



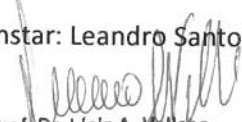
LEANDRO SANTOS DE ARAÚJO RESENDE

**INFECÇÕES SIMPLES E MÚLTIPLAS POR HPV EM MULHERES
BRASILEIRAS DE DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS COM
LESÕES CERVICAIS ESCAMOSAS OU GLANDULARES**

***SINGLE AND MULTIPLE HPV INFECTIONS IN BRAZILIAN
WOMEN OF DIFFERENT AGE STRATA WITH SQUAMOUS
OR GLANDULAR CERVICAL LESIONS***

Onde consta: Leandro Santos de Araújo Resende

Consta: Leandro Santos de Araujo Resende


Prof. Dr. Lício A. Velloso
Coordenador de Comissão de Pós-Graduação
FCM/UNICAMP
Matrícula 28314-8

**CAMPINAS
2013**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Ciências Médicas

LEANDRO SANTOS DE ARAÚJO RESENDE

**INFECÇÕES SIMPLES E MÚLTIPLAS POR HPV EM MULHERES
BRASILEIRAS DE DIFERENTES FAIXAS ETÁRIAS COM
LESÕES CERVICAIS ESCAMOSAS OU GLANDULARES**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS

***SINGLE AND MULTIPLE HPV INFECTIONS IN BRAZILIAN
WOMEN OF DIFFERENT AGE STRATA WITH SQUAMOUS
OR GLANDULAR CERVICAL LESIONS***

Dissertação de mestrado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde,
área de concentração em Oncologia Ginecológica e Mamária.

*Dissertation submitted to the Programme of Obstetrics and
Gynecology of the Unicamp's Faculdade de Ciências
Médicas for obtaining the title of Master in Health Sciences in
the concentration area of Gynecologic Oncology and Mammary.*

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO LEANDRO SANTOS DE ARAÚJO RESENDE
E ORIENTADA PELA Prof^a. Dr^a. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

Assinatura do Orientador

Campinas, 2013

FICHA CATALOGRÁFICA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
MARISTELLA SOARES DOS SANTOS - CRB 8/8402

R311i Resende, Leandro Santos de Araújo, 1980-
 Infecções simples e múltiplas por HPV em mulheres brasileiras de
 diferentes faixas etárias com lesões cervicais escamosas e
 glandulares / Leandro Santos de Araújo Resende. -- Campinas, SP :
 [s.n.], 2013.

Orientadora: Sophie Françoise Mauricette Derchain.
Coorientadora: Sílvia Helena Rabelo dos Santos
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Papillomavirus humano. 2. Neoplasia intraepitelial cervical. 3.
Técnicas de genotipagem. 4. Prevalência. 5. Idade. I. Derchain, Sophie
Françoise Mauricette, 1959-. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Single and multiple HPV infections in Brazilian women of different age strata with squamous or glandular cervical lesions

Palavras-chave em inglês:

Human papillomavirus
Cervical intraepithelial neoplasia
Genotyping techniques
Prevalence
Age

Área de concentração: Oncologia Ginecológica e Mamária

Titulação: Mestre em Ciências da Saúde

Banca examinadora:

Sophie Françoise Mauricette Derchain [Orientador]
Mary Ângela Parpinelli
Rosekeila Simões Nomelini

Data da defesa: 01-10-2013

Programa de Pós-Graduação: Tocoginecologia

Diagramação e arte-final: Assessoria Técnica do CAISM (ASTEC)

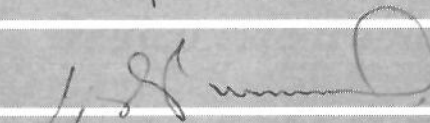
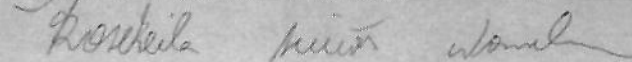
BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: LEANDRO SANTOS DE ARAÚJO RESENDE

Orientadora: Prof^a. Dr^a. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS

Membros:

1. 
2. 
3. 

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

Data: 01/10/2013

Dedico este trabalho...

*A Deus,
sempre em primeiro lugar em tudo na minha vida.*

*À minha esposa Núbia,
que me apoiou e ajudou desde o primeiro dia.*

*Aos meus pais e irmãos,
pelo carinho e amor eternos.*

*Aos meus amigos de Brasília e Uberaba,
pela ausência sempre sentida, porém justificada.*

Agradecimentos

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Sophie Françoise Mauricette Derchain, pelos ensinamentos, por compartilhar suas experiências já vividas e por confiar em mim desde o início.

À Prof^a. Dr^a. Silvia Helena Rabelo dos Santos pela colaboração como coorientadora, mesmo distante, tão importante.

Ao Prof. Dr. Luís Otávio Sarian, pelas conversas semanais e pelo incentivo de aprender estatística.

Aos Profa. Dr^a. Mary Ângela Parpinelli e Prof. Dr. Luis Guillermo Bahamondes, pelas sugestões na qualificação.

Aos meus mestres de Uberaba, que me incentivaram e iniciaram na vida acadêmica: Prof. Dr. Eddie Murta, Prof. Dr. Paulo Maluf, Prof^a. Dr^a. Rosekeila Simões Nomelini, Prof. Dr. Cléber Sérgio, Prof. Dr. Mário León Silva-Vergara, Prof. Dr. Dalmo Correia, Prof. Dr. Marco Fábio, Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Macêdo Barcelos e Prof. Dr. Javier Lazo.

Aos professores da Unicamp: Prof. Dr. José Guilherme Cecatti, Prof. Dr. Paulo César Giraldo e Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino pelas aulas na pós-graduação.

Às queridas Sr^a Neuza Aparecida de Melo Balduci, Sr^a Sônia Aparecida Pianca, Sr^a Débora Fernanda G. A. Fernandes e Danielli Pereira Epifanio pelo carinho que recebi todas as semanas.

Aos colegas: Bernardo, Carlos José, Hudson Henrique, Maxwell Boga, Rodrigo Cardeal, Gabriel Druzilli, Fábio Passos, Fabiano Miquelante, Élton, Danilo, Juliana, Maria e Politano.

Aos amigos: Daniel Keniti, Bruno Braga, Matheus Bandeira, Luís Gustavo, Daniel Batista, Felipe Bandeira, Ricardo Rios, Leandro Miranda e Airton.

À Sr^a. Denise Barbosa Amadio, sempre simpática e prestativa.

A todos da ASTEC por ajudar na confecção desta dissertação.

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	vii
Resumo	x
Summary	xii
1. Introdução	14
2. Objetivos	21
2.1. Objetivo geral	21
2.2. Objetivos específicos.....	21
3. Publicação.....	22
4. Conclusões.....	43
5. Referências Bibliográficas.....	44
6. Anexos	48
6.1. Anexo 1 – Parecer do CEP – Goiás.....	48
6.2. Anexo 2 – Pareceres do CEP – UNICAMP (Campinas)	49

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AGC – Atipias celulares glandulares

AGC-FN – atipias de células glandulares, favorável à neoplasia

AGC-NOS – atipias de células glandulares sem outras especificações

AGC-HSIL – Atipias celulares glandulares com lesões escamosas de alto grau

ASC-US – Células escamosas atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas

ASC-H – Células escamosas atípicas, não podendo se excluir lesão de alto grau

CA – Califórnia

CAF – Cirurgia por alta frequência

CAISM – Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti – Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher

CC – *Cervical cancer*

DNA – Ácido dextrorribonucleico

DST – Doença sexualmente transmissível

E1 –E7 – região dos genes reguladores do vírus

EUA – Estados Unidos da América

g – gram

GO – Goiás

- HC** – Hospital das Clínicas
- HPV** – Papillomavirus Humano
- hr-HPV** – *High-risk human papillomavirus* – HPV de alto risco
- HSIL** – *High-grade squamous intraepithelial lesion*
- INCA** – Instituto Nacional do Câncer
- K/ µL** – *Thousands Per MicroLiter*
- L1-L2** – região dos genes reguladores do vírus
- LCR** – região controladora longa do vírus
- LIEAG** – Lesão intraepitelial de alto grau
- LIEBG** – Lesão intraepitelial de baixo grau
- LLETZ** – Excisão ampla da zona de transformação
- LOOP** – *Lloop electrosurgical excision procedure*
- Ir-HPV** – *Low-risk Human Papilloma Virus*
- LSIL** – *Low-grade squamous intraepithelial lesion*
- mg** – *miligram*
- mL** – *milliliter*
- mM** – *milimeter*
- MS** – Ministério da Saúde
- MT** – *Multiple-type*
- NIC1** – Neoplasia intraepitelial cervical grau 1
- NIC2** – Neoplasia intraepitelial cervical grau 2
- NIC3** – Neoplasia intraepitelial cervical grau 3
- nm** – nanômetro
- PCR** – *Polymerase Chain Reaction*
- pH** – potencial de hidrogênio iônico

pmol – picomol

pRb – proteína retinoblastoma

p53 – proteína citoplasmática

Rb – retinoblastoma

SIL – *Squamous intraepithelial lesion*

SP – São Paulo

ST – *Single-type*

UFG – Universidade Federal de Goiás

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

USA – *United States of America*

ZT – Zona de transformação

μL – *microliter*

μM – *micrometer*

Resumo

Introdução: O câncer do colo uterino é o terceiro tipo mais prevalente no mundo e representa a quarta causa de morte por câncer entre as mulheres. No Brasil, estima-se que 17,540 mulheres foram diagnosticadas com essa neoplasia no ano de 2012. A infecção persistente pelo *Papillomavirus* humano (HPV) de alto risco (hr-HPV) é considerada fator causal e necessário para lesões precursoras e câncer invasor. Já foram identificados mais de 100 tipos de HPVs. Os HPVs 16 e 18 são reconhecidos, no mundo, como os maiores responsáveis pelo desenvolvimento dessa doença. **Objetivos:** Descrever a prevalência e a distribuição, por idade, de infecções simples e múltiplas por diferentes tipos de HPV em mulheres com lesões cervicais escamosas e glandulares. **Sujeitos e métodos:** 328 mulheres com lesões escamosas, ou glandulares intraepiteliais ou invasoras do colo uterino. Todas as amostras foram submetidas à genotipagem por hibridização reversa com sondas de 21 tipos de HPV de alto risco (hr-HPV) e 16 tipos de HPV de baixo risco (lr-HPV). A prevalência de infecções simples e múltiplas pelo HPV foi comparada de acordo com as faixas etárias. **Resultados:** 287 (87%) mulheres apresentaram infecção por pelo menos um tipo de HPV e 149 (52%) tinham infecção múltipla. O

