

**ELIANE REGINA ZABELLI MESQUITA DE OLIVEIRA**

---

---

**DETECÇÃO DE INFECÇÃO GENITAL POR *PAPILOMAVÍRUS HUMANO* E ANORMALIDADES CITOLÓGICAS EM MULHERES JOVENS DE BAIXO RISCO PARA DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS**

---

---

**Dissertação de Mestrado**

**ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN  
CO-ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. CECÍLIA MARIA ROTELLI-MARTINS**

**UNICAMP  
2002**

**ELIANE REGINA ZABELLI MESQUITA DE OLIVEIRA**

---

---

**DETECÇÃO DE INFECÇÃO GENITAL POR *PAPILOMAVÍRUS HUMANO* E ANORMALIDADES CITOLÓGICAS EM MULHERES JOVENS DE BAIXO RISCO PARA DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS**

---

---

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: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN  
CO-ORIENTADORA: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. CECÍLIA MARIA ROTELLI-MARTINS**

**UNICAMP  
2002**

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

OL4d Oliveira, Eliane Regina Zambelli Mesquita de  
Detecção de infecção genital por *papilomavírus humano* e  
anormalidades citológicas em mulheres jovens de baixo risco  
para doenças sexualmente transmissíveis / Eliane Regina  
Zambelli Mesquita de Oliveira. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientadores : Sophie Françoise Mauricette Derchain, Cecília  
Maria Rotelli Martins

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Ciências Médicas.

1. PCR (Bioquímica). 2. Colo uterino- câncer. 3.  
Diagnóstico citológico. 4. Prevalência. I. Sophie Françoise  
Mauricette Derchain. II. Cecília Maria Rotelli Martins. III.  
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências  
Médicas. III. Título.

## **BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Aluna: ELIANE REGINA ZAMBELLI MESQUITA DE OLIVEIRA**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN**

**Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. CECÍLIA MARIA ROTELLI MARTINS**

### **Membros:**

1.

2.

3.

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

**Data: 16/10/2002**

*“Por meio do trabalho  
as mãos dos homens podem dar forma à vontade divina,  
construir a beleza e a harmonia,  
mover-se com graça e perfeição,  
ser instrumentos de espíritos criadores sublimes.”*

**Trigueirinho**

## ***Dedico este trabalho...***

*... aos meus pais, Aristides e Nilva,  
que sempre me apoiaram, com amor e dedicação,  
e ajudaram a tornar meus sonhos uma realidade.*

*...ao meu marido Regis,  
pela paciência e compreensão, pelo amor e carinho,  
e pelo significado em minha vida.*

*...ao meu filho Pedro e aos que ainda poderão chegar,  
pela alegria e pelos momentos mágicos  
de nossas vidas.*

*...aos meus irmãos Helder e Elaine,  
pelo carinho, apoio  
e incentivo.*

# Agradecimentos

---

*À Profa. Dra. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN, pelo incentivo e dedicação na orientação em todos os momentos desta pesquisa.*

*À Profa. Dra. CECÍLIA MARIA ROTELLI-MARTINS, pela co-orientação, sabedoria e pelo auxílio a esta dissertação.*

*Aos amigos Profs. Drs. LUIZ ANTONIO VERDIANI, JÚLIO CÉSAR TEIXEIRA e CÉSAR CABELLO DOS SANTOS, pela amizade, incentivo e apoio pessoal.*

*À Profa. Dra. MARIA JOSÉ DUARTE OSIS, pelo auxílio a esta dissertação.*

*À amiga Dra. ALESSANDRA C. PELOGGIA PINTO, pelo companheirismo e amizade sincera que nos acompanha em todos os momentos desde quando nos conhecemos.*

*À amiga Dra. PRISCILA GARCIA FIGUEIREDO, pela presença, conselhos e amizade.*

*À amiga Dra. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS, pelo carinho e colaboração na realização deste trabalho.*

*Às amigas SIMONE POLLINI GONÇALVES e NILVANA GOMES FELIPE CARMO,  
pela colaboração, amizade e incentivo.*

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

*A toda minha família pelo apoio e carinho.*

*A todos os amigos, professores, médicos e funcionários cujos nomes deixo de citar, mas  
que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, deixo  
meus sinceros agradecimentos.*

*“Existem horas em que a gente não sabe o que dizer,  
e momentos em que não precisamos dizer nada;  
o olhar, a emoção e o calor humano nos traduzem  
tudo o que meras palavras não poderiam expressar.  
Apenas quebrariam o encanto e a magia.  
Mas não poderíamos deixar de dizer*

*MUITO OBRIGADO”*

Estudo parcialmente patrocinado pela  
**SmithKline Beecham Biologicals**  
Protocolo n°999910/106  
(HPV-106)

# Sumário

---

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	
Resumo	
Summary	
1. Introdução .....	16
2. Objetivos .....	26
2.1. Objetivo geral .....	26
2.2. Objetivos específicos .....	26
3. Sujeitos e Métodos.....	27
3.1. Tipo de estudo.....	27
3.2. Cálculo do tamanho amostral .....	27
3.3. Seleção dos sujeitos .....	28
3.3.1. Critérios de inclusão.....	28
3.3.2. Critérios de exclusão.....	29
3.4. Coleta de dados .....	31
3.4.1. Procedimentos realizados na consulta .....	31
3.5. Definição dos métodos e conceitos .....	32
3.5.1. Colpocitologia em meio líquido .....	32
3.5.2. Reação em cadeia da Polimerase (PCR) .....	33
3.6. Variáveis em estudo.....	35
3.6.1. DNA-HPV através da PCR.....	35
3.6.2. Resultado da colpocitologia em meio líquido.....	35
3.6.3. Outras variáveis .....	35
3.7. Processamento de dados .....	36
3.8. Análise estatística .....	37
3.9. Aspectos éticos .....	37
4. Resultados .....	39
4.1. Prevalência e tipo de DNA-HPV .....	39
4.2. Prevalência de alterações citológicas sugestivas de infecção por HPV.....	41
4.3. Alterações citológicas segundo a detecção e o tipo de DNA-HPV.....	43
4.4. Taxa de detecção do DNA-HPV e as alterações celulares segundo algumas variáveis sociodemográficas e reprodutivas .....	45
5. Discussão.....	49
6. Conclusões .....	59
7. Referências Bibliográficas.....	61
8. Bibliografia de Normatizações .....	70
9. Anexos .....	71
9.1. Anexo 1 - Consentimento livre e esclarecido.....	71
9.2. Anexo 2 - Questionário .....	81
9.3. Anexo 3 - Presença e tipo de DNA-HPV nas 600 mulheres avaliadas .....	87

# **Símbolos, Siglas e Abreviaturas**

---

<b>ACO</b>	Anticoncepcional oral
<b>AGUS</b>	<i>Atypical glandular cells of undetermined significance</i> (Atipia de células glandulares de significado indeterminado)
<b>ASCUS</b>	<i>Atypical squamous cells of undetermined significance</i> (Atipia de células escamosas de significado indeterminado)
<b>CAISM</b>	Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher
<b>CH II</b>	Captura Híbrida II
<b>CNS</b>	Conselho Nacional de Saúde
<b>CO</b>	Colpocitologia oncológica
<b>CONEP</b>	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucléico
<b>DST</b>	Doença sexualmente transmissível
<b>ELISA</b>	Enzima imuno ensaio
<b>et al.</b>	E outro(s), e outra(s)
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>HIV</b>	Vírus da imunodeficiência humana
<b>HPV</b>	<i>Papilomavírus humano</i>
<b>HSIL</b>	<i>High grade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão escamosa)

	intra-epitelial de alto grau)
<b>IC</b>	Intervalo de confiança
<b>LiPA</b>	<i>Line probe assay</i>
<b>LSIL</b>	<i>Low grade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão escamosa intra-epitelial de baixo grau)
<b>NIC</b>	Neoplasia intra-epitelial cervical
<b>OR</b>	<i>Odds ratio</i>
<b>PCR</b>	Reação em cadeia de polimerase
<b>SIL</b>	<i>Squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão escamosa intra-epitelial)
<b>STD</b>	<i>Sexually transmitted diseases</i>
<b>Unicamp</b>	Universidade Estadual de Campinas

# Resumo

---

**Objetivo:** avaliar a prevalência de infecção por *Papilomavírus humano* (HPV) em mulheres jovens com baixo risco para doenças sexualmente transmissíveis da região de Campinas e zona leste de São Paulo e sua relação com alterações citológicas pré-neoplásicas, segundo algumas variáveis sociodemográficas e reprodutivas. **Sujeitos e métodos:** foi realizado um estudo de corte transversal, entre setembro a novembro de 2000, com 600 mulheres de 15 a 25 anos com exame ginecológico aparentemente normal. Após avaliação dos critérios de inclusão e exclusão, as pacientes selecionadas responderam a um questionário relacionado aos dados demográficos. Foram submetidas à história médica e exame ginecológico com coleta de material para citologia cervical em base líquida e detecção de DNA-HPV por técnica da reação em cadeia de polimerase (PCR). Para análise estatística foram descritos como valores percentuais a prevalência do DNA-HPV e as alterações citológicas, e as associações com as variáveis sociodemográficas e reprodutivas foram mensuradas por *odds ratio* (OR). **Resultados:** a infecção genital pelo *papilomavírus humano* apresentou a prevalência de 29,3%, sendo que 148 (24,6%) apresentaram DNA-HPV de alto

risco oncológico e 56 (9,3%) DNA-HPV de baixo risco oncológico. A presença de atipias de células escamosas de significado indeterminado (ASCUS) foi a alteração citológica mais freqüente com uma prevalência de 11,3%. A alteração citológica sugestiva de lesão de baixo grau foi detectada em 7% dos casos e a de alto grau foi detectada em 0,5%. Nas mulheres com ASCUS na citologia, o DNA-HPV mais encontrado foi o de alto risco oncológico (38,2%). Nas lesões citológicas de baixo grau, o DNA-HPV de alto risco apresentou a prevalência de 53,5% e nas alterações citológicas sugestivas de lesão de alto grau apresentou-se em 100% dos casos. Houve associação significativa entre o estado civil e o número de parceiros sexuais com a detecção do DNA-HPV. O maior número de parceiros, juntamente com menor tempo de atividade sexual da mulher ( $\leq 2$  anos), aumentou significativamente a detecção do DNA-HPV (OR=19,0). O número de parceiros sexuais no último ano também esteve associado com a citologia anormal. **Conclusão:** Os resultados deste estudo evidenciaram a alta prevalência da infecção genital por DNA-HPV de alto risco entre pacientes jovens com baixo risco para doenças sexualmente transmissíveis, contribuindo com a caracterização do perfil desta população para futuros projetos para controle e erradicação dessa infecção com suas possíveis lesões pré-neoplásicas.

# Summary

---

**Objective:** to determine the prevalence of papillomavirus infection in young women characterizes by relatively low rates of sexually transmitted diseases (STDs) among women in region of Campinas and east area of São Paulo and the relationship with cervical cytologic diagnoses according to some sexual and demographic risk factors. **Subjects and methods:** 600 women 15 to 25 years of age with normal cervical examination and low risk of STD were enrolled in a cross-sectional study, from September to November 2000. After inclusion and exclusion criteria for enrolment were performed, the women complete a study questionnaire concerning general personal information and medical history. The cervical samples were collected for cytology testing using liquid-based and a PCR testing was performed to detect the high-risk and low-risk HPV-DNA genotypes. Descriptive analysis was made for the association between the results of HPV-DNA and the results of cytology. The odds ratio was calculated to verify the association between risk factors and the results of HPV-DNA and cytology. The logistic regression analysis was made to show association between HPV-DNA and risk factors. **Results:** HPV-DNA has been detected in

176 scrapes (29.3%), 148 containing a high-risk HPV (24.6%) and 56 containing a low-risk HPV (9.3%). The thin layer cytology detected 68 (11.3%) of atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) of 600 women, 42 (7%) diagnoses with low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) and 3 (0,5%) with high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL). Cytological abnormalities reported as ASCUS, the HPV-DNA more frequent detected was the high risk (38.2%). The smears reported as LSIL also presented high risk of HPV-DNA as more frequent. All cervical smears reported as HSIL presented high risk HPV-DNA type. The marital status (OR=2.12) and the number of sexual partners (OR=2.19) were significantly associated with the detection of HPV-DNA. Logistic regression analysis showed a significant association between HPV-DNA and the number of sexual partners. This association was more pronounced when the interval between the first sexual intercourse and examination was less than two years. The number of sexual partners at the last year, were significantly associated with an abnormal Pap test. The number of sexual partners at the last year was significantly associated with abnormal smears. **Conclusion:** The results of this study indicate the high prevalence of high-risk HPV among women with low risk of STD. The implication of these findings will contribute to characterize these young women population to development projects to the control of the genital *human papillomavirus* infection and yours squamous intraepithelial lesions.

# 1. Introdução

---

A infecção genital por *Papilomavírus humano* (HPV) é uma das doenças sexualmente transmissíveis (DST) mais comuns e sua prevalência em mulheres jovens varia de 20% a 46% em vários países (BAUER et al.,1991; FAIRLEY et al., 1994; EVANDER et al.,1995; KARLSSON et al.,1995; BURK et al.,1996). Porém, apenas 10% a 25% das mulheres infectadas pelo HPV de alto risco oncológico desenvolvem neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) de alto grau, NIC 2 ou 3, e menos de 1% câncer invasor. A infecção aguda costuma ser transitória, com duração de seis a dez meses, período em que as lesões precursoras de baixo grau regridem espontaneamente em 70% a 90% dos casos (HO et al.,1998).

O papel do HPV na carcinogênese de colo uterino tem sido exaustivamente investigado nos últimos tempos e está presente nos estudos epidemiológicos como principal fator de risco para lesões intra-epiteliais e invasivas (IARC, 1995; SCHIFFMAN & BURK, 1997). A relação do HPV com a carcinogênese depende, fundamentalmente, do tipo viral, se de alto ou de baixo risco oncológico, carga viral, persistência da infecção e integração com a célula

hospedeira (SYRJANEN & SYRJANEN, 2000). As evidências sugerem que a infecção pelo HPV é necessária, mas que fatores adicionais estão envolvidos na progressão das lesões precursoras (HERRERO et al., 1990; CUZICK et al., 1994; SCHIFFMAN & BRINTON, 1995; HO et al., 1998; SOUTHERN & HERRINGTON, 1998).

A partir do momento em que a mulher inicia a sua atividade sexual ela pode adquirir infecção pelo HPV. Aproximadamente 80% das mulheres que se infectam apresentam uma infecção transitória e não desenvolvem lesões intra-epiteliais (MELKERT et al., 1993). A capacidade de desenvolver anticorpos neutralizadores é crucial para que a infecção seja transitória sem desenvolver tais lesões. Mas em aproximadamente 20% das mulheres infectadas com HPV, a lesão intra-epitelial estará presente, porém a maioria delas também irá regredir com a eliminação espontânea do vírus (MEIJER et al., 2000).

