiores correspondem ao epitélio acetobranco denso, mosaico grosseiro, pontilhado grosseiro, vasos atípicos e erosão.

Observação: O resultado da colposcopia foi categorizado em alterações colposcópicas menores, alterações colposcópicas maiores ou colposcopia insatisfatória.

3.4.3. Captura Híbrida II

Para a detecção da carga viral do HPV foi utilizado o exame de Captura Híbrida II (*Digene Diagnostic Inc.®*), obtendo-se o material através da utilização de uma escova estéril de *dacron* para aplicação no canal endocervical.

Após a coleta, o material, juntamente com a escova, foi depositado em um tubo com meio líquido específico e processado no Laboratório de Procedimentos Especializados do CAISM seguindo-se as instruções da *Digene Diagnostics Inc*. (EUA). Para classificar o resultado da captura de híbridos e quantificar a carga viral, utilizou-se um valor de corte diário *cut off*, sendo que amostras com emissão de luz maior que o ponto de corte foram consideradas positivas e aquelas com emissão de luz menor foram consideradas negativas. Nos casos positivos, foram identificadas as cargas virais medidas em unidades (*Relative Light Unit – RLU*) em quimioluminômetro, sendo que a intensidade da luz é proporcional à carga de DNA-HPV. Assim, quando os espécimes cuja relação RLU/*cut off* fosse maior que 1 o exame era considerado positivo e, caso contrário, o teste era considerado negativo. A unidade de 1 RLU corresponde a 1 pg/ml de DNA-HPV, equivalente a 0,1 cópia de vírus/célula. Estratificou-se a carga viral nas mulheres com exame positivo em quatro grupos, em escala logarítmica: 1-10; 11-100; 101-1000; > 1000 (LÖRINCZ et al., 2002). Neste estudo foram utilizadas somente sondas contendo DNA-HPV de alto risco oncológico – tipo 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 e 56 (SUN et al., 1995; LÖRINCZ et al., 2002).

3.4.4. Conização por cirurgia de alta freqüência (CAF)

A conização por cirurgia de alta freqüência foi realizada no Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM/UNICAMP. Utilizou-se um gerador de cirurgia de alta freqüência (modelo SS-200 da WEM) conectado a um aspirador de vapor com filtro biológico (*Wavevac* da Loktal). Utilizou-se para a realização da conização, o aparelho na forma monopolar, com energia de corte de 50-60 watts e energia de coagulação de 50 watts, mantendo o aparelho na forma *blend*. Para cauterização das bordas utilizou-se a energia de coagulação em 50-60 watts.

Foram utilizados espéculos de número 2 ou 3, recobertos de tinta epóxi para isolamento elétrico, envoltos por condom seccionado na extremidade para afastar as paredes vaginais, com pequeno cano em sua parede anterior para aspiração de fumaça, ligado ao aspirador biológico. Para o bloqueio anestésico utilizou-se seringa odontológica, acoplada a agulha gengival longa, 27G, sendo infiltrados de 0,4ml a 0,5ml de cloridrato de lidocaína a 2% com norepinefrina 1: 50.000 nos quatro pontos cardeais do colo uterino. Todas as conizações foram realizadas sob visão colposcópica, utilizando-se alças de tungstênio (*WEM®*), com dimensões de 15mm x 15mm, 20mm x 20mm ou 25mm x 15mm, e quando foi necessário o reforço endocervical, utilizou-se uma alça de 10mm x 10mm. Após o procedimento, foi realizada a cauterização das bordas cruentas para hemostasia com um eletrodo esférico de 5mm. A seguir, foi aplicada solução hemostática de percloreto férrico a 80%. Foram orientadas quanto à abstinência

sexual por 40 dias e a retornar ao ambulatório para resultado anatomopatológico e conduta.

Os espécimes cirúrgicos foram marcados às 12 horas com uma sutura e enviados para o Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) em recipientes contendo formol.

3.4.5. Diagnóstico histológico

Todo o material obtido para avaliação histológica incluindo biópsia e cone foi avaliado no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UNICAMP. Os cones foram analisados macroscopicamente com medidas da extensão, largura e profundidade, marcação da margem ectocervical com tinta nanquim preta e da margem endocervical com o corante azul de Alcian. Foram totalmente recortados e incluídos em parafina, sendo corados em hematoxilina-eosina. Além do diagnóstico histológico, o laudo da peça de conização forneceu informações sobre as margens cirúrgicas: livres, comprometidas ou próximas do epitélio atípico.

As lâminas foram avaliadas segundo critérios mais recentes da Organização Mundial de Saúde (OMS) descritos por SCULLY et al. (1994) e foram consideradas as seguintes categorias:

- Processo reacional, cervicite, metaplasia escamosa, neoplasia intra-epitelial cervical escamosa graus 1, 2 ou 3, neoplasia intra-epitelial glandular, adenocarcinoma *in situ*, carcinoma escamoso microinvasor,

adenocarcinoma invasor, carcinoma adenoescamoso invasor, carcinoma escamoso invasor e outras alterações.

3.5. Variáveis em estudo

3.5.1. Variáveis independentes

- **DNA-HPV através da CH II antes da conização:** categorizado em positivo ou negativo de acordo com a detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico.

- **Carga viral de DNA-HPV através da CH II antes da conização:** foi medida em unidades (*Relative Light Unit - RLU*) para quantificar o DNA-HPV, sendo considerados positivos os casos com carga viral igual ou maior que uma RLU e categorizados em: 1-10; 11-100; 101-1000; > 1000 RLU.

- **Diagnóstico histológico do cone:** classificado em neoplasia intra-epitelial grau 1 (NIC 1), neoplasia intra-epitelial grau 2 (NIC 2) e neoplasia intra-epitelial grau 3 (NIC 3).

- **Margens do cone:** classificadas em comprometidas, quando apresentaram atipias celulares na margem ectocervical e/ou endocervical, sendo avaliado o grau da lesão nas margens; livres, quando não apresentaram atipias celulares nas margens e, com artefatos, quando as margens do cone apresentaram artefatos térmicos (nenhum caso deste trabalho apresentou artefatos de margens que impedisse a avaliação histológica adequada).

- **Idade:** em anos completos no momento da conização, classificados em número contínuos e categorizados em maior ou menor de 40 anos.

3.5.2. Variáveis dependentes

- ****DNA-HPV através da CH II quatro a seis meses após a conização:** categorizado em positivo ou negativo de acordo com a detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico.

- ****Carga viral de DNA-HPV através da CH II quatro a seis meses após a conização:** foi medida em unidades (*Relative Light Unit - RLU*) para quantificar o DNA-HPV, sendo considerados positivos os casos com carga viral igual ou maior que uma RLU e categorizados em: 1-10; 11-100; 101-1000; > 1000 RLU.

- **Colposcopia quatro a seis meses após a conização:** categorizada em achado colposcópico menor, achado colposcópico maior ou colposcopia insatisfatória.

- **Colpocitologia oncológica quatro a seis meses após a conização:** categorizada em normal ou inflamatória, ou com atipias escamosas.

- **Diagnóstico histológico final quatro a seis meses após a conização:** categorizado em colo normal (incluindo cervicite e metaplasia) ou com neoplasia intra-epitelial graus 1, 2 ou 3.

** estas variáveis são também independentes quando as relacionamos com a colposcopia, colpocitologia oncológica e com o diagnóstico histológico final, realizado quatro a seis após a conização.

3.6. Processamento de dados

Todos as fichas foram ordenadas numericamente para arquivamento e foram codificados os resultados de exames para se criar um banco de dados.

Todas as informações foram digitadas em um programa *Excel®* para microcomputador. Após a digitação, foram realizadas tabelas descritivas para verificação da consistência dos dados para cada variável do estudo. Posteriormente, este banco de dados foi exportado para o programa SAS para análise estatística (SAS, 1996).

3.7. Análise Estatística

Para mensurar a associação entre a detecção do DNA-HPV antes e após a conização e o resultado histológico do cone, margens do cone e a carga viral, assim como a colpocitologia oncológica, colposcopia e histologia, utilizou-se o cálculo do *odds ratio* (OR) com intervalo de confiança a 95% (IC 95%). O cálculo do *odds* é a taxa de probabilidade de acontecer um evento comparada pela probabilidade deste evento não acontecer e é estimado pela taxa do número de vezes em que um evento ocorre pelo número de vezes em que não ocorre. O intervalo de confiança a 95% para o OR é obtido com um erro padrão de 1,96 em cada lado da estimativas. O OR é um quando não há relação entre as variáveis (BLAND e ALTMAN, 2000).

3.8. Aspectos Éticos

Os programas de controle de câncer do colo uterino têm basicamente duas finalidades: oferecer periodicamente a colpocitologia oncológica às mulheres e oferecer a propedêutica complementar para o diagnóstico e tratamento das

lesões neoplásicas cervicais pré-invasoras e invasoras. Este protocolo de pesquisa tem como finalidade principal o segundo objetivo descrito. A cirurgia de alta freqüência, apesar de ser uma técnica relativamente nova (PRENDIVILLE, 1989), mostra-se melhor no tratamento das lesões do colo uterino devido ao seu baixo custo, por ser realizada com anestesia local e por ser um procedimento rápido se comparado com a conização a frio.