HPV16 foi o tipo de vírus mais prevalente na amostra, detectado em 142 casos (49% de todos os casos positivos para HPV), seguido dos outros tipos de HPV do grupo alfa-9: HPVs 58, 52, 31, 35 e 33. Infecção simples ou múltipla pelo HPV18 foi positiva em 23 casos (8% dos casos de infecção por HPV de alto risco). Praticamente todas as lesões glandulares foram associadas à infecção simples por HPVs 16 e 18. Infecções múltiplas foram, significativamente, mais prevalentes nas lesões escamosas do que nas glandulares pelos HPVs 16 e 18 ($P=0,04$ e $0,03$, respectivamente). A prevalência de infecções múltiplas seguiu um modelo de distribuição bimodal, com pico em mulheres com menos de 29 anos e naquelas com idade entre 50 e 59 anos. **Conclusão:** Esta amostra sugere que a estratégia para prevenção de lesões pré-invasivas e invasivas, escamosas ou glandulares, deve ser direcionada para o HPV16 e alguns tipos virais do grupo alfa-9. Ficou claro, na amostra deste estudo, que em mulheres jovens, a prevenção de infecção pelo HPV deve cobrir os HPVs 16 e 18, principalmente.

Palavras-chave: *Papillomavirus* Humano, neoplasia intraepitelial cervical, genotipagem, prevalência, idade.

Summary

Background: Cervical cancer ranks third in prevalence and fourth as cause of death in women worldwide. In Brazil, 17,540 women were diagnosed in 2012 with the disease. Persistent infection with high-risk HPV types is a necessary condition for the development of pre-invasive and invasive cervical neoplasia. Currently, over 100 HPV types have been identified, but HPV16 and 18 are recognized as the mayor culprits in cervical carcinogenesis. **Objectives:** to assess the relationships between single- (ST) and multiple-type (MT) HPV infection with patients' age and lesion pathological status. **Materials and Methods:** 328 patients with either squamous or glandular intraepithelial or invasive cervical lesion were selected. All subjects were tested for HPV genotypes with reverse hybridization for 21 high- (hr-HPV) and 16 low-risk (lr-HPV) probes. Prevalence of ST and MT HPV infections was compared across and age strata. **Results:** 287 (87%) women had at least one HPV type detected and 149 (52%) had MT infections. The most prevalent HPV type was HPV16, present in 142 cases (49% of all HPV-positive cases), followed by the alpha-9 group HPV58, 52, 31, 35 and 33, all of them from alpha-9 HPV group. ST or MT HPV18, single or in multiple infections occurred in 23 cases (8% of hr-HPV

cases). Almost all glandular lesions were associated with HPV16 and 18 alone. Multiple infections were significantly more prevalent in squamous than in glandular lesion for HPV16 and 18 ($P=0.04$ and 0.03 respectively). The prevalence of MT infections followed a bimodal distribution; peaking in women younger 29 years and in those aged 50 to 59. **Conclusions:** our data indicate that prevention strategies for pre-invasive and invasive squamous lesions should be focused on HPV16 and a few alpha-9 HPV types. It is clear to us that in young women, prophylaxis must cover a large amalgam of HPV types beyond classic HPV16 and 18.

Key words: Human papillomavirus, cervical intraepithelial neoplasia, genotyping techniques, prevalence, age.

1. Introdução

O câncer de colo uterino é a terceira neoplasia maligna mais prevalente em mulheres no mundo, com uma estimativa de 530.000 casos novos em 2008, sendo a grande maioria (85%) nos países em desenvolvimento. Foram notificados, no ano de 2008, 275.000 mortes por essa neoplasia, sendo 31.700 na América Latina [1]. No Brasil, segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA), eram esperados 17.540 novos casos de câncer de colo uterino no ano de 2012 [2].

A infecção pelo *papillomavirus* humano (HPV) é, sabidamente, o fator causal e necessário para o desenvolvimento do câncer do colo do útero [3]. A principal via de transmissão do HPV é através do contato sexual sendo, hoje, a doença sexualmente transmissível (DST) mais prevalente do mundo [4]. A infecção é assintomática em grande parte das mulheres e o índice de resolução espontânea chega a 90% em dois anos [5].

Os HPVs são membros da família *Papovaviridae*, têm aproximadamente 55 nm de diâmetro, capsídeo icosaédrico de 72 capsômeros, sem envelope,

sendo seu genoma composto de DNA circular de dupla fita e 7.900 pares de nucleosídeos. Seu genoma apresenta sete áreas diferentes que controlam a codificação dos genes: E1/E2, E4, E5, E6, E7 e L1/L2 e LCR [6]. Os genes E1/E2 codificam e controlam a função dos genes de E6 e E7. A função de E4 ainda é pouco conhecida, mas pode controlar a saída do vírus da célula. E5 codifica uma proteína hidrofóbica responsável pela imortalização da célula. O E6 codifica proteínas que inibem a regulação do ciclo celular, além de inibir a proteína p53, que é um fator de transcrição da apoptose celular. O produto do gene E7 do HPV se liga à forma hipofosforilada da família Rb das proteínas interrompendo o complexo entre pRb e o fator de transcrição celular E2F, resultando na liberação de E2F, com transcrição de genes promotores de tumor e de genes envolvidos na progressão do ciclo celular e na síntese de DNA [7]. É, essencialmente a inibição da proteína p53 e a ativação da pRb na célula hospedeira, que levam ao desenvolvimento de lesões precursoras e câncer do colo do útero [8].

As lesões precursoras são denominadas neoplasia intraepitelial cervical [9, 10]. Esse termo neoplasia intraepitelial cervical (NIC) foi criado por Richart (1967) que classificou as lesões em três graus: NIC1, NIC2 e NIC3, de acordo com a sua severidade. Histologicamente, a NIC1 caracteriza-se pela presença de atipias celulares leves acometendo apenas o terço do epitélio basal; na NIC2 observam-se anormalidades nucleares mais acentuadas e mitoses numerosas que se estendem até os 2/3 proximais do epitélio; na NIC3 as anormalidades

nucleares e as mitoses são intensas e estão presentes em toda a espessura do epitélio [11].

Embora a maioria dos casos de NIC3 e de câncer cervical contenha HPV de alto risco oncogênico (hr-HPV), nem toda mulher com HPV apresenta lesão cervical. Para que esse vírus cause alguma lesão, vários fatores parecem estar envolvidos: idade ao início da atividade sexual; presença de múltiplos parceiros sexuais; multiparidade; microambiente e pH vaginal; uso prolongado de contraceptivos combinados orais; tabagismo; baixo nível socioeconômico; infecção por *Chlamydia trachomatis* e outras DSTs e deficiência de micronutrientes [12]. Entretanto, o principal fator ligado ao desenvolvimento de lesão cervical é o tipo de HPV e sua persistência [8].

Já foram identificados mais de 100 tipos de HPV; desses, 40 são responsáveis pela infecção do trato genital [4]. Os diferentes tipos de HPV podem ser classificados quanto ao seu potencial oncogênico em: alto risco, provável alto risco e baixo risco. Os tipos de alto risco são: HPVs 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67, 68, 69, 73, 82 e IS39; os de provável alto risco são HPVs 26, 53 e 66; já os de baixo risco oncogênico são HPVs 6, 11, 40, 42, 48, 54, 55, 57, 61, 62, 70, 71, 81, 83, 84 e CP6108 [10]. Entretanto, os tipos de HPVs 16 e 18 são responsáveis por mais de 70% dos casos de câncer de colo uterino [13]. Os tipos de HPVs 31, 33 e 45 apresentam o segundo grupo viral mais associado ao desenvolvimento do câncer cervical com 11% dos casos, aproximadamente [1], seguido do terceiro grupo, que compreende os HPVs 35,

52 e 58 [14]. Os HPVs de baixo risco oncogênico, principalmente 6 e 11, são responsáveis pelo aparecimento de verrugas genitais e anais [15].