Se o vírus não for eliminado, a infecção persistente pelo HPV de alto risco poderá resultar no desenvolvimento de lesões intra-epiteliais de alto grau e, depois de um período de aproximadamente 13 anos, poderá evoluir para câncer cervical invasivo. Esse longo período indica que, além da infecção pelo HPV de alto risco oncológico e dos fatores imunológicos, mudanças no genoma celular são adquiridas (MEIJER et al., 2000).

Devido à alta prevalência desta infecção e de seu modo principal de adquiri-la ser pela relação sexual, fica evidente a importância da idade do primeiro intercuro sexual e do número de parceiros sexuais como fatores de

risco (LEY et al.,1991; FRANCO et al.,1995; KJAER et al.,1997; KOUTSKY et al.,1997; KOLTLOFF et al., 1998; MOUGIN, BERNARD, LAB, 1998). Segundo MOUGIN et al. (1998), mulheres que tiveram seu primeiro intercuro sexual aos 16 anos apresentaram risco duas vezes maior de desenvolvimento de câncer cervical do que aquelas que tiveram seu primeiro intercuro após os 20 anos. Esses autores revelaram ainda que o risco de desenvolver câncer do colo uterino é aproximadamente dez vezes superior em mulheres que tiveram cerca de dez parceiros sexuais diferentes do que em mulheres que tiveram apenas um parceiro sexual (MOUGIN et al., 1998).

De modo geral, testes para detectar o agente causador de uma moléstia infecciosa tem sido a base do sucesso na luta contra a maioria das infecções no homem. A identificação da infecção por HPV propriamente dita inclui métodos biológicos desenvolvidos a partir dos anos 80, como as hibridizações moleculares de ácidos nucléicos, tipo *Southern Blot*, captura de híbridos, hibridização *in situ* e reação em cadeia de polimerase (PCR) (ALVES, 1996; SYRJÄNEN & SYRJÄNEN, 2000). Com a hibridização molecular possibilitou-se a detecção de seqüências do DNA viral em tumores humanos, sugerindo a existência de diferentes tipos de HPV.

A hibridização por *Southern Blot* era a considerada ideal, porém mostrou-se útil apenas em pesquisa. A hibridização *in situ* tem a vantagem de permitir a localização tecidual e até intracelular de seqüências nucleotídicas de vírus. Entretanto, sua sensibilidade é muito baixa, pois exige uma alta carga viral para uma boa visualização das reações (SYRJÄNEN & SYRJÄNEN, 2000).

Outros dois tipos de testes são freqüentemente usados para detecção do HPV. Um é baseado na detecção do HPV depois da amplificação com a técnica da PCR e o outro é a Captura Híbrida II (CH II), sistema baseado na detecção direta do DNA-HPV usando amplificação de sinais. Ambos são considerados adequados e úteis em estudos de rastreamento porque podem ser utilizados de forma simplificada e rápida (MEIJER et al., 2000). Comparando os métodos da PCR e CH II, estudos mostram concordância de 84% a 86% na detecção do HPV de alto risco (FARTHING et al., 1994; NINDL, 1995).

A utilização da técnica da PCR em estudos epidemiológicos permitiu a comprovação do HPV como principal fator de risco para a neoplasia cervical. A grande sensibilidade da PCR deriva do seu enorme potencial de amplificação de um segmento específico de DNA do agente investigado (LÖRINCZ, 1996; LANCELOTTI et al., 2000; VAN DOORN, KLETER, QUINT, 2001).

Na PCR, o DNA-alvo é seletivamente amplificado através de ciclos repetidos de denaturação, hibridização e extensão do *primer*, que é uma seqüência conhecida do DNA. A concentração do DNA-alvo eleva-se exponencialmente e, após 30 ciclos, são produzidas mais de 1 milhão de cópias de DNA-alvo. Portanto, pouco mais de dez a 100 moléculas de HPV-DNA podem ser amplificadas e detectadas dentro de uma biópsia ou de esfregaços contendo  $5 \times 10^4$  células. Os produtos amplificados no DNA (*amplicons*) são detectados por métodos convencionais, pelo coramento com etidium bromido e visualização a olho nu do fragmento específico amplificado após eletroforese com gel ou pelos exploradores oligonucleotídeos em formato ELISA. Muitos grupos alternativos de *primers* são

empregados para a detecção do HPV pela PCR. Dois grupos comumente empregados são um par de *primers* consenso MY09, MY11 e os *primers* gerais GP5, GP6; ambos os grupos de *primers* amplificam regiões no *frame* de leitura aberta L1 conservada. A região L1 é a parte mais conservada parte do genoma viral. O par *primer* MY produz um amplicon PCR de aproximadamente 450 nucleotídeos, enquanto o par *primer* GP produz um amplicon de aproximadamente 140 nucleotídeos, de uma região de L1 que se superpõe com MY. Ambos os métodos são razoavelmente equivalentes para uso *in vitro* (LÖRINCZ, 1996).

Um terceiro grupo de *primers* gerais ou de consenso de largo espectro é a combinação definida de *primers* não degenerados, que contém inosina, a qual combina com qualquer nucleotídeo. Dessa maneira, o oligonucleotídeo poderá ser sintetizado rapidamente e a PCR feita em uma ótima temperatura de anelamento. Exemplos desses *primers* são o PGMY e o SPF<sub>10</sub> (VAN DOORN et al., 2001).

Existem várias maneiras pela qual os *amplicons* HPV podem ser detectados e os tipos de HPV identificados. Originalmente, os *amplicons* eram eletroforizados em gels de tamanho, de modo que produtos específicos poderiam ser detectados. Tendo em vista que os diferentes tipos de HPV proporcionam *amplicons* com *primers* MY ou GP, que são difíceis de distinguir no seu tamanho pela eletroforese em gel, este método simplístico não é apropriado para a identificação do tipo de HPV. Uma melhoria no método emprega a digestão do amplicon com as endonucleases de restrição específicas para proporcionar padrões em banda que possam distinguir entre os tipos de HPV; entretanto, mesmo esta melhoria não

proporciona resultados ideais. Desenvolvimentos adicionais do teste da PCR levaram a procedimentos com base no ELISA de exploração do oligonucleotídeo razoavelmente sólidos, que podem proporcionar informações precisas para a identificação do tipo de HPV (LÖRINCZ, 1996). Esses procedimentos compreendem a hibridização do produto da PCR utilizando-se uma ou mais sondas oligonucleotídicas, a hibridização em microplacas e o método de hibridização reversa (VAN DOORN et al., 2001).

Devido à alta sensibilidade do método da PCR, pode-se encontrar 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. A grande vantagem do método é a multiplicidade de materiais, a partir dos quais se pode realizar a PCR (LÖRINCZ, 1996; LANCELOTTI et al., 2000; VAN DOORN, et al., 2001).

Clinicamente, os testes para detecção de DNA-HPV de alto risco oncológico podem ser aplicados nas seguintes áreas: rastreamento primário de câncer cervical, rastreamento primário em países subdesenvolvidos com ou sem a autoamostra vaginal (*self sampling*), triagem de pacientes com citologia oncológica (CO) com ASCUS ou AGUS, mulheres com leve a moderada discariose e detecção de lesões intra-epiteliais residuais ou recorrentes (MEIJER et al., 2000).

Atualmente, a maior parte do uso dos testes moleculares para detecção de HPV é restrita para pesquisa. Porém, a identificação de tipos de HPV oncológicos pode ser importante na decisão do tratamento ou seguimento da

paciente. Mulheres com infecção persistente pelo HPV podem ser de alto risco para o desenvolvimento subsequente de neoplasia cervical, quando comparadas com mulheres cuja infecção não seja persistente. Importante também é a detecção da carga viral, já que muitos estudos recentes mostram que a doença clínica está diretamente relacionada com a carga viral (SYRJÄNEN & SYRJÄNEN, 2000).

A distribuição dos tipos virais nas diferentes populações em diversas regiões do mundo não é uniforme (FRANCO et al., 1999; CHAN et al., 2001). Em estudo longitudinal realizado por FRANCO et al. (1999) com a PCR (MY09/11) na Maternidade Escola Vila Nova Cachoeirinha, verificou-se que na coorte estudada 38% de 1.425 mulheres com ou sem infecção, apresentaram um ou mais tipos de HPV detectados durante os 18 meses do acompanhamento do estudo. O tipo viral mais comum encontrado foi o HPV-16, com 19% de todos casos positivos no início do estudo. O segundo tipo viral mais detectado foi o HPV-53, com 10% de todos casos positivos, ao invés de ser o HPV 6/11, que é o segundo tipo viral mais comum nos estudos da América do Norte (SCHIFFMAN & BURK, 1997) e também foi o segundo mais comum em estudo prévio conduzido no Nordeste do Brasil (FRANCO et al., 1995). O HPV-58 foi o terceiro tipo viral mais freqüente. Já em outro estudo realizado entre prostitutas de Singapura foram detectados os tipos de HPV 16, 58 e 18 como sendo os mais comuns (CHAN et al., 2001).

A introdução de testes de DNA-HPV para utilização clínica tem sido muito estudada como método para melhorar o desempenho do diagnóstico das lesões precursoras do câncer cervical. Estes testes biomoleculares podem ser associados ao exame citológico ou substituí-lo como métodos de *screening* inicial. Trabalhos

mostraram que o teste de DNA-HPV é mais sensível que a repetição da citologia para a detecção de lesões de alto grau em mulheres com esfregaços citológicos com alterações morfológicas limítrofes (APGAR & BROTZMAN, 1999; CLAVEL et al., 1999; MANOS et al., 1999; LIAW et al., 2000; MEIJER et al., 2000; MONSONEGO, 2000; VACHER-LAVENU, 2000).

Entretanto, a única maneira de detectar se o HPV causou alguma alteração no epitélio cervical é através dos métodos diagnósticos morfológicos como a CO, que está em uso há mais de 50 anos e tem provado ser o método mais efetivo no rastreamento das lesões HPV induzidas (KOSS, 1989).

A citologia convencional conhecida, como Teste de Papanicolaou, foi um método desenvolvido pelo médico George Papanicolaou para identificação, ao microscópio, de células malignas ou pré-malignas (PAPANICOLAOU & TRAUT, 1941). Tais células são colhidas na região do orifício externo e do canal cervical, colocadas em uma lâmina transparente de vidro, fixadas, coradas e levadas ao exame de microscópio. A fim de que o teste seja eficiente, o esfregaço cervicovaginal deve conter células representativas da ectocérvice e da endocérvice, preservadas e em número suficiente para o diagnóstico morfológico (BETHESDA, 2001).

Entretanto, o desempenho da citologia convencional mostrou grande variação. As taxas de resultado falso negativo variam de 5% a 50% nos trabalhos publicados (SCHNEIDER et al., 1996; CUZICK et al., 1999). Os resultados falsos negativos são devidos principalmente a erros na amostra, não sendo encontradas

células anormais nas lâminas mesmo depois de revisadas (GAY, DONALDSON, GOELLNER,1985).

A citologia em meio líquido foi desenvolvida como alternativa para o método convencional na preparação das amostras cervicais e foi aprovada para uso clínico nos Estados Unidos em maio de 1996 (LINDER & ZAHNISER,1998). Esse sistema de coleta de material em meio líquido tem reduzido erros nos resultados da citologia cervical, já que possibilita a homogeneização do material colhido e permite uma amostragem uniforme. Ao invés de espalhar o material na lâmina, o mesmo é colocado em solução fixadora e as células são coletadas seletivamente em um filtro, sendo posteriormente transferidas para a lâmina. Essa técnica permite remover muco e hemácias, melhorando a fixação e preservação da estrutura, e facilitando a leitura. Porém, as diferenças morfológicas decorrentes do processamento podem dificultar a leitura, exigindo um treinamento adequado. Além disso, esse método tem custo mais elevado do que a citologia convencional (HUTCHINSON, 2000). Existem hoje vários métodos comercializados utilizados para a citologia em meio líquido: Thin Prep<sup>®</sup>, AutoCyte<sup>®</sup> e Citoliq<sup>®</sup> (GUPTA et al., 2001).

Em estudos e na prática clínica, o “*Thin Prep*” melhorado a qualidade da amostra, com o aumento da sensibilidade do exame reduzindo as taxas de resultado falso negativo. Essa nova tecnologia tem aumentado significativamente a detecção de lesões intra-epiteliais do colo uterino, possibilitando seu tratamento precoce ou seguimento mais rigoroso. Em estudo multicêntrico realizado na França com 5.428 mulheres, verificou-se que usando a mesma amostra celular houve aumento de 50% no diagnóstico citológico de lesões de baixo grau e 18% de

lesões de alto grau utilizando o método do “*Thin Prep*” quando comparado com a citologia convencional. Vale ressaltar que não houve confirmação histológica do diagnóstico nesse estudo (MONSONEGO et al., 2001).

Estudo realizado por CLAVEL et al. (2001) mostrou que a sensibilidade da citologia em meio líquido foi significativamente maior do que a citologia convencional (87,8% *versus* 68,1%). Este achado tem-se repetido em vários trabalhos publicados na literatura internacional (PAPILLO, ZARKA, ST-JOHN, 1998; SHERMAN et al., 1998; WEINTRAUB & MORABIA, 2000). Assim, apesar de a citologia em meio líquido sozinha já ser um método eficiente, quando associada aos testes de DNA-HPV aumenta a taxa de detecção de lesões de alto grau (CLAVEL et al., 2001).

Portanto, o HPV de alto risco oncológico é o principal fator associado ao câncer cervical, que é uma consequência rara de uma infecção persistente no epitélio cervical. Por isso, é importante estudar as aplicações dos testes de HPV de alto risco na condução de mulheres com lesões escamosas intra-epiteliais e no rastreamento de câncer cervical (MEIJER et al., 2000).

Por outro lado, tanto os testes biológicos quanto os morfológicos permitem traçar o perfil epidemiológico da prevalência da infecção por HPV e das lesões por ele induzidas. A avaliação da distribuição destas taxas de prevalência em mulheres jovens, com infecções subclínicas e lesões muito iniciais, podem trazer dados necessários ao desenvolvimento de vacinas profiláticas, as quais bloqueariam ou melhorariam os efeitos da infecção por HPV.

## 2. Objetivos

---

### 2.1. Objetivo geral

Determinar a prevalência e o tipo do DNA-HPV em mulheres jovens de baixo risco para DST e com exame ginecológico aparentemente normal da região de Campinas e zona leste de São Paulo, e sua relação com alterações citológicas pré-neoplásicas, segundo algumas variáveis sociodemográficas e reprodutivas.