Esta investigação exigiu a colaboração da paciente que teve que ser submetida a um exame ginecológico. No entanto, esta cooperação que possibilitou a coleta dos dados à pesquisa, não colocou a mulher sob risco, nem lhe criou inconveniente, excluindo-se o gasto de tempo e o transporte para o local. A pesquisa manteve o anonimato da mulher e a aceitação da paciente em participar do estudo incluiu também o direito de ser tratada e acompanhada por outro médico após o diagnóstico. A não aceitação na participação do estudo não implicou na perda dos direitos iniciais rotineiramente oferecidos pelo ambulatório. A participação da paciente foi realizada exclusivamente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 7). Foram cumpridas as recomendações do *Guiding Medical Doctors in Biomedical Research Involving Human Subjects* da Declaração de *Helsinki,* com as diversas modificações já ocorridas (DECLARAÇÃO DE HELSINKI, 1990).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

4. Resultados

Observou-se na Tabela 1 que, das 78 mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical na peça da conização, dez apresentavam NIC 1, 12 tinham NIC 2 e 56, NIC 3. A detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico foi positivo em 86% das mulheres e esteve significativamente associada com a presença de NIC 3.

TABELA 1

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A DETECÇÃO DO DNA-HPV ANTES DA CONIZAÇÃO E O RESULTADO HISTOLÓGICO DO CONE

RESULTADO HISTOLÓGICO DO CONE	DNA-HPV ANTES DA CONIZAÇÃO				OR	IC (95%)
	Positivo		Negativo			
	n	(%)	n	(%)		
NIC 1	6	(9)	4	(36)	Ref	
NIC 2	8	(12)	4	(36)	1,3	(0,2- 7,6)
NIC 3	53	(79)	3	(28)	11,8	(2,1-65,7)
TOTAL	67	(100)	11	(100)		

OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

Entre as 67 mulheres nas quais o DNA-HPV foi detectado antes da conização, a distribuição segundo a carga viral foi bastante heterogênea, independentemente do diagnóstico histológico do cone (Gráfico 1).

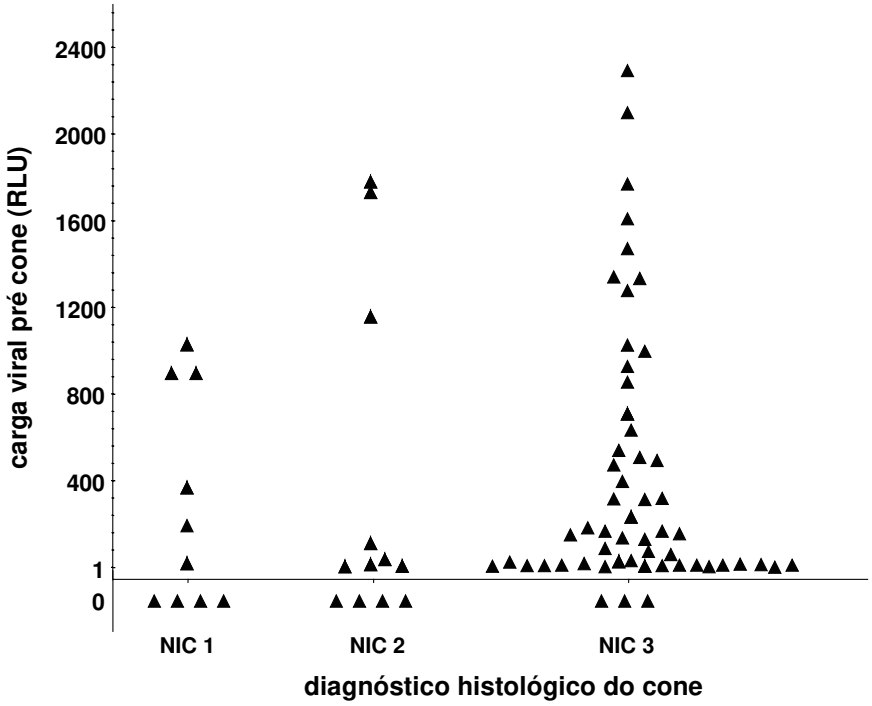

Gráfico 1. *Distribuição das mulheres segundo a carga viral (RLU) antes da conização e o diagnóstico histológico do cone.*

Observou-se na Tabela 2 que, entre as 67 mulheres nas quais inicialmente o DNA-HPV era detectável, apenas 22 mantiveram o exame alterado quatro a seis meses após a conização. Todas as mulheres nas quais a detecção do DNA-HPV era negativa mantiveram-se negativas.

TABELA 2

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A DETECÇÃO DO DNA-HPV ANTES DA CONIZAÇÃO E APÓS QUATRO A SEIS MESES

DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO	DNA-HPV ANTES DA CONIZAÇÃO			
	Positivo		Negativo	
	n	(%)	N	(%)
Negativo	45	(67)	11	(100)
Positivo	22	(33)	0	-
TOTAL	67	(100)	11	(100)

Quando se avaliou a detecção do DNA-HPV quatro a seis meses após a conização segundo a gravidade da lesão histológica no cone, observou-se que das 22 mulheres que mantiveram a carga viral positiva, 16 apresentavam lesão histológica compatível com NIC 3, três com NIC 2 e três com NIC 1, porém a CH II para DNA-HPV não se relacionou com a gravidade histológica da lesão (Tabela 3).

TABELA 3

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DO CONE E A DETECÇÃO DO DNA-HPV QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO

DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DO CONE	DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO				OR	IC (95%)
	Positivo		Negativo			
	n	(%)	n	(%)		
NIC 1	3	(14)	7	(13)	Ref	
NIC 2	3	(14)	9	(16)	0,8	(0,1-5,1)
NIC 3	16	(72)	40	(71)	0,9	(0,2-4,0)
TOTAL	22	(100)	56	(100)		

OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

Entre as mulheres com CH II positiva, a carga viral após a conização não se relacionou com o diagnóstico histológico do cone (Figura 2).

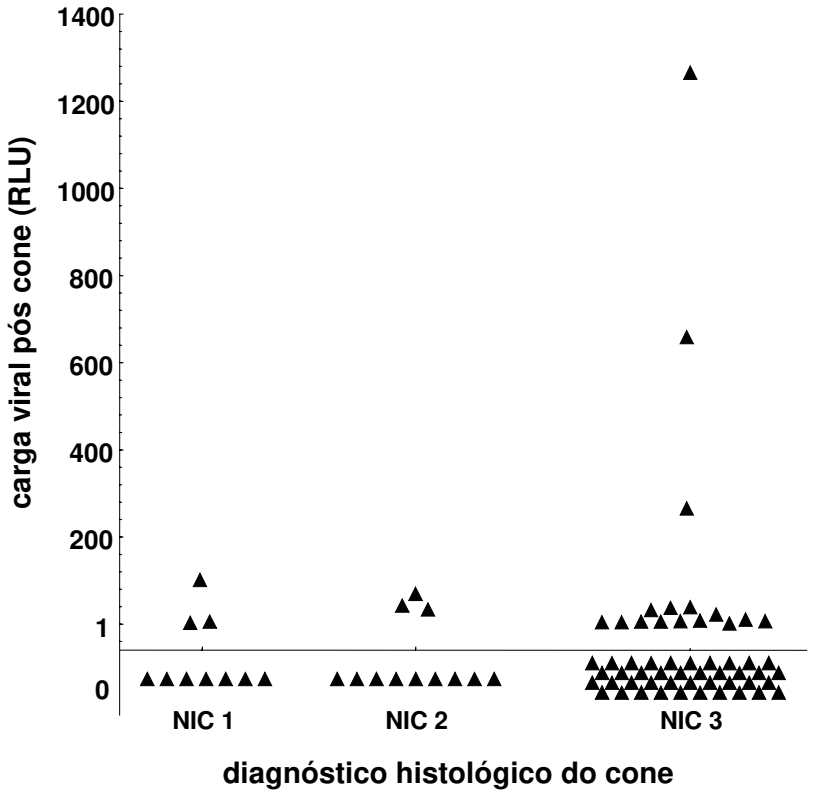

Gráfico 2. *Distribuição das mulheres segundo a carga viral quatro a seis meses após a conização e o diagnóstico histológico do cone.*

Observou-se na Tabela 4 que a carga viral antes da conização não esteve relacionada com a maior taxa de detecção viral quatro a seis meses após.

TABELA 4

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A CARGA VIRAL (RLU) ANTES DA CONIZAÇÃO E A DETECÇÃO DO DNA-HPV QUATRO A SEIS MESES APÓS

CARGA VIRAL ANTES DA CONIZAÇÃO (RLU)	DETECÇÃO DO DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO			
	Positivo		Negativo	
	n	(%)	n	(%)
< 1	0	(0)	11	(20)
> 1-10	30	(14)	10	(18)
> 10-100	7	(32)	7	(33)
> 100-1000	6	(28)	21	(37)
> 1000	6	(28)	7	(54)
TOTAL	22	(100)	56	(100)

Observou-se na Tabela 5 que 20 mulheres (26%) submetidas à conização apresentavam lesão histológica nas margens do cone. A detecção viral quatro a seis meses após a conização não esteve relacionada ao estado das margens do cone (OR= 2,8; IC 95%=1,0-8,3).

TABELA 5

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO AS MARGENS DO CONE E A DETECÇÃO DO DNA-HPV APÓS QUATRO A SEIS MESES

MARGENS DO CONE	DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO				OR	IC (95%)
	Positivo		Negativo			
	n	(%)	n	(%)		
Livres	13	(59)	45	(80)	Ref	
Comprometidas	9	(41)	11	(20)	2,8	(1,0-8,3)
TOTAL	22	(100)	56	(100)		

OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

A idade não esteve associada com a detecção do DNA-HPV quatro a seis meses após a conização (Tabela 6).

TABELA 6

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A DETECÇÃO DO DNA-HPV QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO E A IDADE

IDADE	DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO				OR	IC (95%)
	Positivo		Negativo			
	n	(%)	n	(%)		
≤40 anos	15	(68)	42	(75)	Ref	
>40 anos	7	(32)	14	(25)	1,4	(0,4-4,1)
TOTAL	22	(100)	56	(100)		

OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

Durante o seguimento, 26 mulheres apresentaram alterações morfológicas na colpocitologia oncológica. Uma mulher apresentou NIC 1, sete NIC 2, dez NIC 3, sete ASCUS e uma mulher apresentou CO sugestiva de invasão (Anexo 8). Na Tabela 7 pode-se observar que nas mulheres em que o DNA-HPV foi detectado após a conização, a taxa de alterações colpocitológicas foi significativamente maior (OR= 4,8; IC 95%= 1,7-13,7).