Em mulheres com citologia normal, a presença da infecção pelo HPV de alto risco pode aumentar em até 210 vezes a chance de desenvolvimento de NIC3, em seis anos, comparado com as mulheres sem infecção [5]. Existe diferença na taxa de infecção e nos tipos de HPV em mulheres de diferentes regiões no mundo. Dados de uma metanálise, que estudou exames de mais de 150.000 mulheres com citologias normais, observaram a prevalência geral de 10,4% de infecção desse vírus nessas mulheres [16]. Porém, destaca-se o maior desses índices na África e Américas Central e Sul com 22,1% e 20,4%, respectivamente. Em contraste, na América do Norte, Europa e Ásia, esses índices são menores, com 11,3%, 8,1% e 8%, respectivamente [6]. Estudo multicêntrico realizado com mulheres do Brasil, Canadá e Estados Unidos da América (EUA), mostrou não somente a diferença na incidência, mas também nessa taxa em relação à infecção pelos tipos virais de alto grau. Nos três países citados, a taxa de incidência de infecção pelos vírus 16 e/ou 18 foi semelhante, com 7,8% no Brasil, 7,7% no Canadá e 5,9% nos EUA [16]. Brasil e EUA ainda têm semelhança nos tipos mais prevalentes, com os vírus HPVs 16, 51, 52 e 31 entre os mais encontrados. No entanto, o vírus HPV66 é mais frequente nos Estados Unidos, e o 68 no Brasil. No Canadá, os tipos virais mais encontrados foram: HPVs 16, 18, 39, 59 e 31 [16].

Existem outros fatores que modificam a taxa de incidência da infecção pelo HPV, como sexo, etnia, número de parceiros e idade. Nos EUA, as

mulheres são mais susceptíveis à infecção por esse vírus - quando comparadas com os homens - duas vezes mais, em média. Estatísticas mostraram que, em geral, o índice de infecção pelo vírus nas mulheres é 17,9% e de 8% nos homens [14]. Quando se compara a etnia, sabe-se que mulheres negras apresentam aumento de 20% a 29% na taxa de infecção pelo vírus, comparadas com as brancas. Além disso, mulheres com múltiplos parceiros têm risco estimado de infecção pelo HPV de 20,1%, enquanto esse mesmo risco é de apenas 7% naquelas com único parceiro [8].

Trabalhos recentes mostraram que, em lesões precursoras do câncer de colo, o HPV16 é mais prevalente que os outros tipos de HPV de alto risco, quando diagnosticado em mulheres mais jovens [13]. Uma publicação recente que estudou mulheres no leste europeu mostrou que a prevalência de infecção dos HPVs 16 e 18 variou com a idade das pacientes. A prevalência foi maior em mulheres com idade entre 20 e 24 anos. Além disso, a taxa de infecção foi decrescente com o aumento da idade das mulheres do estudo [17]. A prevalência de HPVs de alto risco foi menor nas mulheres com citologia negativa para lesões intraepiteliais cervicais e aumentou com a severidade da lesão [17].

A maioria dos estudos avaliou a distribuição dos tipos de HPVs em mulheres com lesões precursoras e câncer cervical [18]. Informações sobre a prevalência dessa infecção em mulheres sem lesões ou com lesões precursoras pode auxiliar o melhor entendimento da história natural dessa neoplasia. Mulheres na Índia apresentaram uma prevalência de

aproximadamente 10% de infecção pelo HPV [2]. Neste estudo, a infecção pelo HPV foi mais prevalente em mulheres jovens (24 a 35 anos), com alta paridade (≥ 4) e mais jovens no momento de início da atividade sexual. A prevalência de infecção pelo HPV, nas mulheres desse estudo, aumentou em 2 vezes quando apresentavam citologia alterada; e em 5 vezes, quando a citologia mostrava lesões intraepiteliais de alto grau [2].

A presença de atipias celulares no exame citológico permite a detecção das lesões precursoras, porém a presença de atipias celulares na citologia não define a evolução da lesão. De acordo com a classificação de Bethesda (2001), as atipias celulares escamosas podem ser divididas em ASC-US e ASC-H. A primeira classificação, (ASC-US), representa células escamosas de significado indeterminado. Na segunda, (ASC-H), não se pode excluir a possibilidade de lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL). Essas atipias representam apenas 0,2% dos diagnósticos citológicos. Mulheres que apresentam resultado de ASC-US apresentam a chance estimada de 5% a 17% de terem lesões histológicas compatíveis com NIC2 ou lesões escamosas mais graves. Já em mulheres com citologia ASC-H, a prevalência de NIC2 ou mais graves varia de 24% a 94% [19]. Em relação a atipias de células glandulares, o Sistema de Bethesda classifica as atipias menos severas que adenocarcinoma *in situ* (AIS) e adenocarcinoma invasor nas seguintes categorias: atipias de células glandulares (AGC) sem outras especificações (NOS) e atipias de células glandulares, favorável à neoplasia (FN). pelo maior risco de associação com neoplasia nessa última (20). Na literatura, a incidência de AGC varia de 0,1% a

2,1% (21). Entre as mulheres com AGC, 9% a 38% apresentam lesões significativas (CIN2 ou mais grave) e 3% a 17% apresentam carcinomas invasores [22].

Em estudo realizado com 198,069 mulheres na Coreia, observou-se a prevalência de 0,23% de ASC-H (448). Dessa amostra, 86 (21,9%) tinham idade inferior a 40 anos. E ainda, 45 (52,3%) dessas pacientes apresentavam resultado histológico compatível com NIC2 ou mais grave. Este estudo não encontrou diferença significativa nas taxas de infecção pelos tipos de HPV de alto risco nas diferentes faixas etárias. Nas mulheres com menos de 40 anos a taxa de infecção foi de 86,7%, já naquelas mulheres com 40 anos ou mais essa taxa foi de 86,6% [19].

Avaliar a idade em relação aos tipos de HPVs em mulheres com infecção simples e/ou múltiplas em dois grandes centros brasileiros pode contribuir para o conhecimento em epidemiologia dessa infecção, que pode evoluir para o câncer de colo uterino. Já existe uma quantidade considerável de resultados citológicos e histológicos, com a tipagem viral para HPV, em mulheres com citologia alterada que foram submetidas à conização nas cidades de Campinas, SP, e Goiânia, GO. Com a análise dessas informações poderemos ser capazes de fazer uma associação entre a faixa etária e o tipo de HPV em mulheres com lesões cervicais escamosas e glandulares.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Determinar a prevalência de infecções simples e múltiplas por diferentes tipos de HPV, de acordo com as faixas etárias, em mulheres com lesões cervicais escamosas e glandulares.

2.2. Objetivos específicos

- Comparar a prevalência de infecções simples e múltiplas por HPV, de acordo com a presença de lesão cervical escamosa ou glandular.
- Identificar os tipos de HPV mais prevalentes nessas mulheres.
- Avaliar a prevalência dos tipos mais comuns de HPV, em infecção simples ou múltipla, de acordo com a lesão histológica.
- Avaliar a prevalência da infecção simples ou múltipla, segundo diferentes faixas etárias.

3. Publicação

[Home](#)[Journals](#)[Articles](#)[Gateways](#)[About BioMed Central](#)[My BioMed Central](#)

Article title: A portrait of single and multiple HPV-type infections in Brazilian women of different age strata with squamous or glandular cervical lesions MS ID : 1611479831067088

Authors : LEANDRO SA RESENDE, SILVIA H RABELO-SANTOS, LUIS O SARIAN, ROSANE RF ALVES, ANDREA ALVES RIBEIRO, LUIZ C ZEFERINO and SOPHIE FM DERCHAIN

Journal: BMC Infectious Diseases

Dear Mr Resende

Thank you for submitting your article. This acknowledgement and any queries below are for the contact author. This e-mail has also been copied to each author on the paper, as well as the person submitting. Please bear in mind that all queries regarding the paper should be made through the contact author.

A pdf file has been generated from your submitted manuscript and figures. We would be most grateful if you could check this file and let us know if any aspect is missing or incorrect. Any additional files you uploaded will also be sent in their original format for review.

http://www.biomedcentral.com/imedia/1611479831067088_article.pdf

For your records, please find below link(s) to the correspondence you uploaded with this submission. Please note there may be a short delay in creating this file.

http://www.biomedcentral.com/imedia/4992690106845448_comment.pdf

If the PDF does not contain the comments which you uploaded, please upload the cover letter again, click "Continue" at the bottom of the page, and then proceed with the manuscript submission again. If the letter will not upload, please send a copy to editorial@biomedcentral.com.

The submitting author can check on the status of the manuscript at any time by logging into 'My BioMed Central' (<http://www.biomedcentral.com/my>).

In the meantime, if you have any queries about the manuscript you may contact us on editorial@biomedcentral.com. We would also welcome feedback about the online submission process.

Best wishes,

The BMC Infectious Diseases Editorial Team

Tel: +44 (0) 20 3192 2013

e-mail: editorial@biomedcentral.com

Web: <http://www.biomedcentral.com/>

Title: A portrait of single and multiple HPV type infections in Brazilian women of different age strata with squamous or glandular cervical lesions

Authors

Leandro Santos de Araújo Resende[#]

Sílvia Helena Rabelo-Santos^{*}

Luís Otávio Sarian[#]

Rosane Ribeiro Figueiredo Alves^{**}

Andréa Alves Ribeiro^{*}

Luiz Carlos Zeferino[#]

Sophie Derchain[#]

[#]Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, State University of Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, Brazil.