### 2.2. Objetivos específicos

1. Determinar a prevalência e o tipo de DNA-HPV nesse grupo de mulheres.
2. Determinar a prevalência de alterações citológicas sugestivas de infecção por HPV nestas mulheres.
3. Avaliar a prevalência de infecção e os tipos de HPV em mulheres com alterações citológicas.
4. Estudar a associação entre algumas variáveis sociodemográficas e reprodutivas, a detecção do DNA-HPV e as alterações celulares.

## 3. Sujeitos e Métodos

---

### 3.1. Tipo de estudo

Foi realizado um estudo de corte transversal, sendo uma análise secundária de um estudo multicêntrico (HPV-106 protocolo n°9999910/106 – *SmithKline Beecham Biologicals*).

### 3.2. Cálculo do tamanho amostral

Este trabalho é parte de um estudo epidemiológico multicêntrico realizado na América do Norte e no Brasil que foi utilizado para o planejamento de um estudo-piloto sobre a eficácia de vacina para HPV. O tamanho da amostra foi estimado para confirmar a prevalência da infecção por HPV-16 ou HPV-18. Supondo que esta prevalência seja de aproximadamente 10%, o estudo terá o poder de confirmar que esta prevalência é inferior a 12% (protocolo de pesquisa n°9999910/106 - HPV-106 do estudo epidemiológico sobre o *Papilomavírus humano*).

Foram recrutadas 3.000 mulheres, sendo 1.500 na América do Norte (EUA e Canadá) e 1.500 no Brasil. Os centros de estudo do Brasil foram: Fortaleza, Curitiba, Porto Alegre, São Paulo e Campinas.

As amostras estudadas neste trabalho foram as da cidade de São Paulo e de Campinas, com respectivamente 301 e 299 mulheres incluídas.

### **3.3. Seleção dos sujeitos**

Para a realização deste estudo foram convidadas mulheres saudáveis de 15 a 25 anos a comparecerem no Ambulatório de Patologia Cervical do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) em Campinas e no Ambulatório de Patologia Cervical do Hospital Leonor Mendes de Barros, localizado na zona leste de São Paulo, no período de setembro a novembro de 2000. Para a seleção dos sujeitos foi realizado um *check list* avaliando critérios de inclusão e exclusão, relatados abaixo:

#### **3.3.1. Critérios de inclusão**

- Mulheres adolescentes e adultas entre (e inclusive) 15 e 25 anos de idade.
- Consentimento informado escrito obtido do indivíduo.
- Sem problemas de saúde evidentes conforme estabelecido pela história clínica e pelo exame físico direto.
- Útero intacto.

- Não mais que quatro parceiros sexuais em toda sua vida. Um parceiro sexual é definido como um parceiro com o qual o indivíduo teve relações sexuais ou contato de genital com genital.
- Estar usando ou desejar usar um método anticoncepcional efetivo (exemplo: dispositivo intra-uterino, contraceptivo oral, diafragma ou preservativo em combinação com geléia, creme ou espuma contraceptiva, Norplant<sup>®</sup> ou Depoprovera<sup>®</sup>) ou já terem sido submetidas à esterilização cirúrgica no momento do recrutamento.
- Concordar em completar o questionário do estudo relativo à informação pessoal geral, história sexual, história contraceptiva, história reprodutiva e história médico-ginecológica.

### **3.3.2. Critérios de exclusão**

- Administração crônica (definida como mais de 14 dias) de imunossupressores ou outras drogas modificadoras da imunidade nos últimos seis meses. Eram permitidos os esteróides inalados e tópicos.
- Uso de qualquer droga ou vacina em fase de pesquisa ou não registrada, durante o recrutamento.
- Corrimento vaginal anormal no momento do recrutamento (aquelas que apresentavam corrimento eram tratadas e tornavam-se elegíveis para fazer parte do estudo).
- Pacientes em tratamento ou aguardando tratamento para condilomas internos ou externos.
- História de citologia cervical anormal (exame de Papanicolaou), exceto quando houvesse um relato anterior e único de ASCUS com um exame subsequente normal.

- Tratamento de doença cervical com eletrocoagulação, crioterapia ou conização nos seis meses anteriores.
- Qualquer situação confirmada ou suspeita de imunossupressão ou imunodeficiência, inclusive infecção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV).
- História familiar de imunodeficiência congênita ou hereditária.
- Defeitos congênitos importantes ou enfermidade crônica grave.
- História de qualquer distúrbio neurológico ou convulsões.
- Anormalidade, aguda ou crônica, clinicamente significativa da função pulmonar, cardiovascular, hepática ou renal, como determinada pelo exame clínico.
- Temperatura axilar  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ .
- Mulheres grávidas ou amamentando.
- História de uso crônico de álcool e/ou abuso de drogas.

Inicialmente compareceram 339 mulheres em Campinas e 400 mulheres em São Paulo. Das 739 mulheres avaliadas, 299 em Campinas e 301 em São Paulo foram incluídas na pesquisa. O principal motivo de exclusão das pacientes, tanto em Campinas quanto em São Paulo, foi o número de parceiros sexuais maior do que quatro.

### 3.4. Coleta de dados

#### 3.4.1. Procedimentos realizados na consulta

Após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1) e terem sido submetidas ao “*check list*”, as mulheres selecionadas responderam a um questionário (Anexo 2) com dados demográficos, reprodutivos e história médica, e era coletado material para exame de urina para detectar gravidez. A seguir, as mulheres eram submetidas a exame físico geral e exame pélvico, incluindo amostra para citologia cervical e pesquisa do DNA-HPV. Para a coleta de material e realização da citologia cervical e PCR utilizou-se o *ThinPrep® Pap Test™* (Cytoc Corporation, Boxborough, MA, USA). A amostra foi colhida com uma escova cervical e uma espátula plástica de Ayre. Ambos os instrumentos foram passados no mesmo frasco de coleta contendo meio de conservação e transporte (*PreservCyt®*) para recuperação das células esfoliadas. As amostras foram conservadas refrigeradas entre 2°C e 10°C e enviadas em temperatura ambiente dentro de cinco a sete dias depois de colhidas para o laboratório *Quest Diagnostics* (Teterboro, NJ, USA). O laboratório utilizou as amostras para preparar uma alíquota para PCR e a amostra residual foi utilizada para o exame de citologia cervical.

Todos os dados obtidos foram anotados em fichas específicas, tendo sido abertos prontuários identificados com as iniciais de cada participante e com uma seqüência numérica crescente em ordem de comparecimento nas consultas.

Se durante os procedimentos fosse detectado qualquer critério de exclusão, a mulher era informada da impossibilidade de participar do estudo.

Para a realização dos exames pélvicos e citologia cervical as mulheres não podiam ter tido relação sexual nas 24 horas prévias ao exame e a citologia cervical tinha que ser realizada pelo menos um dia após o término do fluxo menstrual e três dias depois da utilização de qualquer medicação intravaginal ou duchas. Se estivessem no período menstrual ou usando medicamentos intravaginas durante as visitas planejadas, as pacientes eram convidadas a remarcar a data do exame pélvico e citologia cervical para um a três dias mais tarde.

### **3.5. Definição dos métodos e conceitos**

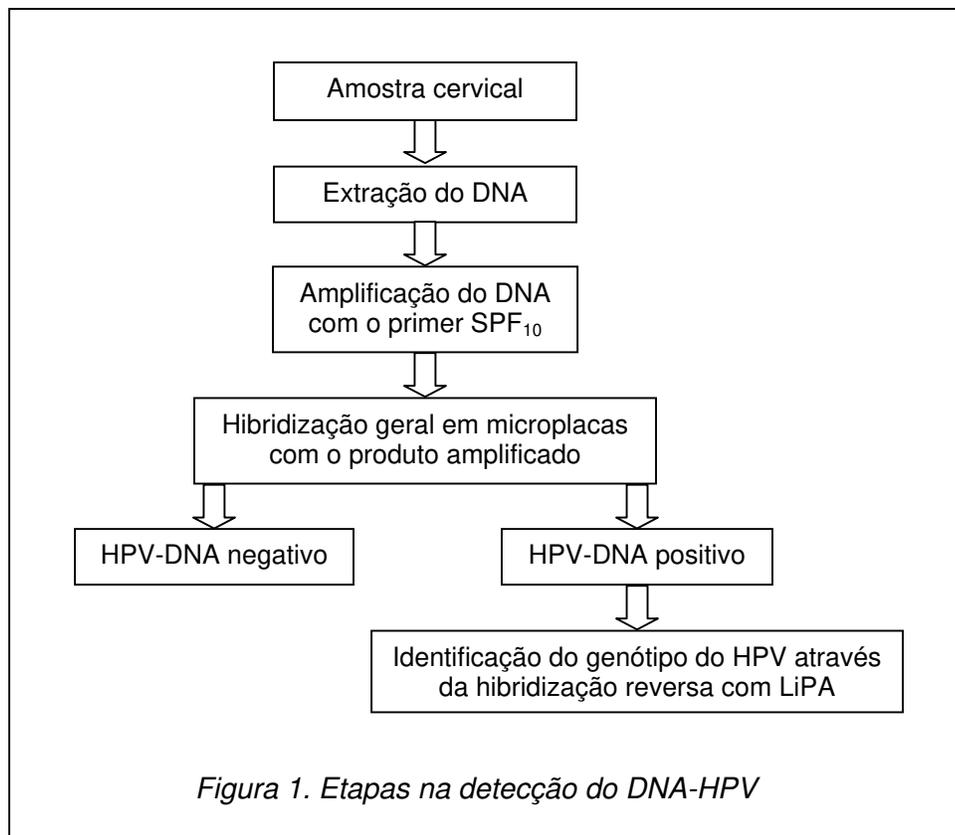
#### **3.5.1. Colpocitologia em meio líquido**

A amostra residual utilizada para o exame de citologia cervical foi processada pelo *ThinPrep 2000 Processor* para transferir células para lâminas de vidro e fixação. As lâminas foram coradas e analisadas pelo pessoal do laboratório usando-se o Sistema Bethesda (INTERNATIONAL ACADEMY OF CYTOLOGY, 1993) para relato de diagnósticos citológicos cervicais, da mesma forma como são feitos os exames de Papanicolaou preparados de maneira convencional. Os esfregaços foram classificados em: citologias normal e anormal. Dentre os diagnósticos de anormal as citologias foram classificadas como: atipia escamosa de significado indeterminado (ASCUS), atipia glandular de significado indeterminado (AGUS), lesão escamosa de baixo grau (LSIL) e lesão escamosa de alto grau (HSIL), adenocarcinoma *in situ*, câncer de células escamosas e adenocarcinoma. Algumas citologias classificadas como normais estavam limitadas

pela falta de células endocervicais. Outro aspecto analisado foi a presença ou não de corrimentos vaginais anormais na amostra analisada.

### 3.5.2. Reação em cadeia da Polimerase (PCR)

Uma porção da amostra cervical colhida foi usada para teste da PCR para detecção do DNA-HPV. Primeiramente foi realizada a extração do DNA desta amostra e a sua amplificação através do *primer* de largo espectro SPF<sub>10</sub>. A seguir, realizou-se hibridização geral em microplacas para a detecção do HPV-DNA através de um coquetel de sondas de HPV. Para os casos positivos realizou-se hibridização reversa com o mesmo produto da PCR para a identificação do genótipo do HPV com *Line probe assay* (LiPA) (Figura 1).



A técnica de hibridização geral em microplacas, com o produto amplificado e marcado com biotina, consiste em capturar os produtos da PCR com estreptavidina nas microplacas. A dupla fita de DNA é denaturada em condições alcalinas e as fitas não capturadas são removidas com enxágue. Uma sonda oligonucleotídica marcada é adicionada, a qual pode hibridizar as fitas capturadas. Depois de uma lavagem rigorosa, os híbridos podem ser detectados através de conjugados e substratos. Esse método reduz o tempo de mão de obra e permite distinguir entre HPV-DNA positivo e negativo, como um primeiro passo no diagnóstico molecular. De qualquer maneira, a identificação de cada genótipo do HPV tem que ser através de sondas específicas e hibridização separada.

Como a hibridização separada de cada tipo de HPV exige um grande volume de produtos da PCR, foi utilizada a hibridização reversa como método para diagnóstico do genótipo do HPV. Esse método permite a hibridização simultânea do produto da PCR com múltiplas sondas oligonucleotídicas. A hibridização é feita em um único passo e os híbridos são detectados através de diferentes métodos. A tecnologia de hibridização reversa consta de uma faixa de membrana contendo múltiplas sondas imobilizadas como linhas paralelas; (LiPA). O produto da PCR é gerado usando-se *primers* biotinilados, é denaturado em condições alcalinas e adicionado à faixa de membrana em um meio apropriado para hibridização. Depois da hibridização e da lavagem rigorosa, os híbridos podem ser detectados através da adição da estreptavidina conjugada e do substrato, gerando um precipitado púrpura na linha da sonda. A hibridização pode ser visualmente interpretada. Este método permite a realização do teste em

uma única etapa e requer apenas uma pequena quantia de produto da PCR. A LiPA tem sido usada no diagnóstico e no genótipo de vários microorganismos.

### **3.6. Variáveis em estudo**

#### **3.6.1. DNA-HPV através da PCR**

A presença ou não de DNA-HPV através da PCR foi classificada em DNA-HPV de baixo risco quando eram detectados os genótipos 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 70 e 74; e DNA-HPV de alto risco quando eram detectados os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68.

#### **3.6.2. Resultado da colpocitologia em meio líquido**

A colpocitologia primeiramente foi avaliada quanto à adequação da amostra como satisfatória ou insatisfatória para avaliação. Depois, considerando o diagnóstico citológico foram classificadas em categorias normal e anormal. Quando classificadas como anormal eram incluídos os seguintes diagnósticos: ASCUS, AGUS, lesões de baixo grau, lesões de alto grau, adenocarcinoma “*in situ*”, câncer de células escamosas e adenocarcinoma.

#### **3.6.3. Outras variáveis**

- Estado civil: sem companheiro e com companheiro.
- Escolaridade: 1º grau incompleto, 1º grau completo, 2º grau completo e nível universitário.

- Início da atividade sexual: menos de 14 anos, entre 14 a 17 anos completos e 18 anos ou mais.
- Tempo de atividade sexual: menor ou igual a dois anos ou mais do que dois anos.
- Número de parceiros sexuais referidos pela mulher, ou seja, com quantos homens teve relação sexual vaginal ou contato de genital com genital até o dia da consulta: um, dois e três ou mais.
- Número de parceiros sexuais referidos pela mulher, ou seja, com quantos homens teve relação sexual vaginal ou contato de genital com genital no último ano: nenhum, um ou dois ou mais.
- Uso de anticoncepcional combinado oral (ACO) referido pela mulher: sim ou não.
- Paridade, ou seja, número total de partos, normais ou operatórios, com feto pesando 500g ou mais: nenhum, um e dois ou mais.
- Tabagismo: as mulheres foram classificadas em não fumantes, fumantes de dez ou menos cigarros por dia e fumantes de mais de dez cigarros por dia.

### **3.7. Processamento de dados**

Todos os prontuários com os dados obtidos na consulta foram ordenados numericamente para arquivamento. Foram codificados as questões abertas e os resultados de exames para se criar um banco de dados. Todas as informações foram digitadas em um programa Excel<sup>®</sup> para microcomputador.

Após a digitação foram realizadas tabelas descritivas para verificação da consistência dos dados de cada variável do estudo. Posteriormente, este banco de dados foi exportado para o programa SAS para análise estatística (SAS, 1996).

### **3.8. Análise estatística**

A taxa de detecção e o tipo de DNA-HPV detectado pela PCR e as prevalências de alterações citológicas foram descritas conforme seus valores percentuais.

A associação do DNA-HPV com as variáveis sociodemográficas e reprodutivas foi mensurada por *odds ratios* (OR), com seus respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%) (FLEISS, 1981). Um modelo de regressão logística serviu para ajustar o OR relativo a cada variável pelo efeito das demais variáveis. Este modelo permitiu selecionar as variáveis com maior associação com o DNA-HPV (KLEINBAUM, 1994).

A associação da citologia com as variáveis sociodemográficas e reprodutivas também foi mensurada por OR com IC 95%.

### **3.9. Aspectos éticos**

O protocolo de pesquisa nº999910/106 (HPV-106) do estudo epidemiológico sobre o HPV foi aprovado em 11 de fevereiro de 2000 e patrocinado pelo laboratório *Smithkline Beecham Biologicals*. No Brasil, foi avaliado pelo Comitê

de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas/Unicamp e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). A aprovação final, com um parecer favorável à realização do estudo, foi dada em 14 de Julho de 2000, estando de acordo com as atribuições da Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) 196/96 (BRASIL,1996). Todo o estudo foi conduzido de acordo com a Boa Prática Clínica e a Declaração de Helsinque (1964) (WORLD MEDICAL ASSOCIATION, 2000).

A presença e o tipo de DNA-HPV detectados pela PCR, bem como as alterações citológicas pré-neoplásicas diagnosticadas através da citologia em meio líquido, são considerados atualmente bons métodos que se complementam na identificação de mulheres com lesões intra-epiteliais propriamente ditas e àquelas consideradas de alto risco para o desenvolvimento das mesmas. Neste estudo as mulheres foram submetidas a um exame ginecológico a título de colaboração com a pesquisa. Esta cooperação que possibilitou a coleta dos dados para a pesquisa não colocou a mulher sob risco e não lhe criou inconveniente, tendo a mulher recebido em espécie um reembolso no valor médio equivalente às suas despesas com alimentação e transporte para o comparecimento na consulta. A participação da mulher foi aceita exclusivamente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1).

## 4. Resultados

---

### 4.1. Prevalência e tipo de DNA-HPV

A infecção genital pelo *Papilomavírus humano* apresentou a prevalência de 29,3%. nas mulheres estudadas Do total das 600 mulheres jovens incluídas no estudo e submetidas ao teste da PCR para detecção da prevalência e do tipo de DNA-HPV, 148 (24,6%) apresentaram DNA-HPV positivos para os tipos de alto risco oncológico (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) e 56 (9,3%) apresentaram DNA-HPV positivos para os tipos de baixo risco oncológico (6,11,34,40,42,43,44,53,54,70,74). A prevalência de mulheres que apresentaram DNA-HPV tanto de alto como de baixo risco positivos foi de 4,6% (Tabela 1).

Dentre os tipos de DNA-HPV mais prevalentes foi encontrado em primeiro lugar o DNA-HPV tipo 16 com uma taxa de 17,4%; em segundo lugar encontrou-se o DNA-HPV tipo 68 com 9,6% e em terceiro lugar o DNA-HPV 51 com 7,7%. O DNA-HPV tipo 18 foi encontrado em 5,8% dos casos (ANEXO 3).

**TABELA 1**  
**Distribuição das mulheres segundo a detecção do DNA-HPV pela PCR**

DNA-HPV	Campinas		São Paulo		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
DNA-HPV tipo não definido	17	5,7	14	4,6	31	5,1
DNA-HPV de baixo risco	16	5,4	12	4,0	28	4,7
DNA-HPV de alto risco	57	19,0	63	21,0	120	20
Ambos os DNA-HPV	14	4,7	14	4,6	28	4,7
DNA-HPV negativos	195	65,2	198	65,8	393	65,5
<b>Total (n)</b>	<b>299</b>		<b>301</b>		<b>600</b>	

Analisando-se apenas as mulheres sexualmente ativas, ou seja, excluindo-se 27 mulheres em Campinas e 32 em São Paulo, foi observada praticamente a mesma percentagem de DNA-HPV negativo e positivo, tanto para alto como para baixo risco, quando comparada ao total de mulheres do estudo. Na primeira fase do teste de detecção do HPV pela PCR, a reação de largo espectro foi positiva para 30 casos. Esses casos foram submetidos ao teste tipo específico e não se identificou o tipo de HPV, permanecendo como DNA-HPV tipo não definido (Tabela 2).

**TABELA 2**  
**Distribuição da mulheres sexualmente ativas**  
**segundo a detecção do DNA-HPV pela PCR**

DNA-HPV	Campinas		São Paulo		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
DNA-HPV tipo não definido	17	6,2	13	4,8	30	5,5
DNA-HPV de baixo risco	16	5,9	12	4,5	28	5,2
DNA-HPV de alto risco	57	21,0	63	23,4	120	22,1
Ambos DNA-HPV	14	5,1	14	5,2	28	5,2
DNA-HPV negativos	168	61,8	167	62,1	335	62,0
<b>Total (n)</b>	<b>272*</b>		<b>269*</b>		<b>541*</b>	

\*Excluídas mulheres que nunca tiveram atividade sexual: Campinas (27) e São Paulo (32)

#### 4.2. Prevalência de alterações citológicas sugestivas de infecção por HPV

Entre as 600 mulheres avaliadas e com exame ginecológico aparentemente sem alterações, 81% apresentaram colpocitologia em meio líquido normal. Entre as que apresentaram alterações citológicas, a mais freqüente nos dois centros do estudo foi a citologia sugestiva de ASCUS com prevalência de 11,3%. A alteração citológica sugestiva de lesão de baixo grau foi detectada em 7% e a lesão de alto grau foi detectada em 0,5%. As citologias normais, porém limitadas pela ausência de células endocervicais, ocorreram em 5% das pacientes em Campinas e em 4,3% em São Paulo (Tabela 3).

**TABELA 3**  
**Distribuição das mulheres segundo o**  
**resultado da colpocitologia em meio líquido**

Citologia	Campinas		São Paulo		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Normal/Sem células endocervicais	15	5,0	13	4,3	28	4,6
Normal	223	74,6	236	78,4	459	76,5
ASCUS	37	12,4	31	10,3	68	11,3
Baixo grau	23	7,7	19	6,3	42	7
Alto grau	1	0,3	2	0,7	3	0,5
<b>Total (n)</b>	<b>299</b>		<b>301</b>		<b>600</b>	

Analisando-se apenas as mulheres sexualmente ativas, a amostra estudada continuou a apresentar como resultado mais comum da colpocitologia em meio líquido os classificados como normal (80%). A alteração citológica mais comum entre as mulheres sexualmente ativas foi também a classificada como ASCUS (11,8%) e todas com CO sugestiva de lesão de alto grau eram deste grupo de mulheres. Observou-se menor quantidade de citologias sem células endocervicais nas pacientes sexualmente ativas, sendo 4,4% em Campinas e 2,2% em São Paulo (Tabela 4).

Se forem analisadas em conjunto as Tabelas 3 e 4, pode-se observar que dentre o grupo das mulheres que nunca tiveram atividade sexual foram

encontradas quatro citologias com ASCUS e uma citologia sugestiva de lesão de baixo grau.

**TABELA 4**  
**Distribuição das mulheres sexualmente ativas segundo o resultado da colpocitologia em meio líquido**

Citologia	Campinas		São Paulo		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Normal/Sem células endocervicais	12	4,4	6	2,2	18	3,4
Normal	201	73,9	214	79,5	415	76,7
ASCUS	35	12,9	29	10,8	64	11,8
Baixo grau	23	8,5	18	6,7	41	7,6
Alto grau	1	0,3	2	0,8	3	0,5
<b>Total (n)</b>	<b>272*</b>		<b>269*</b>		<b>541*</b>	

\*Excluídas as mulheres que nunca tiveram atividade sexual: Campinas (27) e São Paulo (32)

#### 4.3. Alterações citológicas segundo a detecção e o tipo de DNA-HPV

Na avaliação da presença do DNA-HPV com o resultado da citologia, a maior parte das citologias normais apresentou DNA-HPV negativo, tanto para alto como para baixo risco oncológico (72,5%). Dentre as citologias normais e com DNA-HPV positivo, verificou-se um maior número de casos com DNA-HPV positivo para alto risco (14%) do que com DNA-HPV positivo para baixo risco (4%). É também importante observar que na metade dos casos de ASCUS não foi detectado nenhum tipo de DNA-HPV, ou seja, eram ambos negativos

(52,9%); porém quando presente, o tipo DNA-HPV de alto risco foi o mais freqüente (38,2%). Nas lesões citológicas de baixo grau e com DNA-HPV positivo confirmou-se a presença em 53,5% de DNA-HPV de alto risco e para as lesões citológicas de alto grau todos os casos apresentaram DNA-HPV positivos para alto risco (100%). Apenas quatro casos de citologia de baixo grau apresentaram HPV-DNA negativos (Tabela 5).

Dentre os três casos de lesões citológicas de alto grau foram identificados os seguintes tipos de DNA-HPV de alto risco: 16/31, 51 e 18/51/58/59 (Anexo 3).

**TABELA 5**  
**Distribuição da detecção do DNA-HPV e da citologia em meio líquido (n)**

Citologia	DNA-HPV				Negativos	Total
	Baixo risco	Alto risco	Ambos	Tipo não definido		
Sem células endocervicais	1	4	0	1	22	28
Normal	18	64	20	26	331	459
ASCUS	3	26	0	3	36	68
Baixo grau	5	23	9	1	4	42
Alto grau	0	3	0	0	0	3
<b>Total (n)</b>	<b>27</b>	<b>120</b>	<b>29</b>	<b>31</b>	<b>393</b>	<b>600</b>

Analisando-se em conjunto as Tabelas 5 e 6, pode-se observar que dentre o grupo das pacientes que nunca tiveram atividade sexual, foram encontrados uma citologia de baixo grau com DNA-HPV negativo, quatro

citologias com ASCUS e também DNA-HPV negativos e uma mulher que apresentou citologia normal com DNA-HPV positivo, porém com tipo não definido.

**TABELA 6**  
**Distribuição da detecção do DNA-HPV e da citologia em meio líquido em mulheres sexualmente ativas (n)**

Citologia	DNA-HPV					Total
	Baixo risco	Alto risco	Ambos	Tipo não definido	Negativos	
Sem células endocervicais	1	4	0	1	12	18
Normal	18	64	20	25	289	416
ASCUS	3	26	0	3	31	63
Baixo grau	5	23	9	1	3	41
Alto grau	0	3	0	0	0	3
<b>Total (n)</b>	<b>27</b>	<b>120</b>	<b>29</b>	<b>30</b>	<b>335</b>	<b>541*</b>

\*Excluídas as mulheres que nunca tiveram atividade sexual: Campinas (27) e São Paulo (32)

#### **4.4. Taxa de detecção do DNA-HPV e as alterações celulares segundo algumas variáveis sociodemográficas e reprodutivas**

Como observa-se na Tabela 7, avaliando-se as mulheres sexualmente ativas, o estado civil e o número de parceiros sexuais estiveram significativamente associados com a detecção do DNA-HPV (OR=2,12 e OR=2,19, respectivamente).

**TABELA 7**

**Distribuição dos fatores sociodemográficos associados com a positividade do DNA-HPV nas mulheres sexualmente ativas**

	DNA-HPV		OR bruto	OR ajustado	IC 95% (ajustado)
	Negativo	Positivo			
<b>Estado civil</b>					
<b>Sem companheiro</b>	<b>188</b>	<b>150</b>	<b>Ref</b>	<b>Ref</b>	
<b>Com companheiro</b>	<b>147</b>	<b>56</b>	<b>2,09</b>	<b>2,12</b>	<b>(1,28-3,49)</b>
<b>Escolaridade</b>					
< 1º grau	27	10	Ref	Ref	
1º grau	96	53	1,49	1,27	(0,54-2,96)
2º grau	187	125	1,80	1,56	(0,68-3,53)
Universitária	24	18	1,02	1,16	(0,41-3,28)
<b>IAS (anos)</b>					
< 14	19	10	Ref	Ref	
14 a 17	216	140	1,23	1,19	(0,51-2,80)
18 ou mais	95	53	1,06	1,17	(0,47-2,92)
<b>Tempo de atividade sexual (anos)</b>					
≤ 2	93	61	Ref	Ref	
> 2	237	142	0,91	1,05	(0,66-1,68)
<b>Nº de parceiros</b>					
<b>1</b>	<b>188</b>	<b>58</b>	<b>Ref</b>	<b>Ref</b>	
<b>2, 3 ou 4</b>	<b>147</b>	<b>148</b>	<b>2,21</b>	<b>2,19</b>	<b>(1,42-3,36)</b>
<b>Parceiros/ último ano</b>					
0	28	18	Ref	Ref	
1	293	168	0,89	1,29	(0,65-2,57)
2, 3 ou 4	14	20	2,22	1,93	(0,73-5,11)
<b>ACO</b>					
Não	137	98	Ref	Ref	
Sim	198	108	0,76	0,73	(0,49-1,09)
<b>Paridade</b>					
0	197	130	Ref	Ref	
1	103	60	0,88	1,14	(0,69-1,86)
2 ou mais	35	16	0,69	1,07	(0,51-2,27)
<b>Tabagismo</b>					
Não fuma	254	147	Ref	Ref	
Fuma ≤ 10 cigarros	65	42	1,12	0,98	(0,61-1,58)
Fuma > 10 cigarros	16	17	1,84	2,15	(0,99-4,68)

Quando se avaliou por regressão logística a associação entre o número de parceiros sexuais e a detecção de DNA-HPV, observou-se que mulheres com dois parceiros ou mais, nos dois primeiros anos de atividade sexual, têm cerca de 19 vezes mais risco de apresentar DNA-HPV do que aquelas sem parceiro, enquanto que para as mulheres com dois parceiros ou mais, porém com tempo de atividade sexual maior que dois anos, este OR é de apenas 3,00 (IC95%=1,8-5,1). O maior número de parceiros em relação ao menor tempo de atividade sexual ( $\leq 2$  anos) aumentou significativamente o OR para detecção do DNA-HPV, ou seja, se a mulher tiver mais parceiros sexuais nos dois primeiros anos de atividade sexual, aumenta muito a chance de infecção pelo HPV (OR=19,0, Tabela 8).

**TABELA 8**  
**Associação entre o tempo de atividade sexual e**  
**número de parceiros com a positividade do DNA-HPV**

Tempo atividade sexual	Número de parceiros	OR	IC 95%
$\leq 2$ anos	0	Ref	
	1	6,2	(1,6-23,6)
	2, 3 ou 4	19,0	(1,7-20,0)
2 anos ou mais	0	Ref	
	1	2,77	(1,6-4,7)
	2, 3 ou 4	3,00	(1,8-5,1)

Avaliando-se as mulheres sexualmente ativas, o número de parceiros sexuais no último ano esteve significativamente associado com o resultado alterado da citologia (OR=2,96, Tabela 9).

**TABELA 9**

**Avaliação dos fatores sociodemográficos associados com o resultado da citologia em mulheres sexualmente ativas**

	Citologia		OR bruto	OR ajustado	IC 95% (ajustado)
	Normal	ASCUS/NIC1, 2 ou 3			
Estado civil					
Com companheiro	169	34	Ref	Ref	
Sem companheiro	264	74	1,39	1,29	(0,71-2,33)
Escolaridade					
< 1º grau	29	8	Ref	Ref	
1º grau	122	27	0,80	0,84	(0,33-2,15)
2º grau	249	63	0,92	0,92	(0,37-2,28)
Universitária	32	10	1,13	0,96	(0,30-3,02)
IAS (anos)					
< 14	20	9	Ref	Ref	
14 a 17	287	69	0,53	0,49	(0,20-1,18)
18 ou mais	119	29	0,54	0,47	(0,18-1,24)
Tempo de atividade sexual (anos)					
≤ 2	119	35	Ref	Ref	
> 2	307	72	0,80	0,74	(0,42-1,28)
Nº de parceiros					
1	209	37	Ref	Ref	
2, 3 ou 4	224	71	1,79	1,26	(0,75-2,09)
<b>Parceiros/ último ano</b>					
<b>0</b>	<b>38</b>	<b>8</b>	<b>Ref</b>	<b>Ref</b>	
<b>1</b>	<b>376</b>	<b>85</b>	<b>1,07</b>	<b>1,01</b>	<b>(0,43-2,39)</b>
<b>2, 3 ou 4</b>	<b>19</b>	<b>15</b>	<b>3,75</b>	<b>2,96</b>	<b>(1,01-8,64)</b>
ACO					
Não	193	42	Ref	Ref	
Sim	240	66	0,26	1,34	(0,83-2,17)
Paridade					
0	260	67	Ref	Ref	
1	130	33	0,99	1,09	(0,61-1,93)
2 ou mais	43	8	0,72	0,96	(0,38-2,39)
Tabagismo					
Não fuma	324	77	Ref	Ref	
Fuma ≤ 10 cigarros	84	23	1,15	1,07	(0,61-1,87)
Fuma > 10 cigarros	25	8	1,35	1,30	(0,53-3,17)

## 5. Discussão

---

Este estudo mostra a importância do conhecimento da prevalência e dos tipos mais frequentes de DNA-HPV de baixo ou alto risco em adolescentes e mulheres jovens com baixo risco para DST, uma vez que quase 30% das mulheres deste estudo apresentaram infecção por HPV. Esta taxa é compatível com a literatura, onde a prevalência em mulheres jovens varia de 20% a 46% em vários países (BAUER et al.,1991; FAIRLEY et al.,1994; EVANDER et al.,1995; KARLSSON et al.,1995; BURK et al.,1996). Do total de mulheres com infecção por HPV, quase 25% apresentavam DNA-HPV positivo para alto risco oncológico. A detecção de HPV de alto risco oncológico foi maior do que de baixo risco (9,3%). Este achado comprova que os tipos de DNA-HPV de alto risco apresentam maior persistência no colo uterino do que os de baixo risco, sendo, portanto, mais frequentes.

Sabe-se que os tipos de baixo risco são mais facilmente eliminados e somente a infecção persistente por tipos de alto risco oncológico é que terá maior chance de evolução para lesões intra-epiteliais de alto grau. A persistência

de infecção por HPV pode ser definida quando se encontra o mesmo tipo viral em análises consecutivas, porém é importante para esta definição a detecção da carga viral no decorrer do tempo (HO et al.,1998).

A infecção cervical por HPV ocorre em muitas jovens precocemente ao início da sua atividade sexual, e os mais diversos tipos de DNA-HPV podem ser encontrados isoladamente ou em conjunto. Essa observação em detectar o tipo viral mais prevalente tem importante implicação para o desenvolvimento de projetos para o controle desta infecção.

Em estudo realizado por KOUTSKY et al. (1992) foi encontrada a incidência cumulativa de 28% de lesões de alto grau em universitárias com DNA-HPV positivos para alto risco depois de dois anos de seguimento. Baseado nesta análise, após detectar um tipo viral de alto risco, deve-se dar maior atenção clínica e fazer a reavaliação da freqüência da citologia cervical que, atualmente, tem a possibilidade de ser realizada a cada três anos (STENKVIST et al.,1984; FENDER, SCHAFFER, DELLENBACH,1998).

Por outro lado, sabe-se que embora a prevalência da infecção por HPV seja maior em mulheres jovens quando comparadas com mulheres com mais de 30 anos, a maioria destas infecções se resolverá espontaneamente dentro de um período de aproximadamente 24 meses, sendo consideradas infecções transitórias sem lesões intra-epiteliais, provavelmente devido ao desenvolvimento de anticorpos neutralizadores (MEIJER et al., 2000).

Como dito anteriormente, a taxa de detecção de HPV de alto risco foi maior do que as de baixo risco, sendo os três tipos mais prevalentes todos de alto risco oncológico. Em primeiro lugar o DNA-HPV tipo 16 apresentou uma taxa de 17,4% dos casos; em segundo lugar encontrou-se o DNA-HPV tipo 68 com 9,6% e em terceiro lugar o DNA-HPV 51 com 7,7%. O DNA-HPV tipo 18 foi encontrado em 5,8% dos casos (Anexo 3). Em vários estudos foram encontradas muitas combinações dos tipos virais mais comuns, e entre eles sempre está o DNA-HPV tipo 16, relacionado mais fortemente ao aparecimento de lesões cervicais intra-epiteliais de alto grau.

Apesar de neste estudo ter sido encontrado o HPV tipo 16 como o mais prevalente, os tipos 68 e 51 também apresentaram taxas relativamente altas. Essa variação do tipo viral entre as regiões mostra que a sua distribuição geográfica não é constante, ou seja, existe uma importante variação de acordo com a região (FRANCO et al., 1999; CHAN et al., 2001). Esse conhecimento é essencial para o desenvolvimento de imunização, conforme o DNA viral mais prevalente do local.

Houve alguns casos onde o DNA-HPV não foi tipado especificamente. Na primeira fase do teste de detecção do HPV pela PCR, a reação de largo espectro foi positiva e esses casos foram submetidos ao teste para tipo específico e não se identificou o tipo viral, permanecendo como HPV-DNA tipo não definido. Esses casos provavelmente tinham infecção por algum tipo de HPV testado e não foram identificados por conter baixos níveis de expressão viral, ou talvez pela presença de pequenas quantidades de contaminação pelo

HPV na amostra cervical colhida. Desta maneira, permaneceram como sendo DNA-HPV tipo não definido e provavelmente sem importância clínica.

Mesmo com esta alta taxa de infecção por HPV detectada, a maioria dos resultados das citologias foi negativa para lesões pré-neoplásicas de alto grau (99,5%). Isso se justifica pela amostra estudada ser uma população jovem, com poucos parceiros sexuais e considerada de baixo risco para DST ou por serem mulheres jovens com pouco tempo de infecção e baixa carga viral.

Além disso, outros fatores precisam ser levados em consideração quando se analisa risco de desenvolver lesões pré-neoplásicas. A detecção isolada do DNA-HPV é insuficiente e outros aspectos têm que ser analisados conjuntamente. Dentre esses fatores, a história natural da infecção por HPV, incluindo o desenvolvimento de infecção persistente, a eliminação espontânea do vírus e a interação com o sistema imunológico, devem ser avaliados simultaneamente a fim de poder-se avaliar o risco de lesões pré-neoplásicas. Sabendo que a prevalência e a persistência da infecção por HPV são muito maiores em mulheres imunocomprometidas como, por exemplo, nas pacientes HIV positivas, a integridade do sistema imunológico é crucial para o curso da infecção por HPV, onde se espera a eliminação espontânea do *papilomavírus humano* ou sua permanência em condição episódica, não se integrando ao genoma da célula das mulheres que apresentam uma boa resposta imunológica (VAN DOORN et al., 2001).

Neste trabalho foi usada a técnica de citologia em meio líquido (*Thin Prep*<sup>®</sup>) para o exame de Papanicolaou, o que contribuiu para a melhora na

adequação das amostras e na detecção mais precisa dos diagnósticos citológicos. Muitos estudos evidenciam as vantagens desta técnica nas citologias cervicais como método de rastreamento na prevenção do câncer de colo uterino e suas lesões pré-neoplásicas (WEINTRAUB & MORABIA, 2000).

Em relação à análise convencional, sabe-se que há aumento da sensibilidade e da especificidade da citologia em meio líquido, melhorando assim a correlação citologia/histologia e aumentando o quociente SIL:DNA-HPV. Isso pode ser explicado, sem dúvida, pela melhor preservação dos detalhes nucleares e pela melhor visualização das células anormais que não estão ocultas por células inflamatórias, hemácias ou outras células epiteliais. Além disso, as pequenas e finas camadas são sempre representativas da totalidade das células descamadas, facilitando o diagnóstico citológico e com um tempo rastreamento significativamente inferior ao de um esfregaço convencional. Na maioria dos trabalhos publicados verificou-se também a menor percentagem de ASCUS com o uso da citologia líquida, ou seja, a diminuição da proporção ASCUS:LSIL, uma vez que muitos ASCUS estão relacionados à deficiente preservação ou citopreparação (WEINTRAUB & MORABIA, 2000).

A relação ASCUS:LSIL tem sido proposta em muitos estudos como uma medida de controle de qualidade dos resultados do laboratório, e para um bom controle espera-se que a taxa de aproximadamente 3:1 (DAVEY et al.,1994). Em estudos com citologia líquida essa taxa diminui, como mostraram WEINTRAUB & MORABIA (2000) em seu trabalho; a diminuição da relação ASCUS:LSIL para

aproximadamente 1,3:1. Essa melhora talvez possa ser atribuída ao diagnóstico citológico mais preciso com o uso do meio líquido.

Apesar de a alteração ASCUS ter sido a mais prevalente neste estudo (11,3%), a análise da relação ASCUS:LSIL foi de 1,6:1, ou seja, encontrou-se também uma diminuição da proporção, o que é esperado para as citologias em meio líquido e que mostra um bom controle de qualidade do laboratório onde foram processadas e analisadas as amostras cervicais.

Neste estudo encontrou-se também pequena proporção de citologias, limitadas pela ausência de células endocervicais (4,6%). Este fato poderia ser atribuído pela maior dificuldade no exame ginecológico para obtenção das amostras endocervicais das pacientes que nunca tiveram atividade sexual. Porém, quando estas pacientes foram excluídas da análise, a taxa de citologias sem componente endocervical diminuiu para 3,3%, o que se pode considerar como taxa mínima se comparada com as citologias convencionais. Portanto, houve também uma menor proporção de citologias sem componente endocervical devido ao emprego da citologia em meio líquido e todas as suas vantagens já foram discutidas anteriormente.

Embora a amostra estudada tenha sido considerada como uma população de baixo risco para DST devido aos poucos parceiros sexuais, as alterações citológicas sugestivas de lesões de baixo grau estiveram presentes em 7% dos casos e as de alto grau em 0,5%. Isto pode ser justificado pelo método da

citologia líquida aumentar a sensibilidade diagnóstica das alterações pré-neoplásicas quando comparadas com as citologias convencionais.

Os resultados das citologias classificados como ASCUS tiveram em grande parte o DNA-HPV negativo, tanto para alto como para baixo risco (52,9%), e quando presente, o DNA-HPV de alto risco foi o mais prevalente (38,2%). O valor dos testes para HPV é muito questionado, porém nesta categoria de ASCUS pode-se observar a importante função da triagem entre a presença ou não de tipos de HPV oncológicos para a decisão do tratamento ou seguimento da paciente.

Como já discutido anteriormente, encontrou-se alta prevalência de infecção por HPV de alto risco oncológico nas adolescentes e mulheres jovens deste estudo (24,6%). Quando se analisou conjuntamente a alteração citológica sugestiva de lesão de baixo grau e a infecção por HPV, encontrou-se a presença de 53,5% de DNA-HPV de alto risco, o que sugere que estas mulheres, tendo infecção persistente pelo HPV, serão de alto risco para neoplasia intra-epitelial de alto grau. Deste modo, pode-se adotar uma conduta ativa para o rastreamento de lesões intra-epiteliais, com a coloscopia e biópsia destas mulheres. As alterações citológicas sugestivas de lesão de baixo grau, com DNA-HPV de baixo risco ou DNA-HPV negativos, podem ter uma conduta mais expectante, pois sabe-se que freqüentemente estas lesões apresentam regressão espontânea.

O fato de se obter alteração citológica sugestiva de lesão de baixo grau com DNA-HPV negativo, tanto para alto como para baixo risco, pode ser

justificado por erro diagnóstico da citologia líquida (*Thin Prep*<sup>®</sup>) ou pela não detecção do DNA-HPV pela PCR devido à baixa carga viral, embora atualmente ambos os métodos sejam considerados os melhores para o rastreamento de neoplasia cervical. Isso faz lembrar que somente a histologia é que pode ser considerada como padrão-ouro para o diagnóstico definitivo de uma lesão epitelial.

Os três casos com alteração citológica sugestiva de lesão de alto grau apresentaram em 100% a presença do DNA-HPV de alto risco oncológico. Vários estudos mostram que o DNA-HPV tipos 16 e 18, isoladamente ou associados com outros tipos virais, estão na maioria das vezes presentes nas lesões intra-epiteliais de alto grau (KOUTSKY et al., 1992). Neste estudo, além dos tipos 16 e 18 encontrou-se também a presença de outros tipos virais de alto risco oncológico associados, como os tipos 31, 51, 58 e 59.

Dentre as mulheres que nunca tiveram atividade sexual foram encontradas quatro citologias com ASCUS e uma lesão de baixo grau, todas com DNA-HPV negativo, provavelmente devido a resultados supervalorizados pela técnica de citologia realizada em meio líquido. O único caso que nunca teve atividade sexual com DNA-HPV detectado sem tipo definido, apresentou citologia normal, provavelmente pela alta sensibilidade do método utilizado.

O risco de uma mulher ter infecção por HPV pode ser avaliado através da idade, comportamento sexual e pelo parceiro com quem esta mulher se relaciona sexualmente. Embora nesta amostra sejam encontradas mulheres entre 15 e 25 anos, sabe-se que mulheres mais velhas têm um risco menor em

adquirir infecção por HPV, talvez porque já tenham adquirido imunidade contra o HPV por exposições passadas ao vírus (KOUTSKY et al., 1992).

Com relação aos fatores sociodemográficos avaliados neste estudo houve uma associação do estado civil e do número de parceiros sexuais com a presença do DNA-HPV, como já foi mostrado em vários trabalhos de diversos lugares do mundo. O fato de a mulher estar sem companheiro mostrou-se fator de risco para a infecção por HPV e aquela que teve dois, três ou quatro parceiros mostrou ter uma chance 2,19 vezes maior de apresentar o DNA-HPV positivo do que aquelas que tiveram apenas um parceiro sexual.

Este estudo mostrou também que a associação do maior número de parceiros em relação ao menor tempo de atividade sexual ( $\leq 2$  anos) aumentou em 19 vezes a chance de infecção pelo HPV, ou seja, se a mulher tiver mais parceiros sexuais nos dois primeiros anos de atividade sexual, aumenta sua chance de infecção por HPV. Isso pode ser explicado pelo fato de serem mulheres jovens, que estão tendo o contato inicial com o vírus e que ainda não desenvolveram uma resposta imunológica adequada para a conseqüente eliminação viral.

Embora a avaliação de fatores de risco como idade, início da atividade sexual, número de parceiros, tabagismo, infecções anteriores por HPV e desenvolvimento de lesões intra-epiteliais com infecção corrente por HPV seja muito complexa, encontrou-se neste estudo a associação do número de parceiros sexuais no último ano com o resultado alterado da citologia nas mulheres

sexualmente ativas. Ou seja, as mulheres que tiveram mais parceiros no último ano têm mais chance de apresentar alteração na citologia cervical por estarem em contato com novos tipos de HPV e ainda não terem adquirido uma resposta imunológica adequada para a eliminação viral.

Os programas organizados de rastreamento que existem para reduzir a incidência, morbidade e mortalidade do câncer cervical têm produzido grandes efeitos nos países desenvolvidos e naqueles em desenvolvimento.

Entretanto, tais programas não conseguem rastrear os casos com infecção por HPV e que teriam potencialidade para o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas e, dentre estas, as lesões que poderiam progredir. Devido a esta dificuldade e à alta prevalência de infecção por HPV mesmo em mulheres de baixo risco para DST, como foi observado neste estudo, a melhor estratégia para o controle do câncer cervical em todo o mundo poderia ser o desenvolvimento de vacinas profiláticas ou terapêuticas contra a infecção por HPV.

## 6. Conclusões

---

- Nas 600 mulheres jovens de baixo risco para DST e com exame ginecológico aparentemente normal., da região de Campinas e zona leste de São Paulo, a prevalência da infecção por HPV detectado através da técnica da PCR foi de 29,3%. Os tipos de DNA-HPV mais prevalentes encontrados foram os de alto risco oncológico com taxa de 24,6%.
- A alteração citológica mais freqüente nos dois centros do estudo foi a citologia sugestiva de ASCUS, com prevalência de 11,3%. As alterações citológicas sugestivas de lesão de baixo grau foram detectadas em 7% dos casos e já a lesão de alto grau em apenas 0,5%.
- As lesões citológicas de baixo grau apresentaram 53,5% de DNA-HPV positivos para alto risco e as lesões citológicas de alto grau apresentaram em todos os casos DNA-HPV positivos para alto risco (100%). Em 53% dos casos de ASCUS não foi detectado nenhum tipo de HPV por essa técnica, porém, quando presente, o tipo DNA-HPV de alto risco foi o mais freqüente (38,2%).

- O estado civil e o número de parceiros apresentaram associação significativa com a positividade do DNA-HPV. O maior número de parceiros em relação ao menor tempo de atividade sexual ( $\leq 2$  anos) aumentou significativamente o risco da presença do DNA-HPV (OR=19).
- Nesta amostra de mulheres jovens e de baixo risco para DST houve associação significativa do número de parceiros sexuais no último ano com o resultado anormal da citologia.
- Os resultados deste estudo evidenciaram a alta prevalência da infecção por HPV de alto risco com suas alterações citológicas entre adolescentes e adultas jovens, como também o conhecimento do perfil da jovem que inicia sua atividade sexual. Assim, contribuem para o desenvolvimento e uso efetivo das vacinas para a proteção ou terapia desta infecção e de suas possíveis lesões.

## 7. Referências Bibliográficas

---

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**, 2:63-70, 1996.

APGAR, B.S. & BROTZMAN, G. – HPV testing in the evaluation of the minimally abnormal Papanicolaou smear. *Am. Fam. Physician*, **59**:2794-801, 1999.

BAUER, H.M.; TING, Y.; GREER, C.E.; CHAMBERS, J.C.; TASHIRO, C.J.; CHIMERA, J.; REINGOLD, A.; MANOS, M.M. - Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. *JAMA*, **265**:472-7, 1991.

BETHESDA – Proposed Bethesda 2001 – Terminology – reflects these recommendations. [24/08/2001]. <<http://www.bethesda21.cancer.gov>>

BRASIL. Ministério da Saúde/Conselho Nacional de Saúde – Resolução 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. *Bioética*, **4**(supl. 2):15-25, 1996.

- BURK, R.D.; HO, G.Y.F.; BEARDSLEY, L.; LEMPA, M.; PETERS, M.;  
BIERMAN, R. – Sexual behavior and partner characteristics are the  
predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in  
young women. *J. Infect. Dis.*, **174**:679-89, 1996.
- CHAN, R.; KHOO, L.; HO, T.H.; KOH, C.F.; LEE, I.W.; YAM, K.L.; CHANDRA,  
D.; PANG, M.; CHOW, V. – A comparative study of cervical cytology,  
colposcopy and PCR for HPV in female sex workers in Singapore. *Int. J.  
STD & AIDS*, **12**:159-63, 2001.
- CLAVEL, C.; MASURE, M.; BORY, J.P.; PUTAUD, I.; MANGEONJEAN, C.;  
LORENZATO, M.; GABRIEL, R.; QUEREUX, C.; BIREMBAUT, P. – Hybrid  
capture II – based human papillomavirus detection, a sensitive test to  
detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518  
women. *Br. J. Cancer*, **80**:1306-11, 1999.
- CLAVEL, C.; MASURE, M.; BORY, J.P.; PUTAUD, I.; MANGEONJEAN, C.;  
LORENZATO, M.; NAZEYROLLAS, P.; GABRIEL, R.; QUEREUX, C.;  
BIREMBAUT, P. – Human papillomavirus testing in primary screening for  
the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br. J.  
Cancer*, **89**:1616-23, 2001.
- 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.
- CUZICK, J.; SASIENI, P.; DAVIES, P.; ADAMS, J.; NORMAND, C.; FRATER,  
A.; Van BALLEGOIJEN, M.; Van den AKKER, E. – A systematic review  
of the role of human papillomavirus testing within a cervical screening  
programme. *Health. Technol. Asses.*, **3**:1-196, 1999.

- DAVEY, D.D.; NARYSHKIN, S.; NIELSEN, M.L.; KLINE, T.S. – Atypical squamous cells of undetermined significance: interlaboratory comparison and quality assurance monitors. *Diagn. Cytopathol.*, **11**:390-6, 1994.
- EVANDER, M.; EDLUND, K.; GUSTAFSSON, A.; JONSSON, M.; KARLSSON, R.; RYLANDER, E.; WADELL, G. – Human papillomavirus infection is transient in young women: a population-based cohort study. *J. Infect. Dis.*, **171**:1026-30, 1995.
- FAIRLEY, C.K.; CHEN, S.; UGONI, A.; TABRIZI, S.N.; FORBES, A.; GARLAND, S.M. – Human papillomavirus infection and its relationship to recent and distant sexual partners. *Obstet. Gynecol.*, **84**:755-9, 1994.
- FARTHING, A.; MASTERSON, P.; MASON, W.P.; VOUSDEN, K.H. - Human papillomavirus detection by hybrid capture and its possible clinical use. *J. Clin. Pathol.*, **47**:649-52, 1994.
- FENDER, M.; SCHAFFER, P.; DELLENBACH, P. – Can we and must we organize cervical cancer screening in France? Results of the project EVE in department of Bas-Rhin. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, **27**:683-91, 1998.
- FLEISS, J.L. – **Statistical methods for rates and proportions**. 2.ed. New York: John Wiley, 1981.
- FRANCO, E.L.; VILLA, L.L.; RUIZ, A. COSTA, M.C. - Transmission of cervical human papillomavirus infection by sexual activity. Differences between low and high oncogenic risk types. *J. Infect. Dis.*, **172**:756-63, 1995.
- FRANCO, E.L.; VILLA, L.L.; SOBRINHO, J.P.; PRADO, J.M.; ROUSSEAU, M.C.; DÉSY, M.; ROHAN, T.E. – Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J. Infect. Dis.*, **180**:1415-23, 1999.

- GAY, J.; DONALDSON, L.; GOELLNER, J. – False negative results in cervical cytologic studies. **Acta Cytol.**, **29**:1043-6, 1985.
- GUPTA, P.K.; BALOCH, Z.W.; COBBS, C.; BIBBO, M. – Processing Liquid-Based Gynecologic Specimens – Comparison of the Available Techniques. **Acta Cytol.**, **45**:995-8, 2001.
- HERRERO, R.; BRINTON, L.A.; REEVES, W.C. BRENES, M.M.; TENORIO, F.; de BRITTON, R.C.; GAITAN, E.; MONTALVAN, P.; GARCIA, M.; RAWLS, W.E. – The risk factors of invasive carcinoma of cervix uteri in Latin America. **Bol. Oficina Sanit. Panam.**, **109**:6-26, 1990.
- HO, G.Y.; BIERMAN, R.; BEARDSLEY, L.; CHANG, C.J.; BURK, R.D. – Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **N.Engl. J. Med.**, **338**:423-8, 1998.
- HUTCHINSON, M.L. – Liquid based ThinPrep 2000 cytology improves screening accuracy and specimen adequacy. **CME J. Gynecol.Oncol.**, **5 (suppl.1)**:21-5, 2000.
- IARC Working Group. Human papillomaviruses. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**, **64**:279-82, 1995.
- INTERNATIONAL ACADEMY OF CYTOLOGY. The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. **Acta Cytol.**, **37**:115-24, 1993.
- KARLSSON, R.; JONSSON, M.; EDLUND, K.; EVANDER, M.; GUSTAVSSON, A.; BODEN, E.; RYLANDER, E.; WADELL, G. – Lifetime number of partners as the only independent risk factor for human papillomavirus infection: a population-based study. **Sex. Transm. Dis.**, **22**:119-27, 1995.

KJAER, S.K.; VAN DER BRULE, A.; BOCK, J.E.; POLL, P.A.; ENGHOLM, G.; SHERMAN, M.E.; WALBOOMERS, J.M.M.; MEIJER, C.J.L.M. - Determinants for genital human papillomaviruses (HPV) infection in 1000 randomly chosen young Danish women with normal Pap smear. Are there different risk profiles for oncogenic and nononcogenic HPV types? **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, **6**:799-805, 1997.

KLEINBAUM, D.G. – **Logistic regression: a self-learning text**. New York, Springer-Verlag, 1994. 282p.

KOLTLOFF, K.; WASSERMAN, S.S.; RUSS, K.; SHAPIRO, S.; DANIEL, R.; BROWN, W.; FROST, A.; TABARA, S.O.; SHAH, K. - Detection of genital human papillomavirus and associated cytological abnormalities among college women. **Sex. Trans. Dis.**, **5**:243-50, 1998.

KOSS, L.G. - The Papanicolaou test for cervical cancer detection: a triumph and a tragedy. **JAMA**, **261**: 737-43, 1989.

KOUTSKY, L.A.; HOLMES, K.K.; CRITCHLOW, C.W.; STEVENS, C.E.; PAAVONEN, J.; BECKMANN, A.M.; DeROUEN, T.A.; GALLOWAY, D.A.; VERNON, D.; KIVIAT, N.B. - A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. **N. Engl. J. Med.**, **327**:1272-8, 1992.

KOUTSKY, L.A. - Epidemiology of genital human papillomavirus infection. **Am. J. Med.**, **102**:3-8, 1997.

LANCELLOTTI, C.L.P.; LEVI, J.E.; SILVA, M.A.L.G.; SCHWARZSCHILD, M.; NICOLAU, S.M. Diagnóstico laboratorial – Citologia, histologia, imunohistoquímica, microscopia eletrônica, biologia molecular. In: CARVALHO, J.J.M. & OYAKAWA, N. - **I Consenso Brasileiro de HPV**. São Paulo, B. G. Cultural, 2000. p.45-60.

- LEY, C.; BAUER, H.M.; REINGOLD, A.; SCHIFFMAN, M.H.; CHAMBERS, J.C.; TASHIRO, C.J.; MANOS, M. - Determinates of genital human papillomavirus infection in young woman. **J. Nat. Cancer Inst.**, **83**:997-1103, 1991.
- LIAW, K.I.; SCHIFFMAN, M.H.; COPE, J.U.; GLASS, A.G.; MANOS, M.M.; SHERMAN, M.E.; BURK, R.D.; HILDESHEIM, A.; LÖRINCZ, A.T. – Update on recent clinical studies using HPV testing for screening and diagnosis of cervical neoplasia. **CME J. Gynecol.oncol.**, **5(suppl.1)**:41-4, 2000.
- LINDER, J. & ZAHNISER, D. ThinPrep Papanicolaou testing to reduce false-negative cervical cytology. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, **122**:139-44, 1998.
- LÖRINCZ, A.T. - Hybrid capture method for detection of human papillomavirus DNA in clinical specimens: A tool for clinical management of equivocal Pap smears and for population screening. **J. Obstet. Gynaecol. Res.**, **22**:629-36, 1996.
- MANOS, M.M.; KINNEY, W.K.; HURLEY, L.B.; SHERMAN, M.E.; SHIEH-NGAI, J.; KURMAN, R.J.; RANSLEY, J.E.; FETTERMAN, B.J.; HARTINGER, J.S.; McINTOSH, K.M.; PAWLICK, G.F.; HIATT, R.A. – Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. **JAMA**, **281**:1605-10, 1999.
- MEIJER, C.J.L.M.; ROZENDAAL, R.; VERHEIJEN, R.M.; WALBOOMERS, J.M.M. – Clinical role of HPV testing. **CME J. Gynecol. Oncol.**, **5(suppl. 1)**:26-9, 2000.
- MELKERT, P.W.J.; HOPMAN, E.; van den BRULE, A.J.C.; RISSE, E.K.J.; van DIEST, P.J.; BLEKER, O.P.; HELMERHORST, T.; SCHIPPER, M.E.; MEIJER, C.J.; WALBOOMERS, J.M. – Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent. **Int. J. Cancer**, **53**:919-23, 1993.

- MONSONEGO, J. – Role of HPV testing in secondary and primary screening of cervical neoplasia. *CME J. Gynecol. Oncol.*, **5(suppl.1)**:64-8, 2000.
- MONSONEGO, J.; AUTILLO-TOUATI, A.; BERGERON, C.; DACHEZ, R.; LIARAS, J.; SAUREL, J.; ZERAT, L.; CHATELAIN, P.; MOTTOT, C. - Liquid-based cytology for primary cervical cancer screening: a multi-centre study. *Br. J. Cancer*, **84**:360-6, 2001.
- MOUGIN, C.; BERNARD, B.; LAB, M. – Biology of papillomavirus II infections. Their role in the carcinogenesis of the cervix. *Ann. Biol. Clin.*, **56**:21-8, 1998.
- NINDL, I.; ZAHM, D.M.; MEIJER, C.J.; WALBOOMERS, J.M.; SCHNEIDER, A. - Human papillomavirus detection in high-grade squamous intraepithelial lesions. Comparison of hybrid capture assay with a polymerase chain reaction system. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **23**:161-4, 1995.
- PAPANICOLAOU, G.N. & TRAUT, H.F. – The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **42**:193-206, 1941.
- PAPILLO, J.L.; ZARKA, M.A.; ST-JOHN, T.L. - Evaluation of the ThinPrep Pap test in clinical practice. A seven-month 16314 case experience in Northern Vermont. *Acta Cytol.*, **42**:203-8, 1998.
- SAS – **Statistical analysis system**, release 8.0. Cary, SAS Institute Inc., 1996.
- SCHIFFMAN, M.H. & BRINTON, L.A. – The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Cancer*, **76**:1888-901, 1995.

- SCHIFFMAN, M.H. & BURK, R.D. – Human papillomaviruses. In: EVANS, A. & KASLOW, R. (eds.) - **Viral infection of humans, epidemiology and control. Part III. Viral infections and malignant diseases**. New York: Plenum 1997. p.983-1023.
- SCHNEIDER, A.; ZAHM, D.M.; KIRCHMAYR, R.; SCHNEIDER, V. – Screening for cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: validity of cytology study, cervicography and human papillomavirus detection. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **174**:1534-41, 1996.
- SHERMAN, M.E.; MENDONZA, M.; LEE, K.R.; ASHFAQ, R.; BIRDSONG, G.G.; CORKILL, M.E.; McINTOSH, K.M.; INHORN, S.L.; ZAHNISER, D.J.; BABER, C.; STOLER, M.H.. - Performance of liquid-based, thin layer cervical cytology: correlation with reference diagnoses and human papillomavirus testing. **Mod. Pathol.**, **11**:837-43, 1998.
- SOUTHERN, S.A. & HERRINGTON, C.S. – Molecular events in uterine cervical cancer. **Sex. Transm. Infect.**, **74**:101-19, 1998.
- STENKVIST, B.; BERGSTROM R.; EKLUNK, G.; FOX, C.H. – Papanicolaou smear screening and cervical cancer. What can you expect? **JAMA**, **252**:1423-6, 1984.
- SYRJÄNEN, K.J. & SYRJÄNEN, S.M. - **Papillomavirus infections in human pathology**. Chichester, John Wiley & Sons LTD, 2000. 615p
- VACHER-LAVENU, M.C. – Quality criteria of the Pap smear. **CME J. Gynecol. Oncol.**, **5(suppl.1)**:18-20, 2000.

VAN DOORN, L.J.; KLETER, B.; QUINT, W.G.V. – Molecular detection and genotyping of human papillomavirus. – *Expert. Rev. Mol. Diagn.*, 4:394-402, 2001.

WEINTRAUB, J. & MORABIA, A. – Efficacy of a liquid-based thin layer method for cervical cancer screening in a population with a low incidence of cervical cancer. *Diag. Cytopathol.*, 22:52-9, 2000.

WORLD MEDICAL ASSOCIATION – **Declaration of Helsinki – 2000** [on line]. Citado em 21 de março de 2002. Disponível n internet via: <[http://www.wma.net/e/policy/17-c\\_e.html](http://www.wma.net/e/policy/17-c_e.html)>.

## **8. Bibliografia de Normatizações**

---

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

HERANI, M.L.G. - Normas para apresentação de dissertações e teses.  
BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

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 - Consentimento livre e esclarecido

**Título do Estudo:** Estudo epidemiológico prospectivo, multicêntrico para avaliar a prevalência das infecções por *papilomavírus humano* (HPV) em mulheres adolescentes e adultas na América do Norte e Brasil.

### **Introdução:**

Este documento lhe dará as informações necessárias para ajudá-la a decidir se você deseja participar ou não deste estudo. Ele permitirá uma compreensão completa, mas simples, acerca das razões científicas deste estudo, bem como sobre seus direitos e responsabilidades no caso de decidir participar do mesmo.

### **Objetivo do Estudo:**

O câncer do colo do útero (a parte do útero que avança sobre o espaço da vagina) é a terceira doença maligna mais freqüente entre as mulheres do mundo inteiro. São comunicados cerca de 21.000 novos casos deste tipo de câncer a cada ano no Brasil e cerca de 15.000 na América do Norte. Não existem vacinas disponíveis para a prevenção ou tratamento do câncer do colo do útero. Muitos estudos científicos demonstram uma forte correlação entre as

infecções genitais causadas por determinados tipos de vírus e o desenvolvimento de câncer de colo do útero anos mais tarde. Esses vírus, do grupo do *papilomavírus humano* (HPV), são adquiridos geralmente durante as relações sexuais. Alguns desses vírus podem causar câncer do colo do útero. Na realidade, o HPV é detectado em praticamente todos os casos de câncer de colo do útero. Uma vacina que possa prevenir as infecções com os HPVs de alto risco também poderia proteger contra o aparecimento posterior do câncer do colo do útero, embora ainda não esteja certo.

Os tipos mais comuns de HPV encontrados nos cânceres do colo do útero são conhecidos como HPV-16 e HPV-18. A SmithKline Beecham Biologicals, Rixensart, Bélgica e a MedImmune Inc, Gaithersburg, Maryland, EUA, estão trabalhando juntas para desenvolver vacinas que protejam contra a infecção com estes tipos de HPV (HPV-16 e HPV-18) ou que impeçam que esses vírus contribuam para o desenvolvimento de câncer do colo do útero numa etapa posterior da vida. A vacina experimental será testada na América do Norte e no Brasil.

Para poder planejar um estudo sobre quão bem funciona a vacina, primeiro necessitamos obter informação precisa sobre a frequência com que ocorre infecção com HPV-16 e HPV-18 e outros tipos similares de HPV em mulheres. Este estudo reunirá este tipo de informação através do preenchimento de um questionário sobre a saúde das participantes, coleta de amostras de sangue e exame do colo do útero à procura de uma eventual infecção com HPV ou alteração de suas células.

### **Projeto do Estudo:**

Este estudo será realizado na América do Norte e no Brasil, com 1.500 participantes em cada região. Você fará uma visita ao local de estudo. Durante a visita você responderá um questionário, será submetida a um exame médico geral e a um exame pélvico com coleta de material para o Papanicolaou e pesquisa do HPV, realizado pelo médico responsável pelo estudo e será colhida uma amostra do seu sangue.

### **Aprovação:**

O protocolo deste estudo foi revisto e aprovado por um comitê de ética independente/conselho de revisão institucional (**Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP**).

### **Participação no Estudo:**

Se você decidir participar neste estudo, o primeiro passo será uma entrevista privada com um profissional da saúde que lhe explicará o estudo detalhadamente. Você deverá antes consentir com a sua participação neste estudo.

Pediremos que você responda um questionário contendo perguntas sobre dados pessoais tais como: escolaridade, saúde reprodutiva, história sexual e práticas sexuais.

Pediremos que você preencha o questionário sozinha. No entanto, se você necessitar orientação de um profissional da saúde, ela lhe será dada. Uma cópia deste questionário está anexada a esta folha de informação. **Suas respostas não serão reveladas a ninguém.**

Também durante a visita ao local do estudo serão realizados os seguintes procedimentos: uma entrevista médica e um exame físico limitado que o médico realizará para verificar se você se encontra saudável, um exame pélvico interno no qual o médico verificará se seu colo de útero apresenta alguma anormalidade, uma escovinha plástica será utilizada para retirar algumas células do seu colo de útero para um exame de citologia cervical (Papanicolau) e um exame de DNA de HPV (se você não tiver nenhuma experiência neste exame informe o médico para que ele explique). Será colhida uma amostra de sangue equivalente a duas colheres de chá (10 mililitros) de uma veia do seu braço, para verificar se você alguma vez já teve contato com alguns tipos de *papilomavírus humano* e será realizado um exame de urina para verificar se você está grávida. Se você já começou a ter relações sexuais ou tem intenção de começar, pediremos que use um

método de contracepção aceitável. Se você teve relações sexuais com mais de 4 parceiros durante sua vida sexual, você não poderá participar deste estudo.

### **Crítérios de Exclusão**

Os seguintes critérios serão verificados por ocasião da inclusão no estudo. Se algum deles estiver presente você não será incluída no estudo:

- Se você estiver tomando algum remédio que o médico determina estar afetando seu sistema urinário.
- Se você estiver usando ou for usar durante o período do estudo algum remédio experimental que ainda não está autorizado para o uso público.
- Se você tiver algum corrimento vaginal anormal (depois de haver recebido tratamento para eliminar o corrimento você poderá participar do estudo).
- Se você estiver fazendo ou for fazer tratamento contra verrugas genitais.
- Se você tiver uma história de exame Papanicolaou anormal de um determinado tipo.
- Se você tiver sido tratada de uma doença do colo do útero.
- Se você tiver uma suspeita ou confirmação de uma doença que possa afetar o seu sistema imunológico, inclusive infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV/AIDS).
- Se você tiver uma história familiar de doença imunológica ou hereditária.
- Se você apresentar algum defeito congênito importante ou uma doença crônica grave.
- Se você tiver uma história de qualquer doença que afeta o seu sistema neurológico.

- Se você tiver qualquer doença do coração, pulmão, fígado, ou rim determinada pelo médico.
- Se você estiver com febre.
- Se você tiver uma história de consumo crônico de álcool e/ou abuso de outras drogas.
- Se você estiver grávida ou amamentando.

Baseado no julgamento do médico você saberá se pode fazer parte do estudo.

A amostra colhida durante o exame pélvico, será testada e analisada por técnicos em um laboratório autorizado. O médico lhe informará o resultado da citologia dentro das duas semanas após ter recebido o resultado. Parte desta amostra para a patologia cervical será arquivada e poderá ser utilizada para avaliar ou validar uma metodologia alternativa de PCR para o HPV.

Se o resultado do exame citológico indicar alguma anormalidade, o médico lhe explicará a importância de tal resultado e você será encaminhada para um ginecologista para acompanhamento.

É importante notar que você não deverá ter relações sexuais nas 24 horas prévias ao exame pélvico e ao exame de citologia cervical (Papanicolau). Se você estiver menstruada ou usando algum tipo de medicamento intravaginal no período planejado para a visita, solicitaremos que remarque o exame pélvico e o teste de Papanicolau para 1 a 3 dias depois.

Depois que este estudo houver terminado, planejamos iniciar um estudo para testar a vacina experimental contra infecções pelo HPV. Planejamos usar o local onde você se inscreveu como um dos centros de estudo. Se você se inscreveu neste estudo, você será convidada a saber sobre suas possibilidades de participar do estudo da vacina experimental.

## **Riscos associados ao estudo**

Este estudo não implica na aplicação de nenhuma vacina ou remédio. A colheita de sangue pode produzir um desconforto passageiro e um pequeno hematoma. A amostra de sangue será colhida por uma enfermeira com prática. A quantidade de sangue a ser retirada não deverá produzir sintomas ou anemia.

Os procedimentos usados para a colheita de amostras durante o exame pélvico são os procedimentos normalmente realizados em mulheres.

Você será informada de qualquer nova descoberta que houver durante o período desta pesquisa.

A sua participação é voluntária. Negar-se a tomar parte ou continuar o estudo não implica nenhuma penalidade ou perda de benefícios ou de atenção que lhe sejam devidos por seu prestador de saúde. Você tem o direito de receber uma cópia assinada deste formulário.

## **Medidas alternativas de prevenção**

Atualmente não existem vacinas licenciadas para a prevenção de infecção e doença causada pelo HPV. A abstinência sexual e o uso de métodos anticoncepcionais por barreira, como é o caso dos preservativos, são, por enquanto, os únicos meios que podem reduzir o risco de transmissão do HPV.

## **Confidencialidade e acesso aos dados**

Esta sessão garante que você tem os benefícios de proteção e os direitos afiançados pela Diretiva de Proteção de Dados da União Européia e outras leis nacionais de proteção dos dados pessoais.

Você compreende e está de acordo com o seguinte:

Seus dados pessoais, inclusive os dados relacionados com sua saúde, serão registrados e processados com o propósito de avaliar o resultado do estudo. O

processamento dos dados será realizado pela SmithKline Beecham Biologicals (“SB Bio”) ou uma terceira parte poderá ser contratada sob regras de absoluta confidencialidade. Os seus dados também poderão ser processados para o registro do produto e para a notificação de organizações que controlam a segurança e a efetividade dos remédios. Os seus dados também poderão ser processados com o propósito de aumentar o conhecimento científico.

Sua participação no estudo será tratada com absoluto sigilo. Seu nome não será mencionado nos informes do estudo e sua identidade não será revelada a nenhuma pessoa, exceto no caso em que isto for necessário para confirmar que os dados estão corretos ou completos, ou para fornecer tal informação a agências de controle responsáveis pelo registro e segurança dos remédios;

Seus dados médicos ou amostras de estudo (ex. Sangue) poderão ser enviados e processados por qualquer filial da SB Bio em qualquer país dentro ou fora da Comunidade Européia, sempre respeitando as exigências da Diretiva de Proteção de Dados da União Européia (95/46/EC) e/ou lei equivalente aplicável;

Você pode ter acesso aos seus dados pessoais e exigir que sejam feitas as correções necessárias. Se você desejar fazê-lo, deverá solicitá-lo ao médico responsável pela condução do estudo. Você concorda em adiar o acesso a seus dados médicos até o estudo estar terminado, inclusive a análise e o relato dos dados, caso seja considerado adequado pelo médico responsável pela condução do estudo para salvaguardar o objetivo do estudo;

Seus registros médicos podem ser acessados por representantes da SB Bio ou pelos órgãos reguladores de medicamentos.

### **Direito a fazer perguntas e/ou retirar-se do estudo:**

Você pode fazer perguntas sobre o estudo. Apesar de apreciarmos seu apoio contínuo, você tem direito de retirar-se do estudo quando quiser e não estará obrigada a outras colheitas de amostras de sangue ou a ser submetida a exame

do colo do útero com colheita de amostras. Se você tiver alguma pergunta, por favor, entre em contato com:

Dras Sophie Derchain ou Eliane R. Zambelli Mesquita de Oliveira

Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher  
Área de Oncologia Ginecológica e Patologia Mamária  
Rua Alexandre Flemming, 101 – Barão Geraldo  
CEP 13083-970 Cx Postal 6081 Campinas – SP  
Fone: 019- 37889305  
FAX: 019- 37889424

**Benefícios do estudo:**

Você fará um exame de citologia cervical (Papanicolaou) e um exame para detectar infecção pelo HPV. Você também receberá orientação a respeito de quaisquer anormalidades que possam vir a ser reveladas pelos resultados dos exames e, se for preciso, você receberá as informações de contato necessárias para tratamento adicional.

**Compensação:**

Para reembolso de despesas com alimentação e transporte, cada participante receberá o equivalente a R\$ 15,00 (quinze reais).

Se você adoecer ou sofrer lesão devido ao fato de tomar parte neste estudo clínico, receberá tratamento médico de acordo com a boa prática médica e os custos de tal tratamento serão pagos pela SmithKline Biologicals. Todas as participantes do estudo estão cobertas pela apólice de seguro global contratada pela SmithKline Beechams Biologicals. Se você tiver alguma pergunta sobre a disponibilidade de tratamento médico ou se você achar que está com uma doença ou lesão relacionada com a pesquisa, favor entrar em contato com:

Dras Sophie Derchain ou Eliane R. Zambelli Mesquita de Oliveira  
(Endereço e telefone acima mencionados).

### **Consentimento Informado:**

Os objetivos e procedimentos deste estudo epidemiológico foram explicados de forma clara e eu li e compreendi a informação fornecida. Concordo em fazer parte deste estudo. Entendo que tenho o direito de não tomar parte no estudo e que posso retirar-me dele quando quiser e por qualquer motivo, sem que por isso haja conseqüências na atenção à minha saúde, presente ou futura, e o atendimento que recebo de meu prestador de saúde. Fui informada sobre meu direito de acessar e pedir que meus dados pessoais sejam corrigidos. Informo que recebi uma cópia deste formulário para futura referência.

Eu, \_\_\_\_\_ por este meio e de livre e espontânea vontade, dou o meu consentimento para participar deste estudo epidemiológico.

Assinatura da participante: \_\_\_\_\_

Endereço da participante: \_\_\_\_\_

Telefone da participante: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

Declaração do Médico, Enfermeira ou Assistente de Projeto que conduziu a discussão sobre o consentimento informado.

Expliquei cuidadosamente a natureza, as exigências e os riscos e benefícios previsíveis do estudo, à pessoa acima mencionada e testemunhei o preenchimento do formulário de consentimento escrito.

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Designação: \_\_\_\_\_

Hora: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

**Para participantes menores de 18 anos:**

**Consentimento dos responsáveis**

O estudo epidemiológico foi-me explicado de forma clara e eu li e compreendi a informação fornecida. Concordo que a minha filha/tutelada faça parte deste estudo. Entendo que minha filha tem o direito de não tomar parte no estudo e de retirar-se dele quando quiser e por qualquer motivo, sem que por isso haja conseqüências na atenção a sua saúde, presente ou futura, e para o atendimento que ela recebe de seu prestador de saúde. Fui informado sobre seu direito de acessar e pedir que seus dados pessoais sejam corrigidos. Informo que recebi uma cópia deste formulário para futura referência.

Eu, \_\_\_\_\_ por este meio e de livre e espontânea vontade, dou o meu consentimento para que minha filha participe deste estudo epidemiológico.

Nome do pai/mãe/responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do pai/mãe/responsável: \_\_\_\_\_

Grau de parentesco com a participante: \_\_\_\_\_

Endereço da participante: \_\_\_\_\_

Telefone da participante: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_

## 9.2. Anexo 2 - Questionário

### Estudo Epidemiológico sobre o *Papilomavírus Humano* - Questionário *SmithKline Beecham Biologicals*

1. Qual é a data do seu aniversário?        /        /         
Dia    Mês    Ano
  
2. Em que país você nasceu? \_\_\_\_\_  
| ⇒ Favor indicar o Estado: \_\_\_\_\_
  
3. Qual é o seu grupo étnico? (marcar apenas uma opção)  
 Branco       Negro  
 Asiático     Mulato               Outro: \_\_\_\_\_
  
4. Aonde você mora atualmente? (cidade): \_\_\_\_\_
  
5. Qual é o seu estado civil atual?  
 Solteira  
 Casada  
 Viúva  
 Divorciada/separada  
 Vivendo com um companheiro
  
6. Atualmente você está matriculada em uma escola do 1º grau, escola do 2º grau ou universidade?  
 Sim     Não
  
7. Incluindo a escola do 1º grau, a escola do 2º grau e a universidade, quantos anos de estudo você completou? \_\_\_\_\_ anos.
  
8. Alguma vez você fumou cigarro regularmente. Isto é, um ou mais cigarros por dia durante um ou mais anos?  
 Sim     Não
  
9. Você fumou um total de pelo menos 100 cigarros em toda a sua vida?  
 Sim     Não  
| → Se não, ir para pergunta 13.

10. Com que idade você começou a fumar? \_\_\_\_\_ anos.
11. Você ainda fuma?  
 Sim  Não  
 | → Se não, com que idade você parou? \_\_\_\_ anos.
12. Em média, quantos cigarros você fuma/fumava por dia/semana?  
 \_\_\_\_\_ Cigarros por dia OU \_\_\_\_\_ Cigarros por semana
13. Qual é a sua orientação sexual atual?  
 Heterossexual  Lésbica  
 Bissexual  Não sei
14. Alguma vez teve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?  
 Sim  Não  
 | → Se não, ir para a pergunta 25  
 | → Se sim, Que idade você tinha quando teve a primeira  
 relação sexual ou contato sexual de genital com genital? \_\_\_\_\_ anos
15. Em toda a sua vida, qual é o número de parceiros com quem você teve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?  
 Número \_\_\_\_\_  Nenhum
16. Com quantos destes parceiros você manteve um relacionamento sexual regular durante três meses ou mais?  
 Número \_\_\_\_\_  Nenhum
17. EM RELAÇÃO À MAIOR PARTE DA SUA VIDA SEXUALMENTE ATIVA, com que frequência em média você manteve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?

Favor responder em número de vezes por semana, por mês ou por ano, o que lhe parecer mais fácil:

Número de vezes por semana \_\_\_\_\_

OU

Número de vezes por mês \_\_\_\_\_

OU

Número de vezes por ano \_\_\_\_\_

OU

Menos de uma vez por ano

18. Somente no ÚLTIMO ANO, com que frequência em média você manteve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?

Favor responder em número de vezes por semana, por mês ou por ano, o que lhe parecer mais fácil:

Número de vezes por semana \_\_\_\_\_

OU

Número de vezes por mês \_\_\_\_\_

OU

Número de vezes por ano \_\_\_\_\_

OU

Menos de uma vez por ano

19. Durante O ÚLTIMO ANO SOMENTE, com quantos parceiros você manteve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?

Número \_\_\_\_\_

→ Quantos desses parceiros eram novos? \_\_\_\_\_ Número

("Novos" significa relação sexual ou contato sexual de genital com genital pela PRIMEIRA VEZ com este parceiro.

20. A seguir estão listados os métodos comuns de controle da gravidez.

Leia toda a lista e marque se você e seu(s) parceiro(s) sexual(ais) alguma vez usaram algum deles (marcar todos os que corresponderem) seja ocasionalmente ou com regularidade.

**CONSIDERAMOS "REGULARMENTE" COMO UM MÍNIMO DE TRÊS MESES SEGUIDOS.**

- |                                      |                                       |                                   |                                |
|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| a) pílula anticoncepcional           | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| b) preservativo (camisinha)          | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| c) espuma, gel, creme                | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| d) DIU                               | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| e) diafragma com espermicida         | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| f) diafragma <u>sem</u> espermicida  | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| g) cap cervical                      | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| h) esponja                           | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| i) ducha vaginal                     | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| j) ritmo, calendário, método natural | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| k) retirada/coito interrompido       | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| l) Norplant                          | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| m) Depo-Provera                      | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |

21. Você foi submetida à cirurgia para esterilização (ligadura de trompas)?

Sim

Não

↓ Se Sim, informe o mês e o ano da cirurgia \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
mês ano

22. Se você utilizou anticoncepcionais orais ou pílulas para controle da gravidez, favor indicar que idade você tinha quando os tomou pela primeira vez

Idade: \_\_\_\_\_ anos

Nunca usei anticoncepcionais

↓

Se nunca, ir para a pergunta 25

23. Considerando somente os períodos em que você esteve tomando a pílula ou outras formas hormonais de controle da gravidez (e.g. Norplant ou Depo-Provera), durante quanto tempo você confiou nesse método de controle da gravidez (some todos os períodos durante os quais você tomou qualquer tipo de anticoncepcional oral)

\_\_\_\_\_ meses OU \_\_\_\_\_ anos

todos os períodos somados foram menos que 3 meses

24. Agora, considerando SOMENTE O ÚLTIMO ANO, em média, qual dos seguintes métodos de controle da natalidade você e seu(s) parceiro(s) sexual(is) utilizaram? (marcar todos os que corresponderem)

- |                                      |                                       |                                   |                                |
|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| a) pílula anticoncepcional           | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| b) preservativo (camisinha)          | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| c) espuma, gel, creme                | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| d) DIU                               | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| e) diafragma com espermicida         | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| f) diafragma <u>sem</u> espermicida  | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| g) cap cervical                      | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| h) esponja                           | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| i) ducha vaginal                     | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| j) ritmo, calendário, método natural | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| k) retirada/coito interrompido       | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| l) Norplant                          | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |
| m) Depo-Provera                      | <input type="checkbox"/> Regularmente | <input type="checkbox"/> As vezes | <input type="checkbox"/> Nunca |

25. Com que idade você teve o seu primeiro período menstrual? \_\_\_\_\_ anos

26. Quando foi o seu período menstrual mais recente? \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
(tente responder mesmo se já não menstrua mais) dia mês ano

27. Pelo que você sabe, você está grávida?

Sim

Não

Não Sei

28. Alguma vez esteve grávida antes?

Sim

Não

| → Se não, ir para a pergunta 29

| → Se sim, quantas vezes? \_\_\_\_\_ vezes



Quantos nasceram vivos? \_\_\_\_\_ nasceram vivos

29. Em toda a sua vida, quantos Exames de Papanicolau você realizou?  
Escolha uma das categorias abaixo:

este é o meu primeiro teste de Papanicolau

6 – 10 vezes

2 – 3 vezes

mais de 10 vezes

4 – 5 vezes

Se este for seu primeiro exame de Papanicolau, vá para a pergunta nº 31

30. Quando foi o último Exame de Papanicolau que você realizou?

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
mês      ano

31. Alguma vez um médico lhe informou que você tinha alguma das seguintes doenças?

Marque todas as que corresponderem, se estiver em dúvida marque a coluna “não sei”.

**a)** Infecções vaginais com Cândida

Sim

Não

Não Sei

**b)** Infecções vaginais com Tricomonas

Sim

Não

Não Sei

**c)** verrugas venéreas, condilomas ou  
infecção pelo papilomavírus

Sim

Não

Não Sei

**d)** Clamídia

Sim

Não

Não Sei

**e)** Herpes Genital

Sim

Não

Não Sei

**f)** Sífilis

Sim

Não

Não Sei

**g)** Gonorréia

Sim

Não

Não Sei

**h)** Úlceras ou feridas genitais

Sim

Não

Não Sei

**i)** Vaginose bacteriana

Sim

Não

Não Sei

32. Pensando em toda a sua vida sexual ativa, alguma vez você apresentou outros problemas genitais como, por exemplo, corrimento vaginal anormal, coceira excessiva ou irritação

Nunca

Menos de uma vez por ano

Mais de uma vez por ano

33. Agora, somente no último ano, você apresentou outros problemas genitais como, por exemplo, corrimento vaginal anormal, coceira excessiva ou irritação

- Não  
 Se Sim, quantos episódios? \_\_\_\_\_

34. Algumas vezes os médicos receitam hormônios femininos para suas pacientes por motivos outros que a anticoncepção, tais como: aliviar acne, regular ou eliminar períodos dolorosos, sintomas de menopausa, reduzir o desconforto durante o coito devido à secura vaginal, prevenir abortos espontâneos, entre outros.

Faça um esforço de memória e responda: alguma vez o seu médico lhe receitou hormônios femininos?

- Sim  Não

↓

Se Sim, em que mês e ano começou a tomá-los e em que mês e ano você os tomou pela última vez?

Início: \_\_\_\_/\_\_\_\_  
          mês  ano

Final: \_\_\_\_/\_\_\_\_  
          mês  ano

35. Entre as duas datas acima, durante quanto tempo (número de meses) você tomou o hormônio feminino de forma contínua, no total

\_\_\_\_\_ meses

36. O hormônio feminino que você tomou foi sob a forma de (marcar todas as que correspondam):

- pílulas  
 injeções  
 cremes ou supositórios

Este é o final do questionário. Gostaríamos que você tomasse alguns segundos para revisar as suas respostas em todas as seções deste questionário. **AGRADECEMOS MUITO POR SUA COLABORAÇÃO**

### 9.3. Anexo 3 - Presença e tipo de DNA-HPV nas 600 mulheres avaliadas

DNA-HPV	Número de casos
Sem tipo definido	31
6	1
6-16	1
6-31	1
6-33	1
6-43	1
6-56	1
6-59	1
11	1
16	14
16-18	1
16-31*	2
16-31-44	1
16-31-70-74	1
16-35	1
16-39-59	1
16-40-52	1
16-51	2
16-51-68	1
16-52	2
16-52-53	1
16-52-68	1
16-53	1
16-53-58	1
16-59	1
16-70	1
16-74	2
18	6
18-35-52-53	1
18-39	1
18-43-53-68	1
18-51-58-59*	1
18-66	1
31	9
31-33	1
31-35-39	1
31-35-52-53	2
31-39-59-74	1
31-51	1
31-52	1

DNA-HPV	Número de casos
31-58	1
31-66	1
31-68	1
33	4
33-35	1
33-51-52	1
33-68	1
34-54	1
35	3
35-70	1
39	7
40	2
42	1
43	2
43-53-56-68	1
44	4
45	1
45-70	1
51*	10
51-54	1
52	5
52-53	1
52-58	1
52-70	2
53	5
53-66-68	1
54	7
54-68	2
56	6
56-58-59	1
58	6
58-66	1
59	3
66	7
68	11
70	1
74	1
Total	207

\* tipos de DNA-HPV presentes nas lesões citológicas de alto grau.