TABELA 7

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A DETECÇÃO DO DNA-HPV E O RESULTADO DA COLPOCITOLOGIA ONCOLÓGICA QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO

COLPOCITOLOGIA ONCOLÓGICA APÓS A CONIZAÇÃO	DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO				OR	IC (95%)
	Positivo		Negativo			
	n	(%)	n	(%)		
Normal ou inflamatória	9	(41)	43	(77)	Ref	
Atipia escamosa*	13	(59)	13	(59)	4,8	(1,7-13,7)
TOTAL	22	(100)	56	(100)		

*Atipia escamosa = alterações celulares sugestivas de ASCUS, NIC 1, NIC 2, NIC 3 ou suspeita de invasão
OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

Em relação à colposcopia realizada quatro a seis meses após a conização, não houve a associação entre a detecção do DNA-HPV e as alterações colposcópicas (OR= 3,3; IC 95%= 1,0-10,8) (Tabela 8).

TABELA 8

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A DETECÇÃO DO DNA-HPV E O RESULTADO DA COLPOSCOPIA QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO

COLPOSCOPIA	DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO				OR	IC (95%)
	Positivo		Negativo			
	n	(%)	n	(%)		
Normal ou alterações menores	15	(68)	49	(88)	Ref	
Alterações maiores	7	(32)	7	(12)	3,3	(1,0-10,8)
TOTAL	22	(100)	56	(100)		

OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

Na Tabela 9 pode-se observar que, das mulheres com CO alterada após a conização, duas foram submetidas à histerectomia total e seis à nova conização. Destas, quatro mulheres apresentaram doença residual no espécime cirúrgico (NIC 3) e quatro mulheres não apresentavam doença residual. E, entre as sete mulheres que realizaram biópsia, apenas duas apresentaram NIC 1.

TABELA 9

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A COLPOCITOLOGIA ONCOLÓGICA QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO E A CONDUTA

CONDUTA	COLPOCITOLOGIA ONCOLÓGICA APÓS QUATRO A SEIS MESES	
	Positiva	**Negativa**
Nova conização	6 (4 NIC 3; 2 cervicites)	0
Histerectomia	2 (2 cervicites)	0
Biópsia	3 (2 cervicites; 1 NIC 1)	4 (3 cervicites; 1 NIC 1)
Seguimento	15	48
TOTAL	26	52

Na Tabela 10 observou-se que nas mulheres em que o DNA-HPV manteve-se detectável após a conização não houve aumento de taxa de lesão histológica escamosa (OR= 6,0; IC 95% 0,8-52,3). Apenas quatro mulheres com CH II positiva apresentaram doença histológica. Por outro lado, entre as 56

mulheres nas quais o DNA-HPV não foi detectável, duas mulheres apresentaram lesão cervical histológica.

TABELA 10

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A DETECÇÃO DO DNA-HPV QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO E O RESULTADO HISTOLÓGICO FINAL DURANTE O SEGUIMENTO

DIAGNÓSTICO FINAL	DNA-HPV APÓS A CONIZAÇÃO				OR	IC (95%)
	Positivo		Negativo			
	n	(%)	n	(%)		
Colo normal*	18	(82)	54	(96)	Ref	
NIC	4	(18)	2	(4)	6,0	(0,8-52,3)
TOTAL	22	(100)	56	(100)		

*Colo normal= colposcopia normal ou com alterações menores ou biópsia com cervicite ou metaplasia
NIC= NIC1, NIC 2 ou NIC 3.
OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

A presença de atipias escamosas na CO esteve significativamente associada com o aumento da taxa de alterações histológicas (OR= 12,4; IC 95% 1,2- 292,1). Observa-se, entretanto, que apenas cinco das 26 mulheres com alterações colpocitológicas apresentaram alterações histológicas (Tabela 11).

TABELA 11

DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES SEGUNDO A COLPOCITOLOGIA ONCOLÓGICA QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO E O RESULTADO HISTOLÓGICO FINAL DURANTE O SEGUIMENTO

DIAGNÓSTICO FINAL	COLPOCITOLOGIA ONCOLÓGICA APÓS QUATRO A SEIS MESES				OR	IC (95%)
	Atipia escamosa**		Normal			
	n	(%)	n	(%)		
Colo normal*	21	(82)	51	(96)	Ref	
NIC	5	(18)	1	(4)	12,4	(1,2-292,1)
TOTAL	26	(100)	52	(100)		

*Colo normal= colposcopia normal ou com alterações menores ou biópsia com cervicite ou metaplasia NIC= NIC1, NIC 2 ou NIC 3

**Atipia escamosa = alterações celulares sugestivas de ASCUS, NIC 1, NIC 2, NIC 3 ou suspeita de invasão

OR= *odds ratio,* IC 95%=intervalo de confiança a 95%

No Quadro 1 pode-se avaliar a distribuição das mulheres cujo DNA-HPV manteve-se detectável quatro a seis meses após a conização, segundo a idade, diagnóstico histológico e margens do cone, carga viral antes e após a conização, resultado da CO e diagnóstico histológico após a conização. Observou-se que entre as 22 mulheres nas quais o DNA-HPV manteve-se detectável quatro a seis meses após a conização, a carga viral foi menor que aquela observada antes da conização, em 14 casos. Em duas mulheres a carga viral manteve-se com valores próximos e em seis mulheres a carga viral foi maior.

QUADRO 1

DESCRIÇÃO DAS MULHERES QUE MANTIVERAM A CARGA VIRAL POSITIVA QUATRO A SEIS MESES APÓS A CONIZAÇÃO

Caso	Idade	Diagnóstico do cone	Margens do cone	RLU antes da conização	RLU após a conização	CO após a conização	Diagnóstico após conização
10	44	NIC 3	Livres	73	7	NIC 3	Cervicite
16	28	NIC 3	Livres	2098	8	Inflamatória	Colo normal
21	39	NIC 3	NIC 3	1341	266	NIC 2	NIC 3
41	43	NIC 3	NIC 3	707	39	NIC 3	Cervicite
43	33	NIC 3	NIC 3	2293	10	NIC 2	Colo normal
45	38	NIC 3	Livres	12	37	NIC 3	Cervicite
48	48	NIC 3	NIC 3	60	6	Microinvasor	NIC 3
58	39	NIC 3	NIC 3	1277	4	Inflamatória	Colo normal
64	35	NIC 1	Livres	367	3	NIC 2	Colo normal
79	26	NIC 2	Livres	13	33	Inflamatória	Colo normal
85	36	NIC 3	NIC 3	1334	1266	NIC 3	NIC 3
90	37	NIC 3	NIC 2	6	2	NIC 1	Colo normal
97	27	NIC 2	Livres	6	70	Inflamatória	Colo normal
104	45	NIC 3	NIC 3	12	4	NIC3	Colo normal
108	20	NIC 1	Livres	18	101	Inflamatória	Colo normal
115	44	NIC 3	NIC 3	507	32	NIC3	Colo normal
116	30	NIC 3	Livres	708	22	Normal	Colo normal
131	36	NIC 3	Livres	1769	7	NIC 2	Colo normal
137	29	NIC 3	Livres	186	658	Inflamatória	Colo normal
140	39	NIC 2	Livres	36	43	Normal	Colo normal
141	46	NIC 1	Livres	894	5	Inflamatória	Colo normal
143	45	NIC 3	Livres	7	6	NIC 3	NIC 3

Colo normal= colposcopia normal ou com alterações menores ou biópsia com cervicite ou metaplasia

5. Discussão

Observou-se neste estudo que a detecção do DNA-HPV de alto risco oncológico diminui quatro a seis meses após a conização por CAF no tratamento da NIC, e que a detecção do DNA-HPV antes da conização esteve significativamente associada com a presença de NIC 3 no cone. A carga viral antes da conização, o estado das margens do cone assim como a idade, não estiveram significativamente relacionados com o desaparecimento do vírus após a conização. Também foi observado que a detecção do DNA-HPV após a conização e as alterações escamosas na colpocitologia oncológica estiveram significativamente relacionadas, não havendo porém associação entre a presença do DNA-HPV e a doença histológica quatro a seis meses após a conização.

Pôde-se observar que em mulheres tratadas através da conização, a detecção do DNA-HPV após quatro a seis meses não foi associada a maior taxa de lesão histológica escamosa no colo residual, sendo que, entre as 22 mulheres com DNA-HPV detectável, apenas quatro apresentaram lesão histológica.

ELFGREN et al. (1996) demonstraram que o DNA-HPV e os níveis de anticorpos, especialmente a antiglobulina A, apresentam um declínio significativo após o tratamento eficiente, sugerindo que a conização pode ser efetiva para o desaparecimento viral. Os autores demonstraram que de 23 mulheres submetidas à conização por NIC, 18 apresentavam DNA-HPV de alto risco oncológico detectável antes da conização. Dessas, quatro mulheres mantiveram DNA-HPV detectável após a conização e apresentaram recidiva em 16 a 27 meses. Na continuação desse estudo, ELFGREN et al. (2000) concluem que em todas as mulheres que não apresentaram recidiva, o DNA-HPV não era detectável, embora apenas 50% das mulheres com DNA-HPV presente, apresentassem doença histológica.