^{*}School of Pharmacy, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil.

^{**}Department of Medicine, Catholic University of Goiás, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil.

Address for correspondência:

Sophie Derchain

Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Ciências Médicas, Caixa Postal 6111, Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Email: derchain@fcm.unicamp.br

Tel.: +55 (19) 35219305

Abstract

Cervical cancer ranks third in prevalence and fourth as cause of death in women worldwide. In Brazil, 17,540 women were diagnosed in 2012 with the disease. Persistent infection with high-risk HPV types is a necessary condition for the development of pre-invasive and invasive cervical neoplasia. Currently, over 100 HPV types have been identified, but HPV16 and 18 are recognized as the mayor culprits in cervical carcinogenesis. **Objectives:** to assess the relationships between single- (ST) and multiple-type (MT) HPV infection with patients' age and lesion pathological status. **Materials and Methods:** 328 patients with either squamous or glandular intraepithelial or invasive cervical lesion were selected. All subjects were tested for HPV genotypes with reverse hybridization for 21 high- (hr-HPV) and 16 low-risk (lr-HPV) probes. Prevalence of ST and MT HPV infections was compared across and age strata. **Results:** 287 (87%) women had at least one HPV type detected and 149 (52%) had MT infections. The most prevalent HPV type was HPV16, present in 142 cases (49% of all HPV-positive cases), followed by the alpha-9 group HPV58, 52, 31, 35 and 33, all of them from alpha-9 HPV group. ST or MT HPV18, single or in multiple infections occurred in 23 cases (8% of hr-HPV cases). Almost all glandular lesions were associated with HPV16 and 18 alone. Multiple infections were significantly more prevalent in squamous than in glandular lesion for HPV16 and 18 ($P=0.04$ and 0.03 respectively). The prevalence of MT infections followed a bimodal distribution; peaking in women younger 29 years and in those aged 50 to 59. **Conclusions:** Our data indicate that prevention strategies for pre-invasive and invasive squamous lesions should be focused on HPV16 and a few alpha-9 HPV types. It is clear to us that in young women, prophylaxis must cover a large amalgam of HPV types beyond classic HPV16 and 18.

Key words: Human papillomavirus, cervical intraepithelial neoplasia, genotype, prevalence, age.

Background

Cervical cancer is the third most prevalent cancer worldwide, being recognized as the fourth cause of death due to cancer in women. It is the second more prevalent type of cancer in women 44 years old or younger [1]. Brazilian estimates for 2012 show that roughly 17,540 women will be diagnosed with the disease in the country [2], with an estimated risk of 17 cases in 100,000 women.

High-risk human Papillomavirus (hr-HPV) persistent infection is considered the causal factor for pre invasive and invasive cervical carcinoma [3]. More than 100 HPV types have been identified and 40 are sexually transmitted [4]. High-grade intraepithelial lesion and invasive carcinoma, either squamous or glandular, are mostly associated with oncogenic HPV types included in alpha-9 (HPV 16, 31, 33, 35, 52, 58 and 67) and alpha-7 (HPV 18, 39, 45, 59, 68 and 70) groups, considering that the types belonging to a group have 80% of genetic similarity [5]. Among these types, HPV 16 and 18 infections, followed by HPV 31 and 45 are found in more than 80% of cervical cancer specimens [6, 7, 8, 9]. The prevalence of alpha 7-HPV types is lower than that of alpha-9 types, but HPV types from both groups are associated with stable and persistent infections [10]. In healthy women, the prevalence of hr-HPV follows a bimodal distribution, peaking in women aged 20 to 24 years and in those aged 50 to 54; multiple-type (MT) HPV infection is more prevalent in women 30 years old or younger [11].

ST-HPV 16 and 18 infections have been unequivocally linked to high-grade lesions (either cervical intraepithelial neoplasia (CIN) or *in situ* adenocarcinoma (AIS)) and invasive squamous/glandular cervical cancer (CC). MT-HPV has been observed in women with persistent infections, but its relationship with cervical carcinogenesis has not been established [12]. Importantly, there is no consensus whether MT-HPV

infections harbouring HPV16/18 and other HPV types are associated with higher risk of carcinogenesis than ST-HPV16/18 infections [13].

In this study, we assessed the prevalence of ST and MT-HPV infections in women with squamous and glandular lesions of different age strata. Our objective was to evaluate whether ST and MT differed in its association with the type of the cervical lesion according to the patients age.

Subjects and methods

Three-hundred twenty-eight Brazilian women with CIN, AIS, squamous or glandular CC were included. Diagnoses were obtained with diathermic conization (either LEEP or LLETZ). The women included in this study were treated in two different urban centres: 118 cases at the Department of Obstetrics and Gynaecology of Faculty of Medical Sciences (FCM/Unicamp) and 210 at the Department of Obstetrics and Gynaecology, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil. This study was approved by the respective Institution's Internal Review Boards of the two institutions and all selected women voluntarily signed an informed consent form prior to enrolment.

Sample Processing and DNA Extraction

The cervical specimens for HPV-DNA were obtained with an endocervical brush, and stored in a 1-mL tube containing Specimen Transport Medium (STM, QIAGEN Biotechnology Brazil Ltd.). Aliquots of 200 μ L of the STM were centrifuged for 10 minutes at 13,000 g. Supernatants were immediately removed and the cellular pellets were split into two parts and stored at -80°C until re-suspension in 200 μ L of digestion solution (1mM Tris, 200 mg of proteinase K/ μ L, and 0.5% sodium dodecyl sulphate).

Digestion was performed at 55°C for 2 hours and was followed by a 5-minute incubation at 95°C to inactivate proteinase K. Nucleic acids were then purified by phenol-chloroform extraction followed by ethanol precipitation. After the DNA pellet had dried, it was dissolved in 100 µL of Tris/EDTA (1 mM and 100 µM, respectively, pH 8.2).

HPV-DNA Testing

HPV DNA was amplified using the PGMY09/11 primers that amplify a 450-bp fragment of the L1 open reading frame. HPV DNA genotyping was performed using a reverse line blot hybridization assay in which the 450-bp PCR amplicon was hybridized to a nylon strip containing immobilized probes [14]. The strip contained 2 levels of β -globin control probes, 21 hr-HPV probes (hr-HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 73, 82 and IS39) and 16 low-risk-HPV probes (HPV6, 11, 40, 42, 48, 54, 55, 57, 61, 62, 70, 71, 81, 83, 84 and CP6108) [15]. The 100 µL final volume of the amplification mixture contained 4 mM of MgCl₂, 50 mM of KCl, 7.5 U of AmpliTaq Gold DNA polymerase (Perkin-Elmer, Foster City, CA, USA), 200 mM each of deoxyadenosine triphosphate, deoxycytidine triphosphate and deoxyguanosine triphosphate, 600 mM of deoxyuridine triphosphate, 100 pmol of each biotinylated PGMY09/PGMY11 primer pool, and 2.5 pmol of each of the 5'-biotinylated β -globin primers, GH20 and PCO4. The amplification profile was: activation of AmpliTaq Gold for 9 minutes at 95°C, denaturation for 1 minute at 95°C, annealing for 1 minute at 55°C and extension at 72°C for 1 minute, for a total of 40 cycles, followed by a 5-minute terminal extension step at 72°C. Amplicons were denatured in 0.4N NaOH. In a reverse-line blot assay, 40 µL of the denatured product were added to 3 mL of hybridization buffer containing the

HPV genotypes and 2 concentrations of the β -globin probes, immobilized on nylon strips. Positive hybridization was detected by streptavidin-horseradish peroxidase-mediated colour precipitation on the membrane at the probe line. In specimens that were considered HPV-negative, the 2 β -globin lines (high and low copies) either appeared at levels comparable with those of positive controls or were repeated until the criteria for globin positivity were achieved. A HPV infection was classified as single and multiple infections. Multiple infections include the association with hr and/or lr-HPV types.

Cytology

All women had a cervical smear and the results of cervical smears were classified in accordance with the 2001 Bethesda System [16]. Squamous cell abnormalities less severe than invasive carcinoma were classified as atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) and atypical squamous cells, cannot exclude high-grade intraepithelial lesion (ASC-H), low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), and high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL). For statistical purpose, ASC-US and ASC-H were grouped as ASC. Endocervical glandular cell abnormalities less severe than invasive adenocarcinoma are classified into atypical glandular cells (AGC), AGC associated with high-grade squamous intraepithelial lesion (AGC-HSIL) and adenocarcinoma *in situ* (AIS).

Histopathology

Cervical conization specimens, obtained with either Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ) or Loop Electrosurgical Excision Procedure (LEEP) were obtained from all patients. The specimens were reviewed according to the World Health Organization (WHO) criteria [17] and were classified as: CIN1, CIN2, CIN3, invasive

squamous CC or *in situ* (AIS) and invasive adenocarcinoma. Three-hundred and five (93%) women had squamous and 23 (7%) had glandular lesions. In women with squamous lesions, 82 (25%) had CIN1, 61 (19%) CIN2, 159 (48%) CIN3, and 3 (<1%) had CC. In those with glandular lesions, 13 (4%) had AIS and 10 (3%) had CC. For statistical purposes, CIN2, CIN3 and CC were grouped as CIN2 or worse (223 cases (68%).

Statistical analysis

Data were stored in electronic sheets and analysed with the R Environment for Statistical Computing. $P < 0.05$ was considered significant. Fisher's Exact tests were used to compare the prevalence of single and multiple HPV infection across histological (CIN1, CIN2 or worse, and glandular) strata. Chi-squares (and Fisher's Exact test where appropriate) were used to compare the prevalence of single and multiple HPV infections in different age groups.

Results

Table 1 shows cytology results and age strata of the women according to the final pathological diagnoses. For the majority of cases, the glandular and squamous nature of the cytology and final pathological diagnoses converged, as did the severity of the lesion. Thirty-six per cent of the women were 29 years old or younger, 49% were between 30 and 49 years old and 15% were older than 50 years.

In table 2, multiplicity of HPV infection is compared as related to the pathological diagnoses. Two-hundred eighty seven (87%) women had at least one HPV detected and 149 (52%) had MT infections. HPV was not detectable in 26% of CIN1, 6% of CIN2 or worse and 22% of the glandular lesions. Fifty seven *per cent* of the

women with CIN1 and 53% of those with CIN2 or worse had MT infections ($p=0.66$). For women with glandular lesions, 13 (72%) had ST and only 5 (28%) had MT infections. Women with squamous lesions had a significantly higher prevalence of MT infections compared to women with glandular lesions ($p=0.04$).

Table 3 shows the HPV types in ST and MT infections. HPV16 was detected in 142 cases (49% of all HPV positive cases) and topped the prevalence rank in both ST and MT groups. Infection by HPV58, HPV52, HPV31, HPV35 and HPV33 (all of them from alpha-9 group) followed. HPV18 was detected in only 23 cases (8% of all hr-HPV positive cases). ST HPV infections were less prevalent than their MT counterparts containing the same HPV type.

Table 4 compares ST and MT statuses of the most prevalent HPV types according to histology. MT infections with either or both HPV16 and HPV18 were significantly more prevalent in women with squamous than in those with glandular lesions ($p=0.04$ and 0.03 respectively). Although the majority of CIN2/worse were associated with hr-HPV, six cases were associated with lr-HPV types only. All glandular lesions were associated with HPV16 and/or HPV18, 13 of these in ST configuration. Only five glandular lesions had MT HPV infection associated with them.

Figure 2 shows the prevalence of ST and MT HPV infections as related to patients' age. MT infections are the most prevalent in younger women <29 years of age. At the strata age of 40-49 years threshold, the prevalence of ST and MT swaps in favour of ST infections. Another shift occurs at 50-59 years threshold, but ST infections prevail in older (≥ 60 years) women.

Discussion

In this study on 328 Brazilian women with pre-invasive and invasive squamous and glandular lesions, 60% of the women were detected with HPV16, but only 19% of the women had HPV16 as ST infection. HPV16 was followed in prevalence by other alpha-9 HPV types, and HPV18 appeared only in the seventh position. Women with squamous lesions had a higher proportion of MT infections compared to their counterparts with glandular lesions. Women with glandular lesions, by their turn, most likely had ST HPV16 or 18. A bimodal prevalence curve for MT infections shows prevalence peaks at a very young (<29 years) age and in women 50-59 years of age.

In this mostly urban study, HPV infection with HPV16, followed by HPV58, 52, 31, 35 and 33, were typical. The most common HPV types are essentially from the alpha-9 group, which are the most frequently detected types in women with squamous lesions. Simonella *et al.* [18] found similar trends in New Zealander women with CIN2 or worse aged 20-69 years, for whom HPV16 was the most prevalent HPV type detected (found in 44.1% of the women) followed by HPV52 (16.8%), HPV31 (15.2%), HPV33 (11.8%), HPV18 (11.3%) and HPV58 (10.1%). Quint *et al.* [19] found that the most common HPV type in women with CIN3 was HPV16, accounting for 56.9% of ST and MT infections. This type followed by HPV31 (10.0%), 52 (8.4%) and 18 (4.6%). In their study, only two CIN3 samples were positive for any single hr-HPV: HPV6 was detected in both cases as a ST infection. Kirschner *et al.* [20] studied 266 Danish women with CIN2 and/or CIN3 and seven with AIS. In that sample, 77.9% of the women were diagnosed with a ST infection. The most prevalent HPV types were: HPV16, detected >50% of the sample, followed by HPV33, 31, 18 and 52. Only 21.4% were diagnosed with MT infections.

The prevalence of the HPV types in women with squamous cervical lesions differs from that in women with normal cervix. In a previous study with 1,509 Brazilian healthy young women of five different centres, aged 15 to 25 years, we found an overall prevalence of HPV of 29.7%. The most prevalent HPV type was HPV16, followed by HPV51, 52, 31 and 68 [21]. Among 8,656 healthy Danish women aged 20 to 29 years, the prevalence of HPV types in decreasing rank was HPV16 followed by HPV31, 52, 51, 33, 39, 45 e 56 [10]. In their study, women infected by alpha-9 HPV types were at a higher risk of developing CIN2 or worse lesion during a 10-year follow-up period [10].

In our study, squamous lesions were associated with a higher prevalence of MT infections compared to women with glandular lesions. It remains largely unknown whether MT infections are associated with a higher risk of developing squamous cervical lesions. In our study, in spite of the limited sample size, we found no difference in ST and MT prevalence comparing women with CIN1 with those with CIN2 or worse. By contrast, Pista *et al.* [12], studying Portuguese women, found a significant association between MT infections and disease severity. Argyri *et al.* [11] also found that MT infections were significantly more common in women with SIL compared with healthy women.

In our sample, glandular lesions were associated essentially with HPV16 or 18 ST infections. Quint *et al.* [19] also detected ST HPV16 or HPV18 infections in excess of 70% of women with AIS or glandular-type CC. In the series, HPV35 and 45 accounted for one case of AIS (3.0%) and 10.9% of CC.

Our results may bear significance in the era of prophylactic HPV vaccination. Both bivalent and quadrivalent prophylactic HPV vaccines target hr-HPV16 and 18 and had demonstrated different cross protection against HPV31, 33, 45, 52 and 58, potentially diverting 90% of cervical cancer risk. In addition to a new nonavalent vaccine against

HPV16, 18, 31, 33, 45, 52 and 58 - now in phase 3 testing - protection against the most prevalent HPV types is in sight [22].

The main strength of this study is that all women had a complete histological evaluation, giving to our sample a strong reliability related to the gravity of the cervical lesion. We also took care to assess all known HPV types using reverse line blot hybridization assay, which is an accurate and sensitive method. On the other hand, the sample of women with glandular lesions is very limited, which unfortunately is a common situation in most recent papers on the subject.

Collectively, our data indicate that prevention strategies for pre-invasive and invasive squamous lesions should be focused on HPV16 and a few alpha-9 HPV types. It is clear to us that in young women, prophylaxis must cover a large amalgam of HPV types beyond classic HPV16 and 18. For the prevention of glandular lesions, ST HPV16 or 18 infections should be addressed, with other alpha-9 or alpha-7 HPV types being of marginal importance.

REFERENCES

1. IARC – International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Globocan 2008. Planning and Implementing Cervical Cancer Prevention and Control Programs – A manual for managers. Alliance for Cervical Cancer Prevention 2008. [http://screening.iarc.fr/manual/ACCP_screen.pdf].
2. INCA – Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. Coordenação nacional de prevenção e vigilância do câncer. Incidência do câncer no Brasil 2012. [<http://www1.inca.gov.br/estimativa/2012/>].

3. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(5):342-50.
4. Schiffman M, Castle PE. Human Papillomavirus: epidemiology and public health. *Arch Pathol Lab Med*. 2003;127(8):930-34.
5. Chen HC, You SL, Hsieh CY, Schiffman M, Lin CY, Pan MH, Chou YC, Liaw KL, Hsing AW, Chen CJ; CBCSP-HPV Study Group. Prevalence of genotype-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Taiwan: a community-based survey of 10,602 women. *Int J Cancer*. 2011;128(5):1192-203.
6. Khan S, Jaffer NN, Khan MN, Rai MA, Shafiq M, Ali A, Pervez S, Khan N, Aziz A, Ali SH. Human papillomavirus subtype 16 is common in Pakistani women with cervical carcinoma. *Int J Infect Dis*. 2007;11(4):313-7.
7. Mirabello L, Schiffman M, Ghosh A, Rodriguez AC, Vasiljevic N, Wentzensen N, Herrero R, Hildesheim A, Wacholder S, Scibior-Bentkowska D, Burk RD, Lorincz AT. Elevated methylation of HPV16 DNA is associated with the development of high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer*. 2013;132(6):1412-22.
8. Pantawala IY, Bauer HM, Miyamoto J, Park IU, Huchko MJ, Smith-McCune KK. A systematic review of randomized trials assessing human papillomavirus testing in cervical cancer screening. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(5):343-53.
9. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human Papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2007;370(9590):890-907.
10. Kjør SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T. Long-term Absolute Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 3 or Worse Following Human Papillomavirus Infection: Role of Persistence. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(19):1478-88.