No presente estudo, a alta carga viral antes da conização não esteve relacionada com a detecção do DNA-HPV após a conização, embora a maior parte das mulheres nas quais o DNA-HPV após o procedimento foi detectável, apresentassem uma carga viral menor do que aquela encontrada antes da conização. Observou-se também que, entre as 11 mulheres nas quais não se detectou o DNA-HPV antes da conização, também não mantiveram o DNA-HPV detectável após quatro a seis meses. Esse fato pode ser explicado pela presença de tipos virais não incluídos na CH II devido as partículas virais estarem integradas ao genoma e, assim, não serem detectáveis no meio cervical ou pela carga viral muito baixa, considerada negativa com o ponto de corte de 1,0 pg/ml. Também foi observado (Anexo 8) que nenhuma destas

mulheres apresentou doença histológica após a conização, embora duas tivessem alterações colpocitológicas sugestivas de ASCUS.

Observou-se também que a presença de doença nas margens do cone não esteve significativamente associada com a detecção do DNA-HPV durante o seguimento. PARASKEVAIDIS et al. (2001), comparando mulheres com ou sem recidiva da NIC, encontraram que a recidiva em cinco anos foi independente da presença de doença nas margens do cone e apenas associado com a positividade do DNA-HPV. Os autores, entretanto, não avaliaram se os casos com margens comprometidas apresentavam maior taxa de detecção viral após a conização, quando comparado com mulheres cujos cones apresentavam margens livres.

Embora exista uma correlação evidente entre a detecção do DNA-HPV e as alterações colpocitológicas escamosas encontradas no esfregaço cervical, neste estudo foi observado que em 50% das mulheres com alterações morfológicas da CO no seguimento após a conização, o DNA-HPV não foi detectado. Pôde-se observar também que a presença de alterações morfológicas detectadas pela CO, quatro a seis meses após a conização, também esteve associada a maior taxa de alterações histológicas no colo uterino, sendo que as alterações colposcópicas não influenciaram na detecção de lesões histológicas residuais.

Os achados colpocitológicos anormais durante o seguimento de mulheres submetidas à conização são indicadores sensíveis de doença residual no colo uterino (ABDUL-KARIM e NUNEZ, 1985; BUXTON et al., 1987; WHITE et al.,

1993; SCHERMEHORN et al., 1997). BUXTON et al. (1987) demonstraram que nenhuma entre 34 pacientes submetidas à conização, cuja colpocitologia oncológica no seguimento era normal, apresentou doença residual e que mais da metade (57%) das portadoras de doença residual, tinham achados colpocitológicos anormais. Por outro lado, observou-se que os resultados da CO apresentaram uma taxa de falso-positivo em 12 das 28 pacientes (43%), concluindo-se que a colpocitologia oncológica e colposcopia, apesar da serem métodos comumente utilizados no seguimento de mulheres tratadas com conização, apresentam limitações à aplicabilidade clínica.

PARASKEVAIDIS et al. (2001), em estudo caso-controle, compararam 41 mulheres com recidiva da NIC em um seguimento de cinco anos após a conização com 82 mulheres sem recidiva. Concluíram que a detecção do DNA-HPV no primeiro controle após a conização mostrou uma associação significativa com a recidiva, sendo que o DNA-HPV foi detectável em 90% das mulheres com recidiva e em 13% daquelas que se mantiveram livres de doença, conferindo ao teste de DNA-HPV uma sensibilidade de 93%, especificidade de 84%, razão de verossimilhança positiva de 5,8 e razão de verossimilhança negativa de 0,08, quando comparado à sensibilidade de 49% para a colpocitologia oncológica, que apresentou especificidade de 78% e razões de verossimilhança positivas e negativas de 1,8 e 0,78, respectivamente. Para os autores, um teste de DNA-HPV positivo no primeiro retorno é o principal fator preditivo de recidiva da doença.

Em estudo caso-controle, CRUICKSHANK et al. (2002) compararam mulheres tratadas por NIC que não apresentaram doença recidivada no período mínimo de cinco anos, com mulheres que apresentaram recidiva confirmada histologicamente. Concluem que a detecção de DNA-HPV 16 e 18 conferiu um risco 8 vezes maior de apresentar a recidiva da NIC.

Entretanto, antes de considerar as implicações dos resultados deste estudo é importante considerar suas limitações. O primeiro aspecto relevante é que por mais que as pacientes estivessem cientes do tratamento da NIC através da conização por CAF e da necessidade de retornos sucessivos, 17 mulheres não voltaram para seguimento. Assim, fica sempre controverso algum estudo relacionado com o seguimento após a conização. Entre as 17 mulheres que não compareceram ao retorno, 10 tinham margens do cone comprometidas. Não se pode afirmar que o resultado da CH II e da CO sejam semelhantes nestas mulheres e no grupo avaliado, sendo que a inclusão destes casos poderia alterar ou não a significância do comprometimento das margens como fator associado à detecção do DNA-HPV no seguimento após a conização. Por outro lado, a falta de controle rigoroso destas mulheres no seguimento deixa os pesquisadores angustiados frente a uma conduta conservadora e expectante em mulheres com NIC 3 e margens comprometidas. Apesar de se considerar primordial a responsabilidade da própria paciente frente ao seu tratamento, não se pode deixar de pensar que o tratamento clássico, que inclui a histerectomia em mulheres com NIC 3 e margens comprometidas, possa ainda ter seu espaço na prevenção do câncer invasor.

Outro aspecto a ser considerado é, que em quatro a seis meses após uma conização por NIC, as alterações colpocitológicas apresentam uma relação significativa com a presença de doença histológica residual. Deve-se considerar que o tempo determinado de quatro a seis meses, além de não ser muito preciso, pode ser considerado curto frente aos processos cicatriciais ainda ativos no colo do útero, levando a muitos erros de interpretação diagnóstica da CO. Assim, várias questões ficam em aberto com os resultados deste trabalho.

Esta é apenas parte da linha de pesquisa relacionada com a detecção viral no seguimento de mulheres submetidas à conização por CAF no tratamento da NIC. Além de ter incluído um maior número de mulheres, todas as pacientes envolvidas neste estudo e que retornaram estão sendo acompanhadas com CH II, CO e colposcopia durante 10 a 12 meses e 20 a 24 meses, respectivamente. Pretende-se manter seu seguimento por cinco anos e, com a continuação deste seguimento, pretendemos contribuir para a definição do real papel da CH II como fator preditivo da recidiva da NIC em mulheres tratadas com conização por CAF.

6. Conclusões

O DNA-HPV de alto risco oncológico foi detectado antes da conização em 86% das mulheres estudadas e a neoplasia intra-epitelial cervical grau 3 esteve associada com a taxa de detecção viral. A distribuição segundo a carga viral foi semelhante em mulheres com NIC1, NIC 2 ou NIC 3 e foi heterogênea em cada grupo diagnóstico.

Apenas 33% das mulheres, nas quais inicialmente detectou-se DNA-HPV de alto risco oncológico, mantiveram o vírus quatro a seis meses após a conização. Todas as mulheres em que não se detectou o DNA-HPV antes da conização permaneceram com CH II negativa durante o seguimento.

A detecção do DNA-HPV após a conização não se relacionou com a carga viral antes da conização, com a gravidade da lesão cervical histológica, com a presença de doença nas margens do cone ou com a idade.

A detecção do DNA-HPV foi significativamente maior em mulheres que apresentaram alterações colpocitológicas, quatro a seis meses após a conização.

As alterações colpocitológicas estiveram significativamente associadas com a presença de neoplasia intra-epitelial cervical histológica quatro a seis meses após a conização, porém a detecção viral não se relacionou com a presença da NIC neste período.

7. Referências Bibliográficas

ABDUL-KARIM, F.W.; NUNEZ, C. Cervical intraepithelial neoplasia after conization: a study of 522 consecutive cervical cones. ***Obstet Gynecol*** *65*:77-81, 1985.

ACLADIOUS, N.N.; SUTTON, C.; MANDAL, D.; HOPKINS, R.; ZAKLAMA, M.; KITCHENER, H. Persistent human papillomavirus infection and smoking increase risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). ***Int J Cancer*** *98*:435-9, 2002.

ALVES, V.A.F. Hibridização molecular de ácido nucléico para detecção de DNA de papilomavírus. In: XII CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CITOPATOLOGIA, LIBRO DE RESUMENES, 1996. v.2.p.63-70.

BAGGISH, M.S.; BARASH, F.; NOEL, Y.; BROOKS, M. Comparison of thermal injury zones in loop electrical and laser cervical excisional conization. ***Am J Obstet Gynecol*** *166*:545-8, 1992.

BLAND, J.M.; ALTMAN, D.G. Statistic notes: the odds ratio. ***BMJ*** *320*:1468, 2000.

BOLLEN, L.J.; TJONG-A-HUNG, S.P.; van der VELDEN, J.; MOL, B.W.; KATE, F.W.; ter SCHEGGET, J. et al. Prediction of recurrent and residual cervical dysplasia by human papillomavirus detection among patients with abnormal cytology. ***Gynecol Oncol*** *72*:1999-2001, 1999.

BUXTON, E.J.; LUESLEY, D.M.; WADE-EVANS, T.; JORDAN, J.A. Residual disease cone biopsy: completeness of excision and follow-up cytology as predictive factors. ***Obstet Gynecol*** *70*:529-32, 1987.

CLAVEL, C.; MASSURE, M.; PUTAUD, I.; THOMAS, K.; BORY, J.P.; GABRIEL, R. et al. Hybrid Capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with Hybrid Capture I and PCR results in cervical lesions. ***J Clin Pathol*** *51*:737-40, 1998.

CLAVEL, C.; MASURE, M.; LEVERT, M.; PUTAUD, I.; MANGEONJEAN, C.; LORENZATO, M. et al. Human papillomavirus detection by hybrid capture II assay: a reliable test to select women with normal cervical smears at risk for developing cervical lesions. ***Diagn Mol Pathol*** *9*:145-50, 2000.

CHUA, K.L.; HJERPE, A. Human papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri. ***Gynecol Oncol*** *66*:108-13, 1997.

COSTA, S.; DE NUZZO, M.; INFANTE, F.E.; BONAVITA, B.; MARINELLI, M.; RUBINO, A. Disease persistence in patients with cervical intraepithelial neoplasia undergoing electrosurgical conization. ***Gynecol Oncol*** *85*:119-24, 2002.

CRUICKSHANK, M.E.; SHARP, L.; CHAMBERS, G.; SMART, L.; MURRAY, G. Persistent infection with human papillomavirus following the successful treatment of high grade cervical intraepithelial neoplasia. ***BJOG,*** *109*:579-81, 2002.

CUZICK, J.; TERRY, G.; HO, L.; HOLLINGWORTH, T.; ANDERSON, M. Type-specific human Papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. ***Br J Cancer*** 69: 167-71, 1994.

DECLARAÇÃO de HELSINKI - Recomendaciones para guiar los medicos en la investigacion biomedica en seres humanos ***Bol Of Sanit Panam 108*** (5-6): 626-37, 1990.

DERCHAIN, S.F.M.; SANTOS, C.C.; TEIXEIRA, J.C.; ARAUJO, S.F.; COSTA, A.M. Neoplasia intra-epitelial cervical grau III: epidemiologia, diagnóstico e tratamento. ***Rev Bras Ginecol Obstet*** *3*:78-84, 1992.

DERCHAIN, S.F.M.; ROTELI-MARTINS, C.M.; SYRJÄNEN, K.J.; ABREU, H.J.; MARTINEZ, E.Z.; ALVES, V.A.F. Association of oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2 ou 3): the role of cigarette smoking. ***Sex Trans Inf*** *75*:406-8, 1999.

DISTEFANO, A.L.; PICCONI, M.A.; ALONIO, L.V.; DALBERT, D.; MURAL, J.; BARTT, O. Persistence of human papillomavirus DNA in cervical lesions after treatment with diathermic large loop excision. ***Infect Dis Obstet Gynecol*** *6*:214-9, 1998.

DOBBS, S.P.; ASMUSSEN, T.; NUNNS, D.; HOLLINGWORTH, J.; BROWN, L.J.R.; IRELAND, D. – Does histological incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia following large loop excision of transformation zone increase recurrence rates? A six year cytological follow up. ***Br J Obstet Gynecol*** *107*:1298-301, 2000.

DUGGAN, B.D.; FELIX, J.C.; MUDERSPACH, L.I.; GEBHARDT, J.A.; GROSHEN, S.; MORROW, C.P. Cold-knife conization versus conization by the loop electrosurgical excision procedure: a randomized, prospective study. ***Am J Obstet Gynecol*** *180*: 276-82, 1999.

EDUARDO, A.M.; DINH, T.V.; HANNIGAN, E.V.; YANDELL, R.B.; SCHNADIG, V.J. Outpatient loop electrosurgical excision procedure for cervical intraepithelial neoplasia. Can it replace cold knife conization? ***J Reprod Med*** *41*:729-32, 1996.

ELFGREN, K.; BISTOLETTI, P.; DILLNER, L.; WALBOOMERS, J.M.M.; MEIJER, C.J.L.M.; DILLNER, J. Conization for cervical intraepithelial neoplasia is followed by disappearance of human papillomavirus deoxiribonucleic acid and a decline in serum and cervical mucus antibodies against papillomavirus antigens. ***Am J Obstet Gynecol*** *174*:397-42, 1996.

ELFGREN, K.; KALANTARI, M.; MOBERGER, B.; HAGMAR, B.; DILLNER, J. A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. ***Am J Obstet Gynecol*** *183*:561-7, 2000.

ELUF-NETO, J. Human papillomavirus and invasive cancer in Brazil. ***Br J Cancer*** *69*:114-9, 1994.

FELIX, J.C.; MUDERSPACH, L.I.; DUGGAN, B.D.; ROMAN, L.D. The significance of positive margins in loop electrosurgical cone biopsies. ***Obstet Gynecol*** *84*:996-1000, 1994.

FERENCZY, A. Viral testing for genital human papillomavirus infections: recent progress and clinical potentials. ***Int J Gynecol Cancer*** *5*:321-8, 1995.

FERRIS, D.G. Triage of women with ASCUS and LSIL on Pap smear reports: Management by repeat Pap smear, HPV DNA testing, or Colposcopy? ***J Farm Pract*** *46*:125-34, 1998.

GARDEIL, F.; BARRY-WALSH, C.; PRENDIVILLE, W.; CLINCH, J.; TURNER, M.J. Persistent intraepithelial neoplasia after excision for cervical intraepithelial neoplasia grade III. ***Obstet Gynecol*** *89*:419-22, 1997.

GISSMANN, L.; ZUR HAUSEN, H. Human papillomavirus DNA: physical mapping and genetic heterogeneity. ***Proc Natl Acad Sci USA*** *73*:1310-3, 1976.

HERRERO, R.; BRINTON, L.A.; REEVES, W.C.; BRENES, M.M.; TENORIO, F.; BRITTON, R.C. et al. Risk factors for invasive carcinoma of the uterine cervix in Latin America. ***Bull Pan Am Health Organ*** *24*:263, 1990.

HO, G.Y.F.; BURK, R.D.; KLEIN, S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. ***J Natl Cancer Inst*** 187:1365-71, 1995.

HULMAN, G.; PICKLES, C.J.; GIE, C.A.; DOWLING, F.M.; STOCKS, P.J.; DIXON, R. Frequency of cervical intraepithelial neoplasia following large loop excision of the transformation zone. ***J. Clin Pathol*** *51*:375-7, 1998.

IZUMI, T.; KYUSHIMA, N.; GENDA, T.; KOBAYASHI, N.; KANAI, T.; WAKITA, K. et al. Margin clearance and HPV infection do not influence the cure rates of early neoplasia of the uterine cervix by laser conization. ***Eur J Gynaecol Oncol*** 21*:*251-4, 2000.

JOHNSTON, C. Quantitative tests for human papillomavirus. ***Lancet,*** *55*:2179-80, 2000.

JOSEFSSON, A.M.; MAGNUSSON, P.K.; YLITALO, N.; SORENSEN, P.; QWARFORTH-TUBBIN, P.; ANDERSEN, P.K. Viral load of human papillomavirus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in *situ*: a nested case control study. ***Lancet*** *355*:2189-93, 2000.

KANAMORI, Y.; KIGAWA, J.; MINAGAWA, Y.; IRIE, T.; OISHI, T.; ITAMOCHI, H. Residual disease and presence of human papillomavirus after conization. ***Oncology*** *55*:517-20, 1998.

KJELLBERG, L.; WADELL, G.; BERGMAN, F.; ISAKSSON, M.; ANGSTRON, T.; DILLNER, J. – Regular disappearance of human papillomavirus genome after conization of cervical dysplasia by carbon dioxide laser. ***Am J Obstet Gynecol*** *183*:1238-42, 2000.

KUCERA, E.; SLIUTZ, G.; CZERWENKA, K.; BREITENECKER, G.; LEODOLTER, S.; REINTHALLER, A. Is high-risk human papillomavirus infection associated with cervical intraepithelial neoplasia eliminated after conization by large loop excision of the transformation zone? ***Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*** *100*:72-6, 2001.

KURMAN, R.J.; SALOMON, D. **O Sistema Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cervicovaginal.** Ed. Revinter, 1997.

LAPAQUETTE, T.K.; DINH, T.V.; HANNINGAN, E.V.; DOHERTY, M.G.; YANDELL,R.B.; BUCHANAN, V.S. Management of patients with positive cone margins after cervical conization. ***Obstet Gynecol*** *82*:440-3, 1993.

LIN, C.T.; TSENG, C.J.; LAI, C.H.; HSUEH, S.; HUANG, K.G.; HUANG, H.J.; Value of human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing after conization in the prediction of residual disease in the subsequent hysterectomy specimen. ***Am J Obstet Gynecol*** *184*:940-5, 2001.

LIZARD, G.; ROIGNOT, P.; BRUNET-LECOMTE, P.; CHARDONNET, Y. Morphological analysis of in situ hybridization signals in cervical intraepithelial neoplasia containing human papillomavirus type 16 or 18: relationship with histological grade and DNA content. ***Cytometry*** *34*:180-6, 1998.

LÖRINCZ, A.T.; REID, R.; JENSON, A.B.; GREENBERG, M.D.; LANCASTER, W.; KURMAN, R.J. Human Papillomavirus infection of the cervix: relative risk association of 15 common anogenital types. ***Obstet Gynecol*** *79*:328-37, 1992.

LÖRINCZ, A.T. Methods of DNA hybridization and their clinical applicability to human papillomavirus detection. In: FRANCO, E.; MONSONEGO, J – **New developments in cervical cancer screening and prevention.** Blackwell Science, 1997. p.325-37.

LÖRINCZ, A.T.; CASTLE, P.E.; SHERMAN, M.E.; SCOTT, D.R.; GLASS, G.; WACHOLDER, S. et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN 3 or cervical cancer. ***Lancet*** 360:288-9, 2002.

MATHEVET, P.; DARGENT, D.; ROY, M.; BEAU, G. A randomized prospective study comparing three techniques of conization: cold knife, laser and leep. ***Gynecol Oncol*** *54*:175-9, 1994.

MILOJKOVIC, M. Residual and recurrent lesions after conization for cervical intraepithelial neoplasia grade 3. ***Int J Gynaecol Obstet*** 76:49-53, 2002.

NARDUCCI, F.; OCCELLI, B.; BOMAN, F.; VINATIER, D.; LEROY, J.L. Positive, margins after conization and risk of persistent lesion. ***Gynecol Oncol*** 76:311-4, 2000.

PARASKEVAIDIS, E.; LOLIS, E.D.; KOLIOPOULOS, G.; ALAMANOS, Y.; FOTIOU, S.; KITCHENER, H.C. Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after large loop excision with clear margins. ***Obstet Gynecol*** 95:828-31, 2000.

PARASKEVAIDIS, E.; KOLIOPOULOS, G.; ALAMANOS, Y.; MALAMOU-MITSI, V.; LOLIS, E.D.; KITCHENER, H.C. – Human papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia. ***Obstet Gynecol*** *98*:833-6, 2001

PRENDIVILLE, W.; CULLIMORE, J.; NORMAN, S. – Large loop excision of the transformation zone (LLETZ). A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia. ***Br J Obstet Gynecol*** *96*:1054-60, 1989.

SAS – **Statistical analysis system**, release 8.0. Cary, SAS Institute Inc., 1996.

SCHERMERHORN, T.J.; HODGE, J.; SALTZMAN, A.K.; HACKETT, T.E.; SPRANCE, H.E.; HARRISON, T.A. – Clinicopathologic variables predictive of residual dysplasia after cervical conization. ***J Reprod Med*** *42*:189-92, 1997.

SCHIFFMAN, M.H. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia**. *J Natl Cancer Inst*** *85*:958-64, 1993.

SCULLY, R.E.; BONFIGLIO T.A.; KURMAN, R.I.; SILVERBERG, S.G.; WILKINS, E.J. Histological typing of female genital tract tumors. – **World Health Organization** - International histological classification of tumors. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag, 1994.

STAFL, A.; WILBANKS, G.D. An international terminology of colposcopy: report of the Nomenclature Committee of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy. ***Obstet Gynecol*** *77*:313-4, 1991.

STRAND, A. ; WILANDER, E.; ZEHBE, I.; RYLANDER, E. High risk HPV persists after treatment of genital papillomavirus infection but not after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. ***Acta Obstet Gynecol Scand*** *76*:140-4, 1997.

SUN, X.W.; FERENCZY, A .; JOHNSON, D.; KOULOS, J.P.; LUNGU, O.; RICHART, R.M. et al. Evaluation of the hybrid capture human papillomavirus deoxyribonucleic detection test. ***Am J Obstet Gynecol*** 173:1432-7,1995.

SUN, C.A.; LAI, H.; CHANG, C.; NIEH, S.; YU, C.P.; CHU, T.Y. The significance of human papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix. ***Gynecol Oncol*** *52*:95-9, 2001.

SUN, C.A .; LIU, J.F.; WU, D.M.; NIEH, S.; YU, C.P.; CHU, T.Y. Viral load of high-risk papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. ***Int J Obstet Gynecol*** *76*:41-7, 2002.

SYRJÄNEN, K.J.; SYRJÄNEN, S.M. **Papillomavirus infections in human pathology**. Chichester: John Wiley & Sons LTD, 2000. 615p

TAHA, N.S.A .; FOCCHI, J.; RIBALTA, J.C.L.; STÁVALE, J.N.; das DORES, G.B.; LIMA, G.R. Avaliação do grau e da extensão das alterações térmicas produzidas pela cirurgia de alta freqüência no colo uterino. ***Rev Bras Ginecol Obstet*** *23*:47-51, 2001.

TATE, J.E.; RESNICK, M.; SHEET, E.E.; CRUM, C.P. Absence of papillomavirus DNA in normal tissue adjacent to cervical intraepithelial neoplasms. ***Obstet Gynecol*** *88*:257-60, 1996.

TEIXEIRA, J.C.; DERCHAIN, S.F.M.; MIYAHARA MASUKO, F.K.; NÓBREGA, M.S. Conização a frio no tratamento da neoplasia intra-epitelial grau 3 (NIC 3): revisão de 354 casos. ***J Bras Ginec*** *108*:173-7, 1998.

VEJERSLEV, L.O.; SCHOUENBORG, L.; SORENSEN, F.; NIELSEN, D.; SORENSEN, S.T.; JULH, B.R. et al. Loop diathermy or laser excisional conization for cervical intraepithelial neoplasia. ***Acta Obstet Gynecol Scand*** *78*:900-5, 1999.

WHITE, C.D.; COOPER, W.L.; WILLIAMS, R.R. Management of residual intraepithelial lesions of the cervix after conization. ***W Va Med J*** *5*:382-5, 1993.

WRIGHT, T.C.; GAGNON, S.; RICHART, R.M.; FERENCZY, A. Treatment of cervical intraepithelial neoplasia using the loop electrosurgical excision procedure. ***Obstet Gynecol*** *79*:173-8, 1992.

YLITALO, N.; SORENSEN, P.; JOSEFFSON, A. M.; MAGNUSSON, P.K.; ANDERSEN, P.K.; PONTEN, J. et al. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case control study. ***Lancet*** *355*: 2194-8, 2000.

ZERBINI, M.; VENTUROLLI, S.; CRICCA, M.; GALLINELA, G.; De SIMONE, P.; COSTA, S. et al. Distribution and viral load of type specific HPVs in different cervical lesions as detected by PCR-ELISA. ***J Clin Pathol*** *54*:377-80, 2001.

ZUR HAUSEN, H. The role of papillomaviruses in anogenital cancer. ***Scand J Infect Dis*** *(suppl.69):*107-11, 1990.

8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A. – **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4ª ed., Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98.

9. Anexos

9.1. Anexo 1 - Carta de convocação para a paciente

Para Sra. _____.

Campinas, ____ de _____ de 200___.

Prezada senhora,

O resultado do seu exame de prevenção (Papanicolaou) mostrou alterações nas células escamosas. Você deve realizar alguns outros exames para saber se tem alguma doença no colo do útero. Estes exames poderão ser realizados em uma consulta ginecológica no Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM, localizado à rua Alexander Flemming, 101, Barão Geraldo, Campinas, São Paulo, CEP 13083-970, Cx Postal 6081.

Assim, convidamos a para comparecer neste endereço na quinta-feira das 07:00 às 12:00 horas.

Dia ____ de _____ de 200___ ou

Dia ____ de _____ de 200___, segundo a sua disposição.

Se não puder comparecer ou precisar modificar o dia da consulta, favor entrar em contato com telefone 3788-9376, das 8:00 às 11:00 ou das 14:00 às 15:30 horas.

Atenciosamente,

Dra. Priscila Garcia Figueiredo

OBSERVAÇÃO: trazer esta carta e apresentá-la no dia da consulta. Comparecer fora do período menstrual para poder realizar os exames neste mesmo dia.

9.2. Anexo 2 – Notificação para o Profissional da Unidade Básica de Saúde

Ao profissional responsável pela coleta de colpocitologia oncológica (CO).

Campinas, ____ de _____ de 200___.

Prezado (a) colega,

Estamos realizando uma pesquisa referente à “Presença do HPV antes e após a conização em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical (NIC)”. Para tal estamos convidando para o Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) no Ambulatório de Patologia Cervical as mulheres com resultado de exame de prevenção (colpocitologia oncológica) com alterações sugestivas de NIC 2 ou 3, para realização de outros exames e posterior tratamento.

Este estudo tem como objetivo avaliar a presença do HPV de alto risco oncológico em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical antes e depois da conização por cirurgia de alta freqüência com alça. As mulheres serão submetidas à coleta de outra colpocitologia oncológica, colposcopia, exame de detecção do HPV, biópsia e conização do colo uterino. Todos estes procedimentos estão indicados para o diagnóstico da lesão do colo do útero quando o exame de prevenção mostrar NIC 2 ou NIC 3. Todas as mulheres serão tratadas de acordo com a necessidade.

Para aquelas que desejarem permanecer na Instituição, serão acompanhadas no serviço de Patologia Cervical do CAISM. Se houver preferência para ser acompanhada no serviço de origem, serão reencaminhadas com carta de referência contendo o resultado dos exames e procedimentos aqui realizados. Toda paciente será esclarecida quanto ao seu direito de não participar da pesquisa e de ser atendida no ambulatório sempre que necessário. Em caso de dúvidas ou esclarecimento telefonar para 3788-9376. Atenciosamente,

Dra. Priscila Garcia Figueiredo

9.3. Anexo 3 – Carta de contra-referência

Contra referência da UNICAMP para _____

Data da primeira consulta I__I__/__I__/__I__I

Nome completo:_____

HC I__I__I__I__I__I__I__I

CO de encaminhamento: _____

CO do serviço: _____

Biópsia: _____

Captura Híbrida II: _____

Cone por CAF: _____

Diagnóstico: _____

Procedimento posterior: _____

_____

Conduta proposta: _____

_____

Assinatura: data I__I__/__I__/__I__I

9.4. Anexo 4 – Carta de convocação às pacientes faltosas

Campinas, ____ de _____ de 200___.

Para Sra. _____.

Prezada senhora,

Informamos que a Sra. não tem comparecido às consultas no CAISM (Ambulatório de Patologia Cervical) para dar continuidade à pesquisa da qual a Sra. participa com a Dra. Priscila Garcia Figueiredo, referente às lesões do seu colo uterino.

Conforme já orientado, é de EXTREMA IMPORTÂNCIA o seu retorno às consultas para exame ginecológico e coleta de exames, a fim de proporcionarmos um tratamento e seguimento adequado, seguro e completo, evitando doenças mais graves que podem ser prejudiciais à sua saúde e seu bem-estar.

Por isso, convocamos a Sra. a comparecer ao CAISM no dia ___/___/____ às ____:____ horas para retorno com a Dra. Priscila Garcia Figueiredo. Em caso de dúvidas, ligue para (019)3788-9376.

Atenciosamente,

Dra. Priscila Garcia Figueiredo

9.5. Anexo 5 – Carta de Notificação à Unidade Básica de Saúde

Campinas, ____ de _____ de 200__.

Prezado (a) Colega da Unidade Básica de Saúde _____.

Venho através desta comunicar que a Sra. _____, participante da pesquisa que vem sendo realizada pela Dra. Priscila Garcia Figueiredo, não compareceu ao retorno agendado para o dia ___/___/___.

Enfatizamos que é de EXTREMA IMPORTÂNCIA o seu retorno às consultas para exame ginecológico e coleta de exames, a fim de proporcionarmos um tratamento e seguimento adequado, seguro e completo, evitando doenças mais graves que podem ser prejudiciais à sua saúde e bem-estar.

Já enviamos uma carta de reconvocação à paciente, porém nem todas pacientes possuem endereços atualizados. Solicitamos, por gentileza, o envio desta carta à paciente referida, caso ainda possuam contato com a mesma.

Para maiores esclarecimentos e agendamento do retorno, entrar em contato com tel (019) 3788-9376.

Atenciosamente,

Dra. Priscila Garcia Figueiredo

9.6. Anexo 6 – Ficha pré-codificada

Nº da ficha I__I__I__I
Nome:
HC I__I__I__I__I__I__I__I
Data 1ª consulta: __I__/__I__/__I__
Rua: nº
Bairro: Cidade: Estado:
Tel:
Observação:

Ficha I__I__I__I

SEÇÃO I. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

1.1. Data nascimento __I__/ __I__ /__I__ 1.2. Idade I__I__I
1.3. Estado conjugal I1I solteira I2I casada I3I amasiada I4I viúva I5I separada
1.4. Tabagismo I0I não I1I sim Quantos cigarros ao dia I__I__I Há quanto tempo I__I__I__I meses

SEÇÃO II. ANTECEDENTES PESSOAIS E OBSTÉTRICOS

2.1. GI__I__I PI__I__I AI__I__I CI__I__I
2.2. Início atividade sexual I__I__I anos 2.3. Nº de parceiros I__I__I__I
2.4. Método Anticoncepcional I1I sem I2I DIU I3I ACO I4I Laqueadura I5I Condom I6I Outros
2.5. Menarca I__I__I anos Data da última menstruação __I__/__I__/__I__

SEÇÃO III. CONDUTA DIAGNÓSTICA

3.1. Colpocitologia oncológica:

3.1.1. CO encaminhamento
Data __I__/__I__/__I__ Nº_____ Código 1) I__I__I 2) I__I__I 3) I__I__I

3.1.2. CO serviço
Data __I__/__I__/__I__ Nº_____ Código 1) I__I__I 2) I__I__I 3) I__I__I

3.2. Achados Colposcópicos Data __I__/__I__/__I__
I0I Não realizada I1I Ausência de imagens suspeitas I2I Epitélio Branco I3I Mosaico
I4I Vasos atípicos I5I Pontilhado I6I Leucoplasia I7I Insatisfatória I8I Outros

3.3. Anatomopatológico

3.3.1. Biópsia do colo I0I não I1I sim
Data __I__|__/__|__/__|__ Nº_____ Código 1) I__I

3.4 Detecção viral

3.4.1. Captura Híbrida II Data __I__|__/__|__/__|__ I__I__I__I__I RLU

SEÇÃO IV.CONDUTA TERAPÊUTICA

CAF

Data __/__|__/__|__/__|__

4.1. Diagnóstico histológico: Nº I__I__I__I__I__I Código I__I__I

4.2. Margens
4.2.1. Margem ectocervical I0I Livre I1I Comprometida Código I__I__I
4.2.2. Margem endocervical I0I Livre I1I Comprometida Código I__I__I

4.3. Comprometimento glandular? I0I não I1I sim _____

4.4. Características do espécime I__I__,__I X I__I__,__IX I__I__,__I cm

4.5. Nº de fragmentos I1I I2I I>2I

4.6. Artefatos térmicos das margens I0I não I1I sim _____

4.7. Potência de coagulação? I__I__I watts

4.8. Potência de corte? I__I__I watts

SEÇÃO V. CONDUTA APÓS A CONIZAÇÃO

5.1. Segundo procedimento
I0I não **(passe para seguimento)**
I1I sim Data __I__/__I__/__I__

5.1.1.Tipo de cirurgia
I1I Conização a frio I2I CAF I3I Histerectomia
I4I Wertheim-Meigs I5I Radioterapia Código I__I__I

5.2. Margens comprometidas I0I não **(passe para seguimento)**

5.2.1. Ectocervical I1I sim Código I__I__I

5.2.2. Endocervical I1I sim Código I__I__I

SEÇÃO VI. SEGUIMENTO 4 a 6 MESES APÓS A CONIZAÇÃO

6.1. Colpocitologia oncológica
Data __I__/__I__/__I__ Nº_____ Código 1) I__I__I 2) I__I__I 3) I__I__I

6.2. Detecção viral
Captura Híbrida II Data __I__/__I__/__I__ I__I__I__I__I RLU

6.3. Achados Colposcópicos Data __I__/__I__/__I__ Código I__I__ I__I__I

6.4. Anatomopatológico
Biópsia do colo I0I não I1I sim Data __I__/__I__/__I__ Código I__I__I
Conduta: I0I Seguimento
I1I Conização a frio I2I CAF I3I Histerectomia I4I Wertheim-Meigs Código I__I__I

6.5. Margens comprometidas I0I não

6.5.1. Ectocervical I1I sim Código I__I__I

6.5.2. Endocervical I1I sim Código I__I__I

9.7. Anexo 7 – Consentimento Livre e Esclarecido

Detecção do DNA-HPV antes e após a conização com cirurgia de alta freqüência (CAF) em mulheres com Neoplasia intra-epitelial cervical.

Eu, Sra _____, portadora do RG_____, atendida no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) no ambulatório de Patologia Cervical, fui convidada a participar desta pesquisa porque o resultado do meu exame de prevenção mostrou alterações nas células do colo do útero e necessito de tratamento.

Sei que este estudo tem como objetivo avaliar a presença do HPV de alto risco oncológico no meu colo uterino antes e após a conização por cirurgia de alta freqüência com alça.

Sei que serei submetida a uma entrevista sobre informações pessoais que ficarão de posse da Dra. Priscila Garcia Figueiredo, que manterá o sigilo destas.

Sei também, que serão realizados alguns exames: colposcopia, que é a visualização do colo do útero com uma lente de aumento, um teste para saber se eu tenho ou não o vírus que causa o câncer do colo uterino. Fui informada de que estes exames apresentam risco mínimo de complicações.

O tratamento da lesão do colo do útero será a conização, que é a retirada de um pedaço maior do colo do útero (cone) com anestesia local no próprio ambulatório.

Sei que a realização da conização por esta técnica é indolor e que a sua principal complicação é a hemorragia que, porém, não é freqüente.

Sei também que, após a conização, deverei comparecer após quatro meses neste ambulatório, para nova avaliação e novos exames. Nestes retornos, serão realizados: o exame de prevenção, o material para a detecção do HPV, a colposcopia e, uma biópsia do colo do útero somente quando necessário.

Fui esclarecida quanto ao meu direito de não participar da pesquisa e a não aceitação na participação no estudo não implicará na perda dos direitos iniciais rotineiramente oferecidos pelo ambulatório. Sei também que a qualquer momento posso desistir de participar da pesquisa, sem nenhum dano para a minha saúde e tratamento.

Também fui informada de que não terei custos para participar da pesquisa, pois, o intervalo entre as consultas será o mesmo realizado de rotina no ambulatório.

Em caso de dúvidas ou esclarecimento, tenho o direito de entrar em contato com a Dra. Priscila Garcia Figueiredo no telefone 3788-9376.

Assinatura da paciente: _____.

Assinatura do pesquisador: _____.

Campinas, _____ de _____ de 200__.

9.8. Anexo 8 – Lista das mulheres

Caso	Idade	Partos	IAS (anos)	Nº Parceiros	Fuma	Biópsia	Data do CAF	Diagnóstico histológico	Caga viral antes da conização (RLU)	Margens do cone	Data do retorno	Carga viral retorno (RLU)	Citologia do retorno	Colposcopia	Conduta	Histológico
3	39	2	≤17	1	Sim	Sem	14/03/01	NIC 3	998	NIC 3	23/08/01	0	ASCUS	Normal		sem
9	56	2	> 17	1	sim	Sem	29/03/01	NIC 3	388	Livres	16/08/01	0	Normal/infla.	Insatis.		sem
10	44	2	> 17	1	não	Sem	05/04/01	NIC 3	74	Livres	16/08/01	7	NIC 3	Anormal	HTA	Cervicite
11	42	2	> 17	2	sim	Sem	14/03/01	NIC 3	473	Livres	16/08/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
15	34	2	≤17	1	sim	Sem	19/04/01	NIC 3	0	Livres	13/09/01	0	ASCUS	Normal		sem
16	28	2	≤17	1	não	Sem	28/03/01	NIC 3	2098	Livres	16/08/01	8	Normal/infla.	Normal		sem
17	26	1	> 17	2	não	Sem	19/04/01	NIC 3	6	Livres	23/08/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
20	47	2	≤17	1	não	Sem	28/03/01	NIC 3	319	NIC 3	16/08/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
21	39	0	> 17	3	sim	Sem	26/04/01	NIC 3	1341	NIC 3	30/08/01	266	NIC 2	Anormal	Cone	NIC 3
22	30	1	> 17	2	não	Sem	19/04/01	NIC 3	494	NIC 3	30/08/01	0	Normal/infla.	Anormal	Biópsia	Cervicite
28	28	1	≤17	1	não	Sem	04/04/01	NIC 3	1026	Livres	16/08/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
29	34	1	> 17	2	sim	Sem	04/04/01	NIC 3	313	Livres	25/10/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
31	48	2	≤17	1	sim	NIC 3	10/05/01	NIC 3	88	NIC 3	30/08/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
34	32	2	≤17	2	não	Sem	19/04/01	NIC 3	137	Livres	30/08/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
35	33	2	≤17	2	não	Sem	25/04/01	NIC 3	10	Livres	11/10/01	0	NIC 2	Normal		sem
36	29	1	≤17	1	não	Sem	19/04/01	NIC 3	150	Livres	27/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
38	41	2	> 17	1	sim	Sem	11/04/01	NIC 1	895	Livres	23/08/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
39	36	2	> 17	1	sim	Sem	11/04/01	NIC 3	233	Livres	23/08/01	0	NIC 3	Anormal	Cone	Cervicite
41	43	2	> 17	1	não	Sem	26/04/01	NIC 3	707	NIC 3	13/09/01	39	NIC 3	Anormal	HTA	Cervicite
43	33	1	> 17	2	não	Sem	26/04/01	NIC 3	2293	NIC 3	16/08/01	10	NIC 2	Normal		sem
44	22	0	≤17	2	não	Sem	09/05/01	NIC 1	193	Livres	20/09/01	0	NIC 2	Normal		sem
45	38	2	≤17	1	sim	NIC 2	09/05/01	NIC 3	12	Livres	20/09/01	37	NIC 3	Anormal	Cone	Cervicite
46	37	2	≤17	1	não	Sem	17/05/01	NIC 3	316	NIC 3	20/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
48	48	2	≤17	1	não	Sem	17/05/01	NIC 3	60	NIC 3	13/09/01	6	Microinvasor	Anormal	Cone	NIC 3
49	37	0	> 17	1	não	Sem	10/05/01	NIC 2	1779	Livres	20/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem

Caso	Idade	Partos	IAS (anos)	Nº Parceiros	Fuma	Biópsia	Data do CAF	Diagnóstico histológico	Caga viral antes da conização (RLU)	Margens do cone	Data do retorno	Carga viral retorno (RLU)	Citologia do retorno	Colposcopia	Conduta	Histológico
50	33	2	<17	2	não	NIC 2	07/05/01	NIC 3	1	Livres	05/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
51	31	0	≤17	2	não	NIC 2	07/05/01	NIC 3	1608	Livres	24/09/01	0	ASCUS	Anormal	Biópsia	Cervicite
52	29	2	≤17	1	não	NIC 3	02/05/01	NIC 3	25	NIC 3	04/10/01	0	ASCUS	Normal		sem
53	22	2	≤17	2	não	NIC 1	07/05/01	NIC 1	0	Livres	03/12/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
54	31	1	≤17	1	sim	NIC 3	07/05/01	NIC 3	856	Livres	17/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
56	42	2	≤17	2	sim	Sem	23/05/01	NIC 2	0	Livres	20/09/01	0	Normal/infla.	Insatis.		sem
57	28	1	> 17	1	não	Sem	30/05/01	NIC 1	1027	Livres	27/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
58	39	2	≤17	1	sim	Sem	13/06/01	NIC 3	1277	NIC 3	30/10/01	4	Normal/infla.	Normal		sem
59	29	0	≤17	1	não	Sem	30/05/01	NIC 2	1730	Livres	27/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
62	37	1	> 17	2	não	Sem	21/06/01	NIC 3	15	Livres	25/10/01	0	Normal/infla.	Anormal	Biópsia	NIC 1
64	35	2	> 17	1	sim	Sem	23/05/01	NIC 1	367	Livres	20/09/01	3	NIC 2	Normal		sem
65	50	2	> 17	1	não	Sem	24/05/01	NIC 3	8	Livres	20/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
66	34	2	> 17	1	não	Sem	30/05/01	NIC 1	0	Livres	27/09/01	0	Normal/infla.	Anormal	Biópsia	Cervicite
67	33	1	≤17	2	não	Sem	20/06/01	NIC 3	166	Livres	25/04/02	0	Normal/infla.	Insatis.		sem
68	31	2	> 17	1	sim	Sem	31/05/01	NIC 3	9	Livres	27/09/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
70	27	2	≤17	2	não	Sem	28/06/01	NIC 3	31	Livres	25/10/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
75	33	1	≤17	2	sim	Sem	19/07/01	NIC 3	26	Livres	04/10/01	0	NIC 3	Normal		sem
77	36	2	≤17	1	sim	Cervicite	19/07/01	NIC 3	928	NIC 3	11/10/01	0	ASCUS	Anormal	Biópsia	NIC 1
79	26	1	≤17	2	não	Sem	16/08/01	NIC 2	13	Livres	13/12/01	33	Normal/infla.	Normal	Biópsia	Cervicite
82	49	2	> 17	1	não	NIC 3	19/07/01	NIC 3	8	NIC 3	24/01/02	0	Normal/infla.	Insatis.		sem
83	41	2	> 17	1	sim	NIC 3	06/06/01	NIC 3	634	Livres	26/09/01	0	NIC 3	Normal		sem
84	31	2	≤17	2	não	Sem	13/06/01	NIC 2	4	Livres	20/09/01	0	NIC 1	Anormal	Biópsia	Cervicite
85	36	2	≤17	2	sim	NIC 3	06/06/01	NIC 3	1334	NIC 3	04/10/01	1266	NIC 3	Anormal	Cone	NIC 3
86	48	2	> 17	1	não	Sem	13/06/01	NIC 1	0	Livres	24/01/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
87	33	2	≤17	1	sim	NIC 2	05/07/01	NIC 3	155	Livres	25/10/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
88	36	2	> 17	1	não	NIC 3	04/07/01	NIC 3	2	Livres	29/11/01	0	Normal/infla.	Normal		sem

Caso	Idade	Partos	IAS (anos)	Nº Parceiros	Fuma	Biópsia	Data do CAF	Diagnóstico histológico	Caga viral antes da conização (RLU)	Margens do cone	Data do retorno	Carga viral retorno (RLU)	Citologia do retorno	Colposcopia	Conduta	Histológico
90	37	2	≤17	2	não	Cervicite	28/06/01	NIC 3	6	NIC 2	25/10/01	2	Normal/infla.	Normal		sem
93	26	1	≤17	2	não	Cervicite	27/06/01	NIC 3	11	Livres	25/10/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
94	28	2	≤17	1	não	Cervicite	05/07/01	NIC 3	0	Livres	29/11/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
97	27	1	≤17	2	sim	Sem	05/07/01	NIC 2	6	Livres	25/10/01	70	Normal/infla.	Normal		sem
101	26	2	> 17	2	sim	Sem	19/07/01	NIC 3	167	Livres	11/10/01	0	NIC 2	Normal		sem
104	45	2	> 17	1	não	Sem	20/09/01	NIC 3	11	NIC 3	24/01/02	4	NIC 3	Normal		sem
105	24	2	≤17	1	não	NIC 2	02/08/01	NIC 2	110	Livres	13/12/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
108	20	0	≤17	1	não	NIC 2	11/06/01	NIC 1	18	Livres	11/10/01	101	ASCUS	Normal		sem
109	33	2	> 17	2	não	Cervicite	16/08/01	NIC 3	17	Livres	13/12/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
110	33	2	≤17	2	sim	Cervicite	25/06/01	NIC 2	0	NIC 2	27/09/01	0	ASCUS	Normal		sem
115	44	2	≤17	2	não	NIC 3	20/09/01	NIC 3	507	NIC 3	16/05/02	32	NIC 3	Normal		sem
116	30	1	> 17	2	não	NIC 2	10/01/02	NIC 3	708	Livres	16/05/02	22	Normal/infla.	Normal		sem
120	38	2	> 17	2	sim	Sem	06/09/01	NIC 3	129	NIC 3	10/01/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
121	31	1	> 17	2	sim	Sem	20/09/01	NIC 2	1157	Livres	10/01/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
129	49	2	≤17	2	não	Sem	13/08/01	NIC 3	9	NIC 3	10/01/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
130	25	1	≤17	1	não	Sem	02/09/01	NIC 3	3	Livres	13/12/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
131	36	2	≤17	2	sim	Sem	04/10/01	NIC 3	1769	Livres	24/01/02	7	NIC 2	Normal		sem
132	44	2	> 17	1	não	Sem	27/09/01	NIC 2	0	Livres	10/01/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
133	28	2	≤17	2	não	Sem	18/10/01	NIC 3	1472	Livres	21/02/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
136	42	2	≤17	2	não	Sem	11/10/01	NIC 2	0	Livres	10/01/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
137	29	2	> 17	1	sim	Sem	11/10/01	NIC 3	184	Livres	24/01/02	659	Normal/infla.	Normal		sem
139	21	1	≤17	1	não	NIC 2	18/06/01	NIC 3	0	Livres	18/10/01	0	Normal/infla.	Normal		sem
140	39	0	≤17	2	não	Sem	12/11/01	NIC 2	36	Livres	21/02/02	43	Normal/infla.	Normal		sem
141	46	2	≤17	2	não	Sem	14/05/01	NIC 1	894	Livres	24/01/02	5	Normal/infla.	Normal		sem
142	46	1	> 17	2	não	Sem	10/01/02	NIC 3	540	Livres	25/04/02	0	Normal/infla.	Normal		sem
143	45	2	> 17	2	sim	Sem	19/11/01	NIC 3	7	Livres	14/03/02	6	NIC 3	Anormal	Cone	NIC 3
144	24	2	≤17	2	sim	Sem	13/12/01	NIC 1	0	Livres	21/03/02	0	Normal/infla.	Normal		sem