11. Argyri E, Papaspyridakos S, Tsimplaki E, Michala L, Myriokefalitaki E, Papassideri I, Daskalopoulou D, Tsiaoussi I, Magiakos G, Panotopoulou E. A cross sectional study of HPV type prevalence according to age and cytology. *BMC Infect. Dis.* 2013;13:53.
12. Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, Paixao MT, Real O. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Portugal: the CLEOPATRE Portugal Study. *Int J Gynecol Cancer.* 2011;21(6):1150-8.
13. Wentzensen N, Sun C, Ghosh A, Kinney W, Mirabello L, Wacholder S, Shaber R, LaMere B, Clarke M, Lorincz AT, Castle PE, Schiffman M, Burk RD. Methylation of HPV18, HPV31, and HPV45 genomes and cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(22):1738-49.
14. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlée F, Hildesheim A, Schiffman MH, Scott DR, Apple RJ. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol.* 2000;38:357-61.
15. Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P, Gadag V, Holloway G, Bartellas E, Kum N, Giede C, Lear A. Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as hybrid capture 2 assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *J Clin Microbiol.* 2011;49(2):557-64.
16. Nayar R, Solomon D. Second edition of The Bethesda System for reporting cervical cytology – atlas, website, and Bethesda interobserver reproducibility project. *Cytojournal.* 2004;1(1):4.

17. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkins EJ. Histological typing of female genital tract tumors. In *World Health Organization. International Histological Classification of Tumors*. 2nd edition. Berlin: Springer-Verlag; 1994:36-49.
18. Simonella LM, Lewis H, Smith M, Neal H, Bromhead C, Canfell K. Type-specific oncogenic human papillomavirus infection in high grade cervical disease in New Zealand. *BMC Infect Dis*. 2013;13:114.
19. Quint KD, de Koning MN, van Doorn LJ, Quint WG, Pirog EC. HPV genotyping and HPV16 variant analysis in glandular and squamous neoplastic lesions of the uterine cervix. *Gynecol Oncol*. 2010;117(2):297-301.
20. Kirschner B, Schledermann D, Holl K, Rosenlund M, Raillard A, Quint W, Molijn A, Jenkins D, Junge J. HPV-genotypes in high-grade intraepithelial cervical lesions in Danish women. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2013;92(9):1032-40.
21. Roteli-Martins CM, de Carvalho NS, Naud P, Teixeira J, Borba P, Derchain S, Tying S, Gall S, Diaz A, Blatter M, Shier RM, Romanowski B, Quint WG, Issam J, Galindo C, Schuind A, Dubin G. Prevalence of human papillomavirus infection and associated risk factors in young women in Brazil, Canada, and the United States: a multicenter cross-sectional study. *Int J Gynecol Pathol*. 2011;30(2):173-84.
22. Van de Velde N, Boily MC, Drolet M, Franco EL, Mayrand MH, Kliewer EV, Coutlée F, Laprise JF, Malagón T, Brisson M. Population-Level Impact of the Bivalent, Quadrivalent, and Nonavalent Human Papillomavirus Vaccines: A Model-Based Analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104:1712-23.

Table 1. Women distribution according to cytology and age and histology results

	TOTAL n (%)	Squamous lesions				Glandular lesions	
		CIN1 n (%)	CIN2 n (%)	CIN3 n (%)	CC n (%)	AIS n (%)	CC n (%)
Cytology							
Normal	37 (11)	19 (23)	6 (10)	12 (7)	0	0	0
Squamous lesions							
ASC	41 (13)	21 (26)	6 (10)	14 (9)	0	0	0
LSIL	17 (5)	11 (13)	5 (8)	1 (1)	0	0	0
HSIL	157 (48)	16 (20)	34 (56)	100 (63)	3 (100)	3 (24)	1 (10)
Glandular lesions							
AGC	65 (20)	15 (18)	9 (15)	27 (17)	0	8 (60)	6 (60)
AGC-HSIL	6 (2)	0	1 (1)	4 (2)	0	1 (8)	0
AIS	5 (<2)	0	0	1 (1)	0	1 (8)	3 (30)
Age							
≤ 19	12 (4)	5 (6)	3 (5)	3 (2)	1 (33)	0	0
20-24	41 (12)	17 (21)	7 (11)	17 (11)	0	0	0
25-29	66 (20)	18 (22)	15 (25)	31 (20)	0	1 (8)	1 (10)
30-34	51 (16)	11 (13)	10 (17)	26 (16)	0	4 (30)	0
35-39	36 (11)	11 (13)	6 (10)	16 (10)	1 (33)	1 (8)	1 (10)
40-44	40 (12)	6 (7)	8 (13)	24 (15)	0	1 (8)	1 (10)
45-49	34 (10)	7 (9)	7 (11)	16 (10)	0	3 (22)	1 (10)
50-54	26 (8)	6 (7)	2 (3)	12 (8)	0	1 (8)	5 (50)
55-59	10 (3)	1 (2)	1 (2)	7 (4)	0	1 (8)	0
≥60	12 (4)	0	2 (3)	7 (4)	1 (33)	1 (8)	1 (10)
Total	328 (100)	82 (100)	61 (100)	159 (100)	3 (100)	13 (100)	10 (100)

ASC= atypical squamous cells; LSIL= low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL= high grade squamous intraepithelial lesion; AGC= atypical glandular cells; AIS= *in situ* adenocarcinoma. CIN= cervical intraepithelial lesion; CC= cervical cancer.

Table 2. Multiplicity of HPV infection according to histopathology

HPV infection	Squamous lesions				Glandular lesions	
	CIN1		CIN2 or worse			
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
HPV detectable	60	(74)	209	(94)	18	(78)
<i>Single infection</i>	26	(43)	99	(47)	13	(72)
<i>Multiple infection</i>	34	(57)	110	(53)	5	(28)
HPV not detectable	22	(26)	14	(6)	5	(22)
TOTAL	82	(100)	223	(100)	23	(100)

HPV infections, whether ST or MT, did not differ in women with CIN1 or CIN2 or worse ($p=0.66$). The prevalence of MT infection was significantly higher in women with CIN2 or worse compared to those with glandular lesions ($p=0.04$)

Table 3. HPV types in single and multiple infections

HPV type	ST infection		MT infection		Total
	n	(%)	n	(%)	n
hr-HPV					
16	61	(43)	81	(57)	142
58	12	(27)	33	(73)	45
52	9	(26)	25	(74)	34
31	11	(34)	21	(66)	32
35	6	(22)	21	(78)	27
33	7	(26)	20	(74)	27
18	4	(17)	19	(83)	23
51	3	(14)	18	(86)	21
45	3	(21)	11	(79)	14
56	2	(20)	8	(80)	10
39	2	(20)	8	(80)	10
Other hr-HPV	10	(17)	49	(83)	59
Any hr-HPV	130	(47)	148	(52)	278
lr-HPV					
6	3	(37)	5	(63)	8
11	1	(100)	0		1
Other lr-HPV	4	(8)	48	(92)	52
Any HPV	138	(48)	149	(52)	287

All HPV types from single to multiple infections were computed individually, for % calculation the denominator is represented by the total number of infections (single or multiple) by type. From alfa-9 HPV group: 16, 31, 33, 35, 52 and 58. From alfa-7 HPV group: 18, 39 and 45.

Table 4. Single and Multiple HPV infection status according to histopathologic diagnoses

HPV type	Type of infection	CIN1 (n=60)		CIN2 or worse (n=209)		Glandular (n=18)		P1 CIN 1 vs CIN 2 or worse	P2 CIN 2 or worse vs glandular
		n	(%)	n	(%)	n	(%)		
hr-HPV									
16	Single	6	(10)	45	(22)	10	(55)	0.46	0.04
	Multiple	13	(22)	64	(31)	4	(22)		
58	Single	0		12	(6)	0		0.08	
	Multiple	8	(13)	24	(11)	1	(5)		
52	Single	0		9	(4)	0		0.29	1
	Multiple	5	(8)	19	(9)	1	(5)		
31	Single	4	(7)	7	(3)	0		0.68	NC
	Multiple	5	(8)	16	(8)	0			
35	Single	2	(3)	4	(2)	0		1	0.98
	Multiple	7	(12)	13	(6)	1	(5)		
33	Single	1	(<2)	6	(3)	0		1	NC
	Multiple	2	(3)	17	(8)	0			
18	Single	1	(<2)	0		3	(17)	NC	0.03
	Multiple	2	(3)	3	(<2)	4	(22)		
51	Single	1		2	(1)	0		1	1
	Multiple	7	(12)	10	(5)	1	(5)		
45	Single	0		3	(<2)	0		1	NC
	Multiple	2	(3)	8	(4)	1	(5)		
56	Single	0		2	(1)	0		1	NC
	Multiple	3	(5)	6	(3)	0			
39	Single	1	(<2)	1	(<1)	0		1	NC
	Multiple	3	(5)	5	(2)	0			
Other hr-HPV	Single	6	(10)	4	(2)	0		0.07	1
	Multiple	13	(22)	34	(16)	1	(5)		
Any hr- HPV	Single	22	(37)	95	(45)	13	(72)	0.36	<0.05
	Multiple	34	(57)	110	(53)	5	(28)		
lr-HPV									
6	Single	2	(3)	1	(<1)	0		1	NC
	Multiple	2	(3)	3	(<2)	0			
11	Single	0		1	(<1)	0		NC	NC
	Multiple	0		0		0			
Others lr-HPV	Single	6	(10)	4	(2)	0		0.14	NC
	Multiple	15	(25)	34	(16)	1	(5)		
Any HPV	Single	26	(43)	99	(47)	13	(72)	0.66	0.04
	Multiple	34	(57)	110	(53)	5	(28)		

Prevalence was calculated by dividing the number of infected cases per HPV type by the number of women with the histopathologic diagnosis. Totals surpass 100% because women with MT infections are counted at least twice. P1 comparing CIN 1 and CIN 2 or worse; P2 comparing CIN 2 or worse vs. glandular lesion. Chi square and Fisher's tests were used when appropriate.

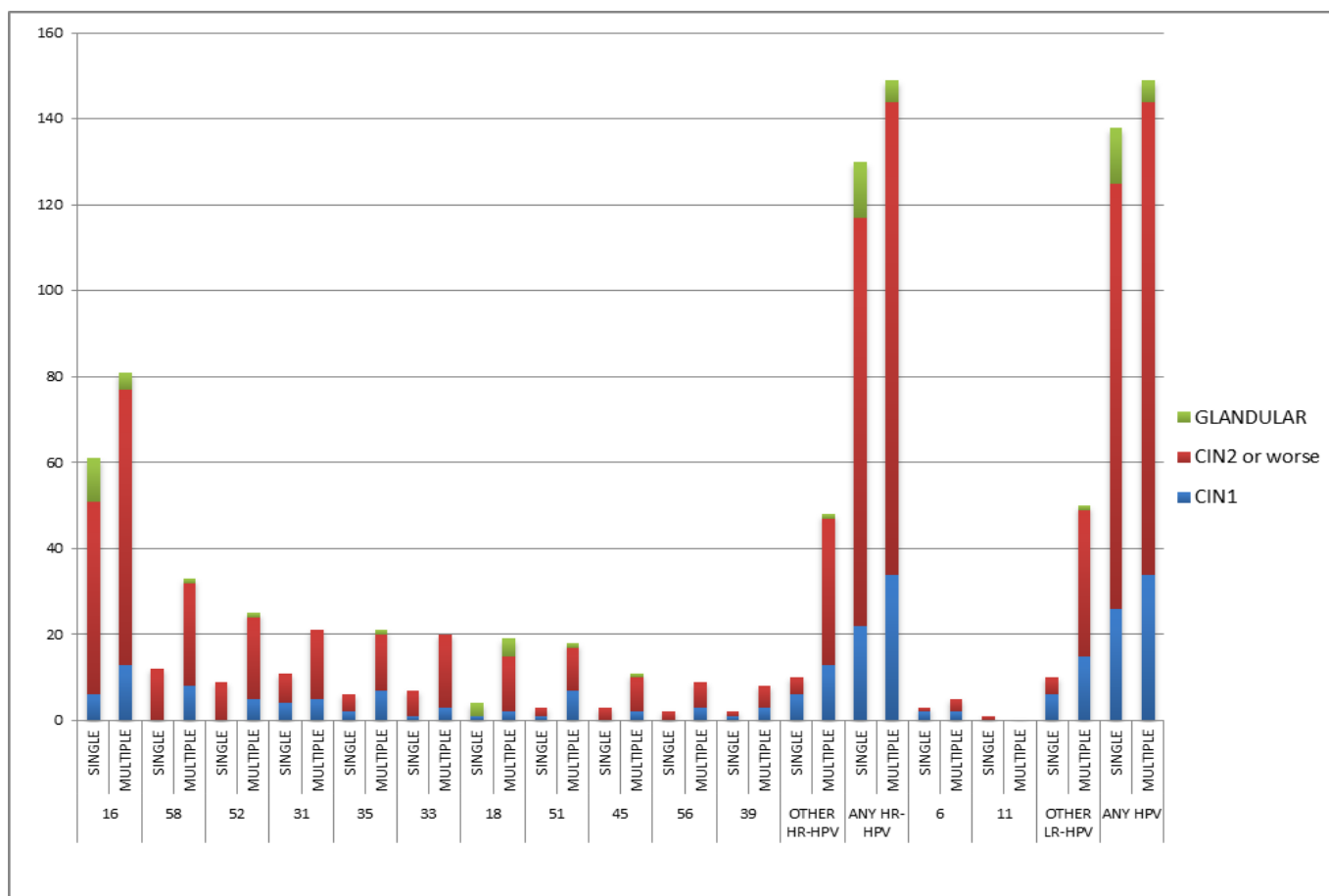
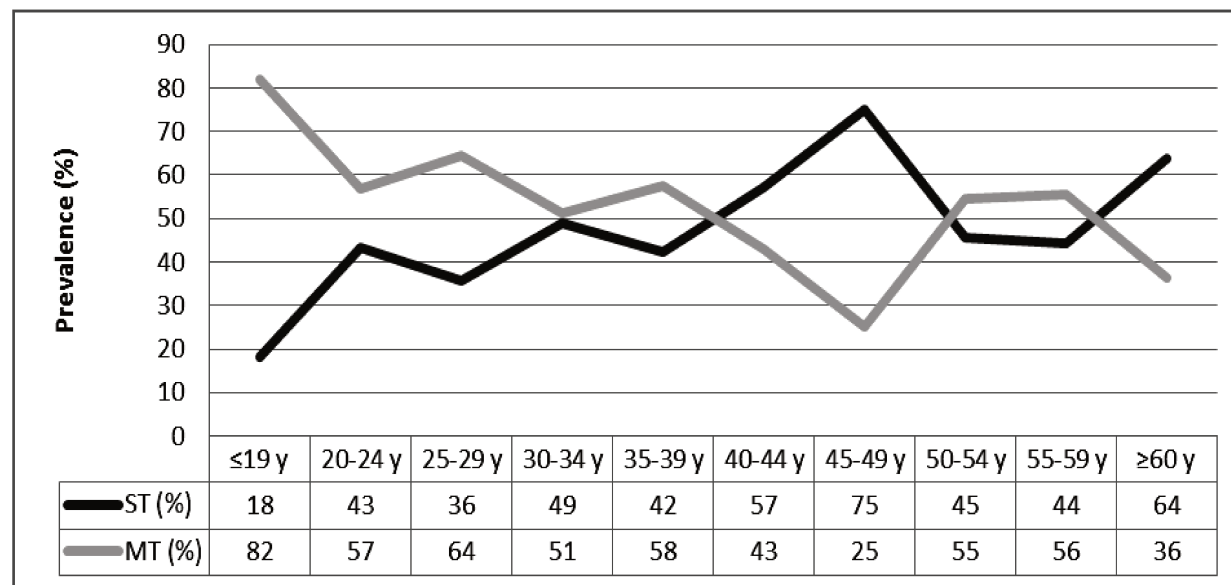


Figure 1. Prevalence of type of infection (single or multiple), according to histologic lesion. Glandular= *in situ* and invasive adenocarcinoma; CIN2 or worse= cervical intraepithelial neoplasia grade 2, 3 and invasive squamous carcinoma; CIN1= cervical intraepithelial neoplasia grade 1.



y=years

Figure 2. Prevalence of single-type (ST) and multiple-type (MT) HPV infection *per* age strata.

4. Conclusões

- Oitenta e sete por cento das mulheres apresentaram pelo menos um tipo de HPV detectável, sendo a infecção múltipla em 52%. As infecções múltiplas foram significativamente mais prevalentes em mulheres com lesões cervicais escamosas, quando comparadas àquelas com lesões glandulares.
- O tipo de HPV mais prevalente foi o 16, seguido dos tipos 58, 52, 31, 35, 33 e 18.
- Infecções múltiplas por HPVs 16 e 18 foram, significativamente, mais prevalentes em mulheres com lesões escamosas, quando comparadas àquelas com lesões glandulares; embora a maior parte das lesões NIC2 ou mais graves foram associadas com infecções por HPV de alto risco. Em seis casos encontrou-se apenas HPV de baixo risco. Todas as lesões glandulares foram associadas a HPV16 ou 18, sendo, a maioria, com infecção simples.
- Mulheres mais jovens, com menos de 25 anos, apresentaram uma prevalência significativamente maior de infecções múltiplas por HPV (62,5%). Essa tendência se inverte quando comparamos mulheres na faixa etária de 45 a 49 anos, que apresentaram a prevalência de 75% de infecções simples.

5. Referências Bibliográficas

1. Globocan. IARC.– International Agency for Research on Cancer. World Health Organization. Globocan 2008. Planning and Implementing Cervical Cancer Prevention and Control Programs – A manual for managers. Alliance for Cervical Cancer Prevention. 2008 [acesso em 2013 Jul 31]. Disponível em http://screening.iarc.fr/manual/ACCP_screen.pdf.
2. INCA – Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. Coordenação nacional de prevenção e vigilância do câncer. Incidência do câncer no Brasil. 2012 [acesso em 2013 Aug 01]. Disponível em <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2012/>.
3. Ljubojević S, Lipozencić J, Grgec DL, Prstacić R, Skerlev M, Mokos ZB. Human papilloma virus associated with genital infecton. Coll Antropol. 2008;32(3):989-97.
4. Schiffman M, Castle PE. Human Papillomavirus: epidemiology and public health. Arch Pathol Lab Med. 2003;127(8):930-34.
5. Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, Paixao MT, Real O. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Portugal: the CLEOPATRE Portugal Study. Int J Gynecol Cancer. 2011;21(6):1150-8.

6. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers. Classification of Papillomaviruses (PVs) Based on 189 PV Types and Proposal of Taxonomic Amendments. *Virology*. 2010 May 25; 401(1): 70–9.
7. Chen HC, You SL, Hsieh CY, Schiffman M, Lin CY, Pan MH et al. Prevalence of genotype-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Taiwan: a community-based survey of 10,602 women. *Int J Cancer*. 2011;128(5):1192-203.
8. Khan S, Jaffer NN, Khan MN, Rai MA, Shafiq M, Ali A, et al. Human papillomavirus subtype 16 is common in Pakistani women with cervical carcinoma. *Int J Infect Dis*. 2007;11(4):313-7.
9. Pantawala IY, Bauer HM, Miyamoto J, Park IU, Huchko MJ, Smith-McCune KK. A systematic review of randomized trials assessing human papillomavirus testing in cervical cancer screening. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(5):343-53.
10. Wentzensen N, Sun C, Ghosh A, Kinney W, Mirabello L, Wacholder S et al. Methylation of HPV18, HPV31, and HPV45 genomes and cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(22):1738-49.
11. Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D, Bentley J, Escott N, Ghatage P et al. Aptima HPV E6/E7 mRNA test is as sensitive as hybrid capture 2 assay but more specific at detecting cervical precancer and cancer. *J Clin Microbiol*. 2011;49(2):557-64.
12. Simonella LM, Lewis H, Smith M, Neal H, Bromhead C, Canfell K. Type-specific oncogenic human papillomavirus infection in high grade cervical disease in New Zealand. *BMC Infect Dis*. 2013;13:114.

13. Argyri E, Papaspyridakos S, Tsimplaki E, Michala L, Myriokefalitaki E, Papassideri I et al. A cross sectional study of HPV type prevalence according to age and cytology. *BMC Infect Dis.* 2013;13:53.
14. Gravitt PE, Peyton CL, Alessi TQ, Wheeler CM, Coutlée F, Hildesheim A et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin Microbiol.* 2000;38:357-61.
15. Kirschner B, Schledermann D, Holl K, Rosenlund M, Raillard A, Quint W et al. HPV-genotypes in high-grade intraepithelial cervical lesions in Danish women. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2013;92(9):1032-40.
16. Roteli-Martins CM, de Carvalho NS, Naud P, Teixeira J, Borba P, Derchain S et al. Prevalence of human papillomavirus infection and associated risk factors in young women in Brazil, Canada, and the United States: a multicenter cross-sectional study. *Int J Gynecol Pathol.* 2011;30(2):173-84.
17. Van de Velde N, Boily MC, Drolet M, Franco EL, Mayrand MH, Kliever EV et al. Population-Level Impact of the Bivalent, Quadrivalent, and Nonavalent Human Papillomavirus Vaccines: A Model-Based Analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104:1712-23.
18. Kjør SK, Frederiksen K, Munk C, Iftner T. Long-term Absolute Risk of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 3 or Worse Following Human Papillomavirus Infection: Role of Persistence. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102(19):1478-88.
19. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RJ, Silverberg SG, Wilkins EJ. Histological typing of female genital tract tumors. In: World Health Organization(org.). *International Histological Classification of Tumors.* 2nd edition. Berlin: Springer-Verlag; 1994. p.36-49.

20. Zeferino LC, Rabelo-Santos SH, Villa LL, Sarian LO, Costa MC, do Amaral Westin MC et al. Value of HPV-DNA test in women with cytological diagnosis of atypical glandular cells (AGC). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;159(1):160-4.
21. Diaz-Montes TP, Farinola MA, Zahurak ML, Bristow RE, Rosenthal DL. Clinical utility of atypical glandular cells (AGC) classification: cytohistologic comparison and relationship to HPV results. *Gynecol Oncol.* 2007;(104):366–71.
22. Westin MC, Derchain SF, Rabelo-Santos SH, Angelo-Andrade LA, Sarian LO, Oliveira E et al. Atypical glandular cells and adenocarcinoma in situ according to the Bethesda 2001 classification: cytohistological correlation and clinical implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;139(1):79-85.

6. Anexos

6.1. Anexo 1 – Parecer do CEP – Goiás



Goiânia, 05 de julho de 2005.

Comitê de Ética em Pesquisa da Santa Casa de Misericórdia de Goiânia

Registro CEP: 003/05

Projeto: "Estudo Epidemiológico e Molecular da Infecção Pelo Papilomavirus Humano (HPV) em Mulheres Portadoras de Lesões Cervicais em uma Área de Alta Prevalência de Câncer do Colo Uterino - Região Centro-Oeste"

Orientador: Profª Ms Silvia Helena Rabelo dos Santos

Pesquisadora: Ms Rosane Ribeiro Figueiredo, Dra. Katiuscia Zanelli da Silva, Ms Megmar Aparecida dos S. Carneiro, Dra. Suelene Brito N. Tavares, Dra. Luisa Lina Villa, Dra. Andréa Trevisan, Profª Luiz Carlos Zeferino, Dra. Sophie Françoise Mauricette Derchain, Dra. Maria Cristina do A. Westin e Dr. Adhemar Longatto Filho

O Comitê de Ética em Pesquisa da Santa Casa de Misericórdia de Goiânia, vem por meio deste, informá-las que o seu Projeto de Pesquisa, titulado "Estudo Epidemiológico e Molecular da Infecção Pelo Papilomavirus Humano (HPV) em Mulheres Portadoras de Lesões Cervicais em uma Área de Alta Prevalência de Câncer do Colo Uterino - Região Centro-Oeste", foi analisado e aprovado por este Comitê, de acordo com as normas e diretrizes vigentes.

Situação: Projeto Aprovado

Recomendamos fiel observância aos termos da Resolução nº 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, durante toda a pesquisa.

Solicitamos o encaminhamento de relatórios periódicos a este Comitê de Ética em Pesquisa, informando sobre o desenvolvimento da pesquisa e resultados.

Atenciosamente,


Janeslane Ferreira Mariel

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

6.2. Anexo 2 – Pareceres do CEP – UNICAMP (Campinas)



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

✉ Caixa Postal 6111
13083-970 Campinas, SP
☎ (0__19) 3788-8936
fax (0__19) 3788-8925
✉ cep@head.fcm.unicamp.br

CEP, 16/04/02
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 137/2002

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “RELAÇÃO ENTRE CRITÉRIO MORFOLÓGICOS E TIPOS DE HPV DETECTADOS POR PCR EM MULHERES COM ATIPIAS DE CÉLULAS GLANDULARES DO COLO UTERINO COM O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO”
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Silvia Helena Rabelo dos Santos
INSTITUIÇÃO: CAISM/UNICAMP
APRESENTAÇÃO AO CEP: 12/03/2002

II - OBJETIVOS

O Objetivo deste trabalho será avaliar a associação entre os critérios morfológicos observados no exame citopatológico de mulheres com atipias em células epiteliais glandulares e a presença de tipos específicos de HPV oncogênicos e verificar a possibilidade desta associação ser preditiva do diagnóstico histopatológico e da evolução do caso. Serão inicialmente identificados nos esfregaços, os critérios morfológicos presentes no exame citopatológico que determinou a inclusão da mulher no estudo e o diagnóstico será classificado em Atipia glandular, Atipia glandular provavelmente neoplásica e Adenocarcinoma *in situ*.

III - SUMÁRIO

Este será um estudo prospectivo tipo corte transversal e coorte. O período previsto para a coleta dos dados é de um ano. Serão incluídas 173 mulheres com diagnóstico citopatológico de atipias de células glandulares, cujos exames foram avaliados pelo Laboratório de Citopatologia do Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher (CAISM). As mulheres serão atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical, de acordo com a rotina assistencial vigente. Será acrescido colheita de material cérvico-vaginal para pesquisa de DNA de HPV por PCR utilizando os primers PGMY09 e PGMY11 e a genotipagem será realizada através de hibridização reversa em pontos. O diagnóstico final será baseado no exame histopatológico e no seguimento dos casos. A associação dos critérios morfológicos individuais dos exames citopatológicos com o tipo de HPV e o diagnóstico histopatológico será analisada com o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher e a medida da magnitude

da associação, por valores estimados de *odds ratio*. A análise da associação dos critérios morfológicos na predição da evolução será feita através de modelos de árvore de decisão, com a inclusão de todos os critérios morfológicos e a presença e o tipo viral.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

É um estudo de grande alcance social. As participantes do estudo terão risco mínimo e grandes vantagens. O protocolo é bem elaborado e o termo de consentimento é adequado.

O referido estudo preenche os requisitos da Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e 251/97, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

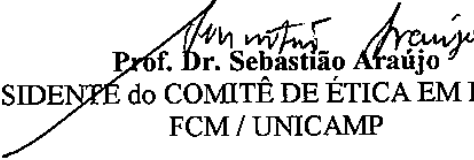
Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e).

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

Atenção: Projetos de Grupo I serão encaminhados à CONEP e só poderão ser iniciados após Parecer aprovatório desta.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na IV Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 16 de abril de 2002.


Prof. Dr. Sebastião Araújo
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

 www.fcm.unicamp.br/pesquisa/cep/index.html

CEP. 25/09/07.
(PARECER CEP: Nº 137/2002)

PARECER

I - IDENTIFICAÇÃO:

**PROJETO: “RELAÇÃO ENTRE CRITÉRIO MORFOLÓGICOS E TIPOS DE HPV
DETECTADOS POR PCR EM MULHERES COM ATÍPIAS DE CÉLULAS
GLANDULARES DO COLO UTERINO COM O DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO”**

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Silvia Helena Rabelo dos Santos

II - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou o Adendo que acrescenta exames histopatológicos, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

Homologado na IX Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 25 de setembro de 2007.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP