

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE A COLPOCITOLOGIA  
E A REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE  
PARA O DIAGNÓSTICO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO  
COLO UTERINO DE MULHERES PORTADORAS DO VÍRUS DA  
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

**IWENS MOREIRA DE FARIA**

Belo Horizonte

2007

**IWENS MOREIRA DE FARIA**

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE A COLPOCITOLOGIA  
E A REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE  
PARA O DIAGNÓSTICO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO NO  
COLO UTERINO DE MULHERES PORTADORAS DO VÍRUS DA  
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Ginecologia/Obstetrícia

Orientador: Prof. Dr. Victor Hugo de Melo

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2007

Aos meus pais,  
que, impossibilitados de prosseguir em seus estudos,  
lutaram com todas as suas forças  
para que seus filhos atingissem a Universidade.

Aos meus filhos,  
dádiva maior que ganhei de Deus,  
razão pela qual lutei para dar o melhor exemplo.

À minha esposa,  
companheira inseparável nas horas certas e incertas,  
pelo amparo constante nos meus momentos mais difíceis da caminhada.

## **AGRADECIMENTOS**

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para que o trabalho chegasse ao seu final.

A Deus, que na sua infinita bondade me proporcionou forças para escalar este Everest de desafios que me foram apresentados nesta jornada.

Ao Prof. Dr. Victor Hugo de Melo, que me resgatou para o mestrado e com quem tive um aprendizado constante ao longo desses três anos.

Às pacientes do Orestes Diniz que, com seu desprendimento e sofrimento, fizeram-me entender melhor a alma feminina.

Aos meus colegas médicos participantes do grupo, pela amizade, colaboração e companherismo nesse período extremamente produtivo da equipe do Orestes Diniz.

À minha esposa Elta, pelo incentivo e ajuda, que praticamente fez com que ela se tornasse co-autora do trabalho.

Aos meus filhos, Leonardo e Fernando, pelo estímulo, apoio e torcida, principalmente nas horas mais difíceis da escalada, fazendo-me renascer para as atividades acadêmicas.

À Dra. Lúcia Porto Fonseca, pela colaboração e pelo carinho na revisão das lâminas e na elaboração das fotos, proporcionando-me uma visão diferente da citologia.

Ao Dr. Marcelo Militão, ensinando-me como não me perder nos caminhos da Estatística.

Às enfermeiras do CTR-DIP, pela sua dedicação ao trabalho procurando diminuir o sofrimento das pacientes e fazendo com que a parte burocrática seguisse o ritmo normal.

A Dra. Dora e Dra. Nara do NUPAD, pela realização dos exames de PCR, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Ao André Fares Dias, pela procura incessante das lâminas e dos arquivos do SAME.

À Profa. Magda Barbosa Roquete, pela revisão minuciosa do trabalho.

Ao Figueroa, motorista e companheiro constante nas viagens semanais a Belo Horizonte.

Aos meus colegas da Maternidade do Hospital Manoel Gonçalves, pela ajuda nos plantões, especialmente ao Dr Claudemir Nocente, que também me substituía nos exames ultrasonográficos.

À Rosemara e Neida, pela ajuda na tradução.

Aos meus irmãos, tios, sobrinhos, cunhados e sogros, pelo carinho e incentivo.

Às minhas secretárias, Lucilene, Andréa, Graça, Gercina e Glória.

## RESUMO

Objetivo: verificar a acuidade do exame citológico para o diagnóstico do HPV a partir de citologias do colo uterino de mulheres portadoras do HIV, pela comparação com o método da reação em cadeia de polimerase (PCR). Métodos: foram estudadas 158 pacientes soropositivas para HIV, nas quais se realizou coleta de material (raspado) da cérvix uterina para a reação em cadeia da polimerase (PCR), além da citologia com espátula de Ayre e cytobrush. Deste total foram revisadas 109 lâminas porque 49 foram destruídas, por terem ultrapassado dois anos de arquivo. Resultados: a prevalência de HPV foi de 11,0% no estudo citológico e 69,7% na PCR. A idade do grupo estudado variou de 20 a 61 anos, com mediana de 35 anos. A forma de contágio pelo HIV foi a heterossexual em 91,8 % dos casos e 79,1% dos pacientes tiveram de um a cinco parceiros sexuais em toda a vida. A queixa mais freqüente foi massa pélvica (5,1%) e 75,3% procuraram o serviço para consulta de rotina. Das 76 pacientes com HPV detectado pela PCR, somente 12 foram confirmadas pela citologia (S=15,8%), que não demonstrou falso-positivo (E=100%). Comparando-se os dois resultados, encontraram-se para a citologia: valor preditivo positivo = 100% e valor preditivo negativo = 33,3%. Das 12 pacientes com citologia positiva para HPV, quatro (33,3%) apresentaram neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC); *odds ratio* 5,6. Razão de verossimilhança positiva = infinidade positiva e razão de verossimilhança negativa = 0,83.

Conclusão: como a especificidade da citologia é bem alta e a sensibilidade baixa, pode-se confiar no resultado positivo, o que significa dizer que quando a citologia for positiva, o HPV certamente estará presente. A baixa sensibilidade retira da citologia o valor como exame de rastreamento para HPV nesse grupo de mulheres.

Palavras-chave: Co-infecção HIV/HPV. Citologia. PCR.

## ABSTRACT

Objective: to check the acuity of cytologic exam for the HPV diagnosis, from cytology of the uterus of HIV women, through comparison with the polymerase chain reaction method (PCR). Methods: a hundred and fifty-eight HIV-Positive patients, from whom a material collection (exfoliated) was carried out of uterine cervix for a PCR and cytology with Ayre and Cytobrush spatula, were studied. Of this total, 109 smears were revised, because 49 had been destroyed for having exceed 2 years of archive. Results: among the 158 patients, HPV prevalence was 11,0% through cytologic study and 69,7% through PCR. The age of the studied group ranged from 20 to 61 years old with an average of 35 years old. HIV contamination was heterosexual in 91,8% of cases and 79,1% of patients had from 1 to 5 sexual partners in their lifetime. The most common complaint was pelvic mass (5,1%) and 75,3% looked for routine visit. Among 76 patients with HPV detected by PCR, only 12 were confirmed by cytology ( $S = 15,8\%$ ). This didn't show any false-positive ( $E = 100\%$ ). Comparing the two results, it was found for cytology: Positive Predictive Value = 100% and Negative Predictive Value = 33,3%. Among 12 patients with Positive Cytology for HPV, 4 (33,3%) showed neoplasia intraepithelial cervical (NIC), odds ratio 5,6. Positive ratio likelihood = positive infinity and negative ratio likelihood = 0,83. Conclusion: as cytology specificity is very high and sensitivity is low, it means that when cytology is positive, HPV will certainly be present. The low sensitivity retrieves from cytology the value as screening for HPV test in this group of women.

Key words: HIV/HPV co-infection. Cytology. PCR.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
CAF	Cirurgia de alta frequência
CDC	Centro de Controle de Doenças
CTR-DIP	Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DST	Doenças sexualmente transmitidas
ELISA	<i>enzyme-linked immunoabsorbent assay</i>
FDA	<i>Federal Drugs Administration</i>
FN	Falso-negativo
FP	Falso-positivo
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
HC	Hospital das Clínicas
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papilomavírus humano
HSIL	Lesão epitelial de alto grau
IARC	<i>International Agency for Research on Câncer</i>
JEC	Junção escamocolunar
LSIL	Lesão epitelial de baixo grau
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
NUPAD	Núcleo de Pesquisa em Apoio Diagnóstico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
rpm	Rotações por minuto
RVP	Razão de verossimilhança positiva
SIL	Lesões intra-epiteliais escamosas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VN	Verdadeiro negativo
VP	Verdadeiro positivo
WIHS	<i>Women's Interagency HIV Study</i>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Coilocitose.....	47
Figura 2 - Disceratose.....	48
Figura 3 - Bi ou multinucleação.....	49
Figura 4 - Cariorrexe.....	49
Figura 5 - Células fantasmas.....	50
Figura 6 Escamas nucleadas.....	51
Figura 7 - Grânulos cerato-hialinos.....	51
Figura 8 - Halo perinuclear.....	52
Figura 9 - Núcleo em fibra.....	52
Figura 10 - Núcleo hipercromático.....	53
Figura 11 - Etapas da PCR: preparação do <i>mix</i> para a realização da PCR.....	95
Figura 12 - Amostras sendo colocadas no termociclador onde ocorrerão as etapas da PCR: desnaturação, anelamento e extensão.....	97
Figura 13 - Montagem de gel de agarose.....	98
Figura 14 - Esquema ilustrativo das etapas da PCR.....	99

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estudos de coorte e transversal não-emparelhados (expostos e não-expostos) tamanho amostral de 39% de doença no grupo não-exposto.....	90
Tabela 2 - Interpretação dos resultados do procedimento da PCR.....	100
Tabela 3 - Esquema de iniciadores utilizados pelo NUPAD.....	101
Tabela 4 - Características demográficas e comportamentais de mulheres infectadas pelo HIV (n=158).....	115
Tabela 5 - Características ginecológicas e obstétricas de mulheres infectadas pelo HIV (n=158).....	116
Tabela 6 - Características clínicas de mulheres infectadas pelo HIV (n=158).....	118
Tabela 7 - Achados citológicos e colposcópicos da amostra estudada.....	119
Tabela 8 - Tipos de HPV (infecção simples) em 28 pacientes infectadas pelo HIV	120
Tabela 9 - Tipos de HPV (infecção múltipla) em 78 pacientes infectadas pelo HIV (ordem decrescente).....	120
Tabela 10 - Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e a PCR em 109 mulheres infectadas pelo HIV.....	121
Tabela 11 - Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e número de HPV's identificados à PCR em 109 mulheres infectadas pelo HIV.....	122
Tabela 12 - Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e número de HPV's identificados pelo PCR em mulheres infectadas pelo HIV.....	122
Tabela 13 - Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e o tipo de HPV's identificados pela PCR em mulheres infectadas pelo HIV.....	123
Tabela 14 - Comparação entre citologia positiva e neoplasia intra-epitelial.....	123
Tabela 15 - Comparação do diagnóstico de HPV pela citologia relacionado com níveis de CD4.....	124
Tabela 16 - Diagnóstico de HPV pela citologia em pacientes portadoras do HIV (com e sem AIDS).....	124
Tabela 17 - Comparação entre idade e resultado da colpocitologia oncótica.....	125

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Papilomavírus humano.....	16
2.1.1 Histórico e aspectos biológicos.....	16
2.1.2 Patogenia.....	17
2.1.3 Transmissão.....	19
2.1.4 Epidemiologia.....	21
2.1.5 Prevalência.....	22
2.1.6 História natural.....	23
2.1.7 Métodos de diagnóstico.....	31
2.1.7.1 Citologia.....	31
2.1.7.2 Histopatologia.....	32
2.1.7.3 Biologia molecular.....	32
2.2 Vírus da imunodeficiência humana (HIV).....	34
2.2.1 Epidemiologia.....	34
2.2.2 Diagnóstico.....	34
2.3 Co-infecção HIV e HPV.....	35
2.4 Citologia.....	44
2.4.1 Citopatologia cervical.....	45
2.4.1.1 Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico citológico de papilomavírus humano.....	45
2.4.2 Critérios clássicos para o diagnóstico citológico do HPV.....	46
2.4.3 Critérios não-clássicos para o diagnóstico citológico do HPV.....	48
2.4.4 <i>Screening</i> citológico.....	57
2.4.5 Esfregaço de Papanicolaou em mulheres soropositivas para o HIV.....	69
2.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR) e citologia.....	76
2.5.1 Reação em cadeia da polimerase (PCR) e lesões intra-epiteliais escamosas (SIL).....	79
2.5.2 Reação em cadeia da polimerase e câncer.....	81
2.6 Triagem primária nos países em desenvolvimento.....	85

3 OBJETIVO.....	87
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	88
4.1 Considerações éticas.....	88
4.2 Pacientes.....	88
4.2.1 Critérios elegíveis.....	89
4.2.2 Critérios não elegíveis.....	89
4.3 Cálculo amostral.....	90
4.4 Métodos.....	91
4.4.1 Exame físico.....	92
4.4.1.1 Coleta de material para detecção do HPV e seus genótipos.....	92
4.4.1.2 Coleta de material para citologia oncótica.....	93
4.4.1.3 Colposcopia.....	93
4.4.1.4 Biópsia dirigida do colo uterino.....	93
4.4.2 Exames laboratoriais.....	94
4.4.2.1 Reação em cadeia de polimerase (PCR).....	94
4.4.2.2 Estudo histopatológico do colo uterino.....	103
4.4.2.3 Citologia.....	103
4.4.2.4 Coleta de material do colo uterino.....	103
4.4.3 Fixação e fixadores.....	104
4.4.3.1 Qualidade da amostra.....	104
4.4.3.2 Coloração.....	105
4.4.4 Técnica de preparo das lâminas de citologia no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG.....	106
4.4.4.1 Preparação dos corantes.....	106
4.4.5 Critérios citológicos para diagnóstico de HPV.....	109
4.4.5.1 Critérios definidores para HPV.....	109
4.4.5.2 Critérios prováveis para HPV.....	109
4.4.6 A citometria de fluxo para a contagem de linfócitos T CD4.....	110
4.4.7 Método de quantificação da carga viral do HIV.....	110
4.4.8 Coleta dos dados.....	111
4.4.8.1 Presença ou ausência de NIC.....	111
4.4.9 Método estatístico.....	112
4.4.10 Método bibliográfico.....	113

5 RESULTADOS.....	114
5.1 Características demográficas e comportamentais.....	114
5.2 Características gineco-obstétricas.....	116
5.3 Características clínicas.....	117
5.4 Achados colposcópicos e citológicos.....	118
5.5 Tipos de HPV identificados através da PCR.....	119
5.6 Citologia comparada a outros achados.....	120
5.7 Imunossupressão e HPV.....	123
6 DISCUSSÃO.....	126
6.1 Características demográficas e comportamentais.....	126
6.2 Características obstétricas e ginecológicas.....	128
6.3 Achados citológicos, colposcópicos e histológicos.....	130
6.4 Tipos de HPV identificados pela PCR.....	134
6.5 Imunossupressão e HPV.....	136
6.6 Citologia <i>versus</i> PCR para HPV.....	137
7 CONCLUSÕES.....	142
REFERÊNCIAS.....	143
ANEXOS E APÊNDICES.....	166

## 1 INTRODUÇÃO

A infecção por certos tipos de papilomavírus humano (HPV) é agora reconhecida como fator principal para câncer cervical. Aproximadamente 50% dos cânceres contêm HPV 16; e acima de 95% contêm um ou mais tipo de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56 e 58). O índice de infecção pelo papilomavírus humano, assim como a incidência de neoplasia cervical intra-epitelial estão aumentados em pacientes imunodeprimidos. Porém, pouco se sabe sobre a patogênese da doença cervical em mulheres com sorologia positiva para o vírus da imunodeficiência humana (HIV)<sup>1,2</sup>.

Não é bem conhecido se a soropositividade pelo HIV aumenta a susceptibilidade do paciente à infecção pelo HPV anogenital, independentemente dos fatores de risco epidemiológicos padrões para infecção HPV, ou se altera as associações preferenciais entre os tipos específicos de HPV e a doença cervical que foi documentada na população em geral<sup>3</sup>.

Desde a implantação da triagem difundida com o teste de Papanicolaou, os índices de câncer cervical nos Estados Unidos diminuíram de 14,2/100.000 em 1973 para 7,8/100.000 em 1994. Apesar de sua experiência bem sucedida, entretanto, a citologia está longe de ser perfeita. Como instrumento de triagem e em muitos contextos, especialmente em países em desenvolvimento, programas baseados na citologia fracassaram substancialmente na redução dos índices de câncer<sup>4</sup>.

A citologia é um método acessível e rápido, que pode ser utilizado no rastreamento do HPV na população em geral<sup>5</sup>. Porém, a taxa apreciável de falso-negativos e a variação dos resultados interobservador tornam necessário o uso de outros métodos diagnósticos<sup>5</sup>.

Os exames de ácido desorribonucléico (DNA) podem detectar tipos de HPV de alto risco em células obtidas durante a triagem citológica de rotina. Os resultados de vários estudos têm destacado a falta de sensibilidade da citologia de rotina e indicado o exame de HPV DNA pela sua alta sensibilidade (aproximadamente 95%) para identificar neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau (NIC II e NIC III) ou neoplasia glandular<sup>6,7</sup>. Uma proporção significativa de câncer invasivo é diagnosticado após um esfregaço aparentemente normal<sup>8</sup>.

A observação de citologias normais em pacientes com diagnóstico molecular positivo para HPV induziu a pesquisar o real valor do diagnóstico citológico para HPV em pacientes infectadas pelo HIV. Para esta avaliação, os presentes resultados citológicos de lesões cervicais suspeitas de HPV, em pacientes soropositivas para HIV, foram comparados com resultados de reação em cadeia de polimerase (PCR) de amostras cervicais dessas pacientes.

A PCR “padrão ouro” neste estudo foi escolhida por ser um método de alta sensibilidade e especificidade para HPV.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Papilomavírus humano

#### 2.1.1 Histórico e aspectos biológicos

Nos tempos romano-helenísticos, o condiloma acuminado era doença bem definida, conhecida em latim como *ficus e thymus*, termos cuja natureza descritiva permitia a sua identificação. *Ficus* era, inicialmente, palavra obscena, freqüentemente usada nos escritos médicos antigos e citada como conseqüência de intercurso não natural. *Thymus* designava uma espécie botânica encontrada na região do Mediterrâneo, cuja florescência se assemelhava a condilomas isolados. A palavra *thymus* desapareceu, mas *ficus* sobrevive sob várias formas e em diferentes línguas, com o seu significado original até os dias atuais. Na Idade Média, não foram registrados dados sobre o condiloma acuminado na literatura<sup>9</sup>.

Hunter (1786)<sup>10</sup> publicou descrição clara das verrugas genitais, tendo-as descrito como lesões da sífilis. O reconhecimento de que as mesmas constituíam doença não relacionada à sífilis pode ser atribuído a Ricord (1838)<sup>11</sup>.

Durante o século XIX, desenvolveu-se também a teoria do “irritante não específico”, acreditando-se que as verrugas genitais eram causadas pela irritação da epiderme por vários agentes, como sujeira, decomposição do esmegma e secreções genitais. A ação desses irritantes não-específicos foi aceita até o século XX. Um avanço significativo foi feito por Barret *et al.* (1954)<sup>12</sup>, que observaram verrugas vulvares em mulheres de soldados

que combateram na Coreia e que apresentavam verrugas penianas, ficando evidente a infectividade sexual.

O significado clínico das infecções anogenitais pelo HPV não tratadas inclui: transmissão da doença aos parceiros sexuais, particularmente das lesões produtivas de HPV-6; transmissão de vírus aos recém-nascidos por mães infectadas; e risco de desenvolver carcinoma escamoso invasor<sup>13</sup>.

O papilomavírus é membro da família *Papovaviridae* (papiloma, polioma, vírus produtores de vacúolos). Consiste em um vírion de 55µm, icosaédrico, com 72 capsômeros. O genoma é uma dupla hélice de DNA circular e a análise da seqüência de nucleotídeos é a base do método de classificação dos vários subtipos virais. O genoma do HPV consiste em 8.000 pares de bases, porém deleções de até 25% têm sido observadas<sup>12</sup>.

### 2.1.2 Patogenia

O interesse pelo HPV tem crescido constantemente desde a primeira identificação das seqüências de DNA (tipos 16 e 18) nas biópsias de câncer anogenital, tanto quanto nas linhagens do câncer cervical. Por isso, uma relação causal entre o HPV e o câncer da cérvix está agora firmemente estabelecida do ponto de vista epidemiológico<sup>14,15</sup>.

As lesões de baixo grau com HPVs dos tipos 6 e 11 representam risco baixo ou muito baixo para carcinoma invasor. Esses genomas virais permanecem extracromossomais (forma episomal), levando a infecções produtivas, cuja marca é a coilocitose. Em vários

estudos prospectivos observou-se risco relativo de 560 a 2.000 vezes mais alto entre mulheres com NIC de baixo grau não tratada, nas quais as figuras de mitose anormais e talvez HPV tipo 16 ou vírus relacionado estavam presentes. Em outro trabalho, 26% de pacientes apresentando HPV-16 e NIC de baixo grau progrediram para NIC 3 em 18 meses<sup>16,17</sup>.

As últimas três décadas têm testemunhado o aumento de detecção da infecção viral como a mais importante, estudada, discutida e incômoda forma de doença de transmissão sexual. A infecção pelo HPV é particularmente importante devido à sua alta prevalência e seu papel na etiologia do câncer anogenital. Estudos epidemiológicos recentes confirmam a importância dessas associações<sup>18</sup>.

Atualmente, já foram isolados mais de 100 tipos diferentes de HPV que infectam apenas a espécie humana. Tipos virais associados comumente aos crescimentos benignos não são, na maioria dos casos, os mesmos encontrados nas lesões malignas. Estes últimos expressam proteínas com potencial oncogênico, ou seja, que interagem especificamente com proteínas celulares envolvidas no controle da proliferação celular e, portanto, acredita-se que o potencial oncogênico desses vírus seja em parte devido a essas interações. Certos tipos de HPV são encontrados exclusivamente em lesões epiteliais benignas e carcinomas de pacientes com epidermodisplasia verruciforme, enquanto outros foram isolados das mucosas genital e oral de populações testadas em todo o mundo. Um amplo espectro de lesões está associado à presença do HPV, desde anormalidades citológicas incipientes, displasias de diferentes graus até o carcinoma invasivo. Igualmente importante para envolver o HPV como agente etiológico do câncer da cérvix uterina foi a localização em displasias cervicais das mesmas alterações citológicas descritas nas infecções

condilomatosas por HPV. As proteínas do capsídeo viral foram verificadas nos núcleos celulares das duas condições, em frequências variáveis. Além disso, o material genético de vários tipos de HPV foi detectado em tecidos normais em frequência muito menor que a encontrada em tumores da cérvix, que atingiu valores próximos de 90%<sup>19</sup>.

As evidências que ligam tipos específicos de HPV ao desenvolvimento do câncer anogenital tornaram-se muito fortes entre os carcinomas cervicais<sup>20</sup>. O HPV 16 continua sendo o tipo mais prevalente, enquanto o HPV 18 predomina nos adenocarcinomas. Além destes, outros tipos são detectados nas biópsias das NICs e carcinomas vulvar, peniano e anal. Não somente esses vírus estão presentes nas lesões, mas uma quantidade crescente de dados experimentais revela seu papel essencial no desenvolvimento da proliferação maligna. Estudos *in vitro* que induziram a infecção de queratinócitos humanos com genes E6 e E7 do HPV 16 ou 18 levaram essas células à imortalização ou a um sistema que permite a estratificação dos queratinócitos com diferenciação alterada. Embora os mecanismos de controle sejam ainda desconhecidos, é possível que a produção viral decline e o vírus permaneça retido sob a forma latente nos tecidos cervicais. Embora a infecção pelo HPV esteja emergindo como fator essencial, modificações adicionais dos genes da célula hospedeira que controlam a expressão do HPV são necessárias para o desenvolvimento da lesão maligna. Essas infecções são muito comuns, especialmente em populações mais jovens<sup>20</sup>.

### 2.1.3 Transmissão

Considera-se que o HPV seja de transmissão preferencialmente sexual<sup>21</sup>. São inúmeras as ocorrências dessa forma de contaminação. Todavia, os pesquisadores em geral não chegaram à conclusão de qual seria a chance de contágio a partir do contato com um parceiro contaminado<sup>22</sup>. Alguns autores citam um período de incubação de semanas, mas isto somente está documentado em relação à forma clínica da infecção, que é o condiloma. Não é conhecido o intervalo mínimo entre a contaminação e a detecção de DNA viral ou o estabelecimento de lesão subclínica. Isso tem levado paciente e médico a levantar dúvidas ao identificar qual foi o parceiro contaminante<sup>23</sup>.

Como ainda se especula sobre o período de incubação e como se sabe da possibilidade de o vírus permanecer em estado latente por longos períodos sem qualquer manifestação, é virtualmente impossível, na rotina clínica, estabelecer a época provável da contaminação. Essa resposta poderá ser buscada em outros dados, como, por exemplo, a existência de parceiro único ou um contato sexual suspeito<sup>21</sup>.

Outros autores sugerem, ainda, que nem todo contato com o HPV é capaz de estabelecer infecção<sup>24,25</sup>. Argumentam que, como a infecção se inicia pela camada basal do epitélio, ela tenderia a ocorrer em locais onde essa camada estivesse exposta, como na junção escamocolunar ou após microtraumas, como os que possivelmente ocorrem durante o coito<sup>25</sup>. As lesões em locais extragenitais, como cavidade oral e mamilos, são raras<sup>21,25</sup>.

Diversas investigações já demonstraram a presença do HPV em líquido amniótico e na pele e orofaringe de recém-nascidos, em proporções de até 73%<sup>21,25</sup>. Apesar desses altos percentuais, não se observa grande proporção de crianças com lesões, como seria esperado, caso toda contaminação resultasse em lesão. Ao contrário, esses casos são esporádicos e se

traduzem pela presença de condilomas na genitália externa de bebês e pré-escolares e papilomatose juvenil recorrente caracterizada por lesões em orofaringe.

Outros autores comprovaram partículas do HPV em secreções vaginais, superfícies contaminadas, instrumental cirúrgico e fumaça oriunda de procedimentos eletrocirúrgicos ou a *laser*. A questão que permanece sem resposta é se essas partículas virais seriam ou não contaminantes<sup>21,25</sup>.

#### 2.1.4 Epidemiologia

Os diferentes subtipos de HPV conhecidos infectam sítios corporais específicos, desenvolvendo lesões benignas ou malignas<sup>26-33</sup>. Esse tropismo por determinadas localidades teciduais ainda é pouco conhecido; porém, acredita-se que haja receptores específicos em células epiteliais e/ou fatores intracelulares predisponentes à replicação e à transcrição virais<sup>34</sup>.

Os papillomavírus humanos 6, 11, 16, 18 e 42 estão associados a lesões mucosas, sendo os tipos 6, 11 e 42 encontrados com mais frequência em lesões benignas e o 16/18 em lesões malignas<sup>20</sup>. No trato anogenital, os HPVs considerados de baixo risco são também: 6, 11 e 42, enquanto aqueles ditos de alto risco são os tipos 16, 18, 31 e 33<sup>27,35-37</sup>.

O papillomavírus humano tem sido apontado como agente etiológico do câncer cervical<sup>18,27,38-40</sup>. Schiffman *et al.* (1991)<sup>41</sup> acompanharam 500 mulheres portadoras de NIC em diferentes graus, estabelecendo os fatores epidemiológicos de risco associados à

infecção pelo HPV. Os fatores típicos foram: múltiplos parceiros sexuais, infecção pelo herpes vírus, excesso de fumo e álcool, primeiro intercurso sexual em idade precoce e baixas condições socioeconômicas. No Brasil, as lesões cérvico-vaginais malignas associadas ao HPV estão relacionadas ao número de parceiros sexuais, idade precoce do primeiro intercurso sexual e tempo de uso de contraceptivos orais<sup>39</sup>. Os tipos de HPV mais frequentes na região cérvico-vaginal são divididos, segundo a frequência com que são associados a lesões malignas e a seu potencial oncogênico, em: de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 66, 68) e de baixo risco (6, 11, 26, 42, 44, 54, 70, 73)<sup>38,42,43</sup>. Na mucosa oral podem ser encontrados os tipos 1, 2, 4, 6, 7, 11, 13, 16, 18, 30, 32 e 57; porém, alguns estudos estão sendo realizados para investigar os subtipos do trato anogenital (6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35) nas lesões orais<sup>44,45</sup>.

#### 2.1.5 Prevalência

A prevalência do HPV no trato genital feminino varia amplamente, dependendo da técnica de detecção utilizada e da população avaliada. Em mulheres com exame ginecológico e citologia cervical normais, sua incidência é de cerca de 6%. Em mulheres assintomáticas em idade reprodutiva varia de 5 a 40% e em mulheres jovens sexualmente ativas de 25 a 45%<sup>46,47</sup>.

Mais recentemente, com o desenvolvimento da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), descobriu-se que as infecções pelo HPV podem ser muito mais comuns, atingindo desde portadoras assintomáticas até pacientes com câncer cervical invasivo. A prevalência

de DNA-HPV em geral, considerando-se diferentes populações femininas do mundo, tem variado entre 30 e 50%, segundo esta técnica<sup>48</sup>.

No Brasil, alguns estudos utilizando a técnica de PCR encontraram diferentes taxas de prevalência em populações variadas. Em estudo caso-controle realizado em São Paulo, observaram-se 17% de DNA-HPV no grupo-controle e 84% no grupo com câncer de colo uterino<sup>48</sup>.

#### 2.1.6 História natural

A inoculação do papilomavírus humano ocorre durante a relação sexual com pessoas infectadas. O vírus penetra no novo hospedeiro através de microtraumatismos. Os locais mais freqüentes de infecção são aqueles suscetíveis de microtrauma durante a relação sexual, ou seja, o intróito e membranas perianal e intra-anal. Presumivelmente, condilomas genitais externos podem ser adquiridos por auto ou hetero-inoculação de vírions de HPV das verrugas comuns da pele e de verrugas genitais durante o parto. A forma de transmissão mais comum ocorre, entretanto, durante o intercuro sexual<sup>13</sup>.

As verrugas anogenitais são, na maioria das vezes, assintomáticas; pode-se verificar prurido discreto. Algumas verrugas maiores são mais friáveis e sangram facilmente. A dor não está usualmente associada a elas, a menos que sejam suficientemente grandes para se tornarem mecanicamente irritáveis devido à aderência a roupas ou traumatismos no coito. Ocorrem primariamente em regiões úmidas, como o vestíbulo e pele vulvar. Têm disseminação rápida, podendo estender-se ao clitóris e monte de Vênus, assim como para

as regiões perineal, perianal e canal anal. Nas áreas de pele, as lesões se apresentam mais queratinizadas e menos papilíferas. São frequentemente múltiplas, podendo coalescer<sup>49</sup>.

Quando o vírus infecta a célula, existem três possíveis evoluções:

- O organismo consegue eliminar o vírus. A maioria das infecções por HPV é eliminada pelo organismo dentro de 12 meses, atingindo 92% dentro de dois anos.
- A infecção pode permanecer de forma latente, com o DNA viral residindo no núcleo; e a replicação viral fica ligada ao ciclo celular. Neste estado as células infectadas têm aparência normal. A infecção latente pode se tornar ativa por mecanismos ainda desconhecidos. Sabe-se que a imunodepressão fisiológica (gravidez) ou patogênica (HIV) é fator desencadeador. A latência do HPV é aspecto crucial da biologia do vírus, responsável pelas freqüentes recidivas. A infecção latente só pode ser detectada por métodos de biologia molecular.
- Produzir infecção clínica ou subclínica ativa. Para produzir infecção produtiva, o HPV precisa estar na forma epissomal. Quando se inicia um estado replicativo, poucos vírus são encontrados nas células basais e parabasais, mas o número de partículas virais aumenta progressivamente quando o processo de maturação celular ocorre, até que, na superfície epitelial, o núcleo seja substituído em grande parte pelas partículas do vírion completo. Além do espessamento epitelial que acompanha a maior velocidade mitótica, o vírus parece interferir na citocinética, especialmente nas lesões de baixo grau, ocorrendo multinucleação e atipias celulares atribuídas à poliploidização. As células desenvolvem halos perinucleares (coilocitose), acantose, atipia citológica, multinucleação e vacuolização citoplasmática<sup>50</sup>.

As duas últimas décadas têm testemunhado aumento alarmante na incidência de infecção pelo HPV. Os casos clínicos manifestos são pequenas parcelas da população infectada, visto que grande número de pessoas pode apresentar a forma subclínica ou latente da doença<sup>51</sup>.

A maior incidência de HPV genital ocorre entre 20 e 24 anos, sendo semelhante ao padrão de outras doenças sexualmente transmitidas (DST) e provavelmente relacionadas com a idade do início da atividade sexual, gestações, utilização de anovulatórios e riscos mais altos de infecções genitais<sup>48,52</sup>.

A associação entre o câncer do colo uterino e o HPV, especialmente os subtipos 16 e 18, está sustentada em abundantes dados históricos, epidemiológicos, morfológicos, biologia molecular e clínico<sup>53</sup>.

A importância epidemiológica do HPV e sua grande difusão nos pares baseiam-se em sua fácil transmissão pelo contato sexual: de 60 a 80% depois de uma exposição<sup>54,55</sup>.

Em relação ao diagnóstico dessa moléstia, múltiplos fatores dificultam sobremaneira sua correta avaliação. Papanicolaou já se referia à dificuldade em diagnosticá-la citologicamente, pois as alterações celulares produzidas pelo HPV são freqüentemente confundidas com as observadas na NIC<sup>56</sup>.

A infecção pelo vírus HPV pode ser encontrada em fase latente, fase reprodutiva do vírus ou fase transformante do genoma do hospedeiro. Na fase transformante, encontram-se,

histologicamente, diferentes entidades denominadas neoplasias intra-epiteliais, com características histológicas de hiperchromasia, anisocariose e mitoses atípicas<sup>57</sup>.

A análise morfológica das células cérvico-vaginais pelo método Papanicolaou é amplamente aceita como teste de triagem de neoplasia cervical. Mais recentemente, ela tem sido empregada com frequência para detectar mudanças morfológicas relacionadas à infecção pelo HPV humano<sup>58,59</sup>. A relação causal entre certos tipos de HPV, chamados de alto risco, e o câncer cervical foi estabelecida por vários estudos laboratoriais e epidemiológicos<sup>38,41</sup>.

A infecção latente por HPV é definida quando a replicação viral ocorre apenas em sincronia com o ciclo celular em epitélio escamoso normal e quando os efeitos citopáticos relacionados ao HPV não são detectados citohistologicamente. No sistema Bethesda, as lesões do colo uterino foram divididas em dois grupos: as de baixo grau de malignidade (LSIL) e as de alto grau de malignidade (HSIL), além de um grupo com alterações cuja natureza não é clara e que podem ter várias origens, sendo, portanto, suas conseqüências não definidas e denominadas atipias celulares de significado indeterminado<sup>60</sup>.

Citologicamente, os casos aceitos pelo sistema Bethesda como mudanças coilocíticas necessitam ser totalmente típicos, isto é, o efeito citopático do vírus deve ser expresso em sua forma florida, deixando as trocas sutis de lado, e tipificados como pseudocoilocitose<sup>60</sup>.

A expressão da proteína E4 em células epiteliais escamosas, a qual produz um colapso na matriz citoqueratina, possivelmente leva à cavitação perinuclear típica, que é uma das características da infecção produtiva HPV clínica ou subclínica. Por outro lado, a atipia

nuclear relacionada ao HPV é devida à heteroploidia que aparece como resultado das anormalidades mitóticas fusiformes, que levam à replicação de DNA sem citoquinase. Os resultados dessas interferências no processo mitótico são a formação de células binucleadas e multinucleadas e núcleo atípico maior seguido de heteroploidia<sup>61</sup>.

Ayre (1949)<sup>62</sup> e Papanicolaou (1954)<sup>63</sup> foram os primeiros a documentar as características citomorfológicas que mais tarde estariam associadas à HPV. Koss e Durfee (1956)<sup>64</sup> definiram “atipia coilocítica” como células epiteliais ampliadas, com núcleo hipercromático irregular, rodeadas por espaço claro e transparente, do qual o termo “coilocitose” derivou. A infecção por HPV é dita ter origem na camada basal.

Após a replicação do DNA viral nas células basais proliferativas, o vírus poderia, então, infectar as células epiteliais adjacentes. Embora a morfogênese precisa de lesões associadas à infecção HPV não seja completamente entendida, possíveis efeitos citopáticos e mudanças organizacionais atribuídas ao HPV incluem: cavidade perinuclear, binucleação, queratinização citoplasmática anormal, atipia nuclear e vários graus de degeneração nuclear<sup>65</sup>. O reconhecimento dessas mudanças está subordinado à qualidade das amostras citológicas coletadas, processamento, triagem e interpretação de imagens microscópicas.

O indicativo mais confiável de lesões citomorfológicas relacionadas à HPV tem sido a atipia coilocítica definida por Koss e Durfee (1956)<sup>64</sup> e associada à infecção pelo HPV por Meisels e Fortin (1976)<sup>65</sup>. Contudo, durante a última década, devido à demonstração de sensibilidade relativamente baixa da citologia para identificar essa infecção viral, vários

parâmetros “não clássicos” têm sido sugeridos, resultando em considerável perda de especificidade<sup>66-68</sup>.

Considerado o método mais sensível de detecção de infecções pelo HPV, a reação em cadeia da polimerase (PCR) detecta infecções produtivas tão bem como as não produtivas. Muitas mulheres com amostra positiva de HPV por PCR podem estar num estágio “improdutivo”, o que explica a baixa sensibilidade da citologia cervical<sup>69</sup>.

A interpretação das características citomorfológicas associada à HPV no exame citológico das mulheres na pós-menopausa pode ser mais difícil. Uma vez que o HPV precisa de diferenciação epitelial para completar o ciclo de desenvolvimento, baixos níveis de estrogênio circulando reduzem a maturação das células cervicais escamosas<sup>66,70</sup>.

As mulheres com positividade para HPV-DNA têm risco de desenvolver câncer cervical 15-20 vezes mais alto do que as sem HPV-DNA<sup>71</sup>. As evidências acumuladas moleculares e clínicas não deixaram dúvidas de que o HPV diretamente influencia a patogênese da neoplasia cervical<sup>72</sup>.

Um estudo mostrou que 75,4% das pacientes com citologia anormal eram HPV positivo, uma proporção muito maior do que entre as com citologia normal<sup>73</sup>. Estima-se que 300 milhões de pessoas são infectadas pelo HPV anualmente em todo o mundo<sup>20</sup>. Mais de 100 tipos estão caracterizados até o momento e, destes, o 16 e o 18 são os mais fortemente associados ao câncer invasivo. Os tipos 6 e 11 estão principalmente associados à doença benigna, tal como condiloma acuminado; e os tipos 31, 33, 35 estão associados a risco intermediário de progressão da doença. Acredita-se que a infecção pelo HPV do epitélio

escamoso normal contribui para as mudanças que se manifestam em nível microscópico leve, como NIC grau I. E que, com o tempo, a NIC I pode progredir para NIC II e NIC III e, por fim, para o câncer cervical invasivo. Essas mudanças são caracterizadas por crescente substituição do epitélio diferenciado normal por células displásicas imaturas<sup>74</sup>.

Estudos em outros locais mostraram que, embora a maioria das infecções possa regredir, numa proporção de mulheres ela persiste e aumenta a probabilidade de desenvolver câncer cervical. A infecção do HPV é principalmente um fenômeno transiente, resultando em lesões não cervicais ou levando à LSIL, que geralmente resulta em regressão espontânea<sup>75</sup>.

A persistência da infecção HPV parece ser pré-requisito para o desenvolvimento de NIC III e câncer cervical<sup>76</sup>. Com base em relatórios anteriores, um ou mais tipos de HPV de alto risco está associado a mais de 95% das mulheres com câncer cervical e HSIL, 75% daquelas com LSIL e até 55% daquelas com sigla *Ascus*<sup>77-79</sup>. O estudo de Molano *et al.* (2003)<sup>80</sup> mostra que a depuração da infecção pelo HPV ocorre principalmente dois anos depois do HPV ser detectado, mas raramente depois. Em alguns trabalhos anteriores, como de Moscicki *et al.* (1998)<sup>81</sup>, dois ou mais testes HPV negativos consecutivos eram exigidos antes de a infecção ser considerada depurada.

O HPV 16 é, até o momento, o tipo mais predominante no câncer cervical invasor<sup>82</sup>, embora o HPV 18 seja suspeito de induzir transição mais rápida para a malignidade que o HPV 16<sup>83</sup>. Alguns estudos têm mostrado que a infecção em mulheres idosas pode ser mais persistente do que nas mais jovens<sup>84,85</sup>.

O uso de contraceptivos orais, por sua vez, é um fator de risco de NIC III e câncer cervical<sup>86</sup>. Porém, no estudo de Molano *et al.* (2003)<sup>87</sup>, as infecções pelo HPV foram menos persistentes nas mulheres que tinham uso freqüente de contraceptivos orais do que nas não usuárias. Uma associação consistente está ausente entre o uso de contraceptivos orais e a prevalência de infecção nos estudos transversais<sup>88,89</sup> e entre casos-controle<sup>86</sup>.

Em Mali, um acompanhamento<sup>90</sup> encontrou 96,9% dos cânceres de colo uterino com seqüências de HPV DNA e mais ou menos 60% deles com resposta sorológica para os tipos 16, 18, e 31.

As estimativas da prevalência do HPV variam consideravelmente, como mostrado em uma pesquisa nos Estados Unidos, na qual 39,2% de 3.863 mulheres com idades de 18 a 40 anos atendidas em uma clínica ginecológica de rotina eram HPV positivo<sup>91</sup>.

Outros autores sugerem que a prevalência de HPV em mulheres com exames citológicos considerados normais varia em torno de 5 a 14%, quando se utilizam técnicas de biologia molecular<sup>5,92</sup>.

O conhecimento atual sobre carcinogênese sugere um processo contínuo, de múltiplos passos na evolução das doenças humanas. Em alguns estudos, virtualmente todos os carcinomas celulares escamosos do colo uterino continham seqüências HPV, que é um argumento forte para o papel central da infecção HPV em pacientes com carcinoma cervical. A infecção pelo papilomavírus humano que está associada a uma aparência citopática viral típica (coilocitose, displasia de célula basal de média para moderada) é um

evento freqüente. Entretanto, ela reverte-se em mais ou menos 40 a 70% dos casos sem efeitos em longo prazo<sup>93,94</sup>.

A persistência e integração com o DNA do hospedeiro é favorecida pelos tipos especificados como de alto risco<sup>95,96</sup>.

A infecção viral causa acúmulo consecutivo de mudanças reguladoras (diferenciação citoplasmática atrasada e endoreplicação), fenômeno que progride para atipia celular de alto grau no nível morfológico. No sentido inverso, o acúmulo de mudanças genômicas é representado pela freqüência crescente de células escamosas altamente aneuplóides, que pode indicar lesão cervical progressiva e risco absoluto de câncer<sup>97</sup>.

## 2.1.7 Métodos de diagnóstico

### 2.1.7.1 Citologia

É o método de rastreamento mais barato, no qual apenas as células provenientes das camadas superiores do epitélio são coletadas no esfregaço. A predição citológica da existência da lesão histológica está baseada no tipo e na quantidade de células atípicas detectadas no esfregaço<sup>98</sup>. Várias são as alterações que estabelecem as características do diagnóstico citológico da infecção pelo HPV. A colicitose consiste na presença de grandes vacúolos perinucleares, a disceratose é a queratinização imperfeita de células epidérmicas isoladas e a discariose é uma anomalia nuclear, como hipercromatismo, irregularidades da forma e aumento do número de núcleos por célula, sem aumento

apreciável do citoplasma ou do contorno celular. A citologia cérvico-vaginal de Papanicolaou possui, como qualquer outro método diagnóstico, limitações. Suas falhas podem ser conseqüentes à incapacidade de se obterem células provenientes das lesões neoplásicas (erro na amostragem); transferência, aplicação e fixação inadequada do material para o esfregaço; e falha no reconhecimento de alterações celulares (erro de leitura). O índice de falso-negativos citológicos pode chegar a mais de 50%.

Lesões localizadas na porção alta no canal, aderência célula-célula por desmossomos e barreira de superfície composta de queratina que impede a descamação de células alteradas são fatores que interferem na amostragem citológica<sup>99</sup>.

#### 2.1.7.2 Histopatologia

O diagnóstico histopatológico da infecção pelo HPV é de suma importância, pois nele se baseia a maioria das decisões terapêuticas até o momento. Além de auxiliar no diagnóstico de infecções pelo HPV, a histopatologia é capaz de graduar as lesões, orientando sobre sua capacidade de evolução para neoplasia<sup>100</sup>.

#### 2.1.7.3 Biologia molecular

Os métodos utilizados para a detecção do material genético de HPV são essencialmente de dois tipos: baseados em hibridização direta do DNA ou RNA viral presente nos espécimes ou baseados na amplificação *in vitro* desses genomas, seguida de sua identificação tipo-

específica, frequentemente por hibridização ou mapeamento por digestão do DNA viral por enzimas de restrição. A hibridização consiste na formação de fitas duplas (híbridos) entre fitas de DNA ou RNA que ocorre devido à complementaridade das seqüências de nucleotídeos. A estabilidade do híbrido formado pode ser modulada não só pela natureza e comprimento das seqüências, mas também pela temperatura da reação e concentração salina da solução de hibridização. Esses parâmetros, entre outros, definem o rigor da reação, fator determinante da especificidade e sensibilidade dos ensaios<sup>101,102</sup>.

Em 1989, tornou-se disponível uma metodologia que emprega a hibridização em solução, conhecida por captura de híbridos (*Hybrid Capture, Digene Corporation*). A sensibilidade analítica dessa técnica é alta, sendo capaz de detectar 18 diferentes tipos de HPV presentes no espécime. Esse teste está comercialmente disponível e tem sido empregado em diversos estudos epidemiológicos<sup>42</sup>.

Os métodos baseados em PCR são comumente empregados para a detecção de DNA de HPV. Essa reação utiliza um DNA polimerase, enzima responsável pela replicação do DNA, além de uma molécula de DNA simples fita - como molde para a síntese de uma nova fita complementar - e de pequenos segmentos de DNA também simples fita conhecidos como iniciadores. A replicação do DNA *in vitro* inicia-se com a desnaturação do DNA molde, ou seja, a separação da dupla fita, o que pode ser obtido por aquecimento. Segue-se a medição dos iniciadores com o DNA molde para que, a partir desses pequenos segmentos de DNA dupla fita recém-formados se processe a formação da nova molécula de DNA. Assim, na reação de PCR direciona-se o DNA polimerase para que ela sintetize uma região específica do DNA molde de interesse. A reação é repetida de forma cíclica,

geralmente de 25 a 40 vezes. O produto final consiste, então, de cópias fiéis da região específica do DNA molde que foi flanqueado pelos iniciadores<sup>103</sup>.

## 2.2 Vírus da imunodeficiência humana (HIV)

### 2.2.1 Epidemiologia

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) pode, hoje, após mais de 20 anos de sua identificação, ser considerada a maior pandemia do século XX, com cerca de 46 milhões de pessoas infectadas no mundo. Deste contingente de infectados, 50% são mulheres. Esse número é 50% superior à projeção feita em 1991 pelo Programa Mundial contra a AIDS, da Organização Mundial de Saúde (OMS), para o final da última década do século passado<sup>104</sup>.

No Brasil, desde a identificação do primeiro caso de AIDS, em 1980, já foram identificados cerca de 600.000 casos da doença. O país acumulou cerca de 183.000 óbitos até dezembro de 2005, sendo as taxas de mortalidade crescentes até meados da década de 1990, estabilizando-se em cerca de 11.000 óbitos anuais desde 1998<sup>105</sup>.

### 2.2.2 Diagnóstico

O diagnóstico da infecção pelo HIV é feito pela sorologia, o teste anti-HIV, que mede a presença dos anticorpos anti-HIV contra os principais antígenos virais (antip24, antigp41,

antigp120). A maioria dos indivíduos recém-infectados apresenta positividade sorológica anti-HIV após 6-12 semanas do contágio e quase todos (95% dos casos) após seis meses. Esses primeiros 3-6 meses da infecção, nos quais o paciente já pode transmitir o vírus, mas a sua sorologia ainda é negativa, constituem o que se chama *janela imunológica*<sup>106</sup>.

O exame sorológico de triagem é o *enzyme-linked immunoabsorbent assay* (ELISA) anti-HIV, cuja sensibilidade extremamente alta (>99%) associada ao seu baixo custo faz com que seja considerado o teste de triagem de escolha para a infecção pelo HIV. Apesar de alta sensibilidade, tem especificidade limitada, verificando-se número considerável de falso-positivos. Isto ocorre pela reação cruzada de outros anticorpos antivirais ou mesmo auto-anticorpos com os antígenos do HIV. Portanto, esse teste não pode se propor à confirmação diagnóstica. Em grupos de baixo risco, como os doadores de sangue, a positividade do ELISA significa resultado falso-positivo em 90% dos casos, ou seja, apenas 10% desses pacientes realmente estão com a infecção pelo HIV<sup>105</sup>.

Os testes confirmatórios são:

- Imunofluorescência indireta
- *Western-Blot*

O *Western-Blot* é considerado o melhor teste confirmatório para a infecção pelo HIV (especificidade muito alta, em torno de 99.7%), embora seja o mais oneroso. Sua sensibilidade também é alta (>99%)<sup>105</sup>.

### 2.3 Co-infecção HIV e HPV

Pelo menos 50% das infecções pelo HIV acometem mulheres, sendo que em alguns países africanos a proporção de mulheres atingidas é de 60% em relação aos homens. A infecção pelo HIV entre as mulheres incide principalmente entre a população sexualmente ativa, o que estabelece margem para a co-infecção com o HPV. Estudo como o *Women's Interagency HIV Study (WIHS)*, que analisou 2.015 mulheres HIV positivo e 577 controles negativos pareados, demonstrou incidência de 58% de mulheres co-infectadas comparadas com 26% de mulheres HPV positivo entre as soronegativas para HIV. Paralelamente, dados advindos dessa pesquisa revelaram que nas pacientes soropositivas para HIV ocorre aumento da prevalência de infecção pelo HPV em mulheres com mais imunodeficiência, bem como mais incidência dos tipos 16 e 18, de maior poder oncogênico<sup>107</sup>.

Estudos em nosso meio também descrevem a alta incidência de associação de HPV em mulheres soropositivas ao HIV. Levi *et al.* (2004)<sup>108</sup>, analisando 208 mulheres infectadas pelo HIV, verificaram, por análise de PCR, que virtualmente todas eram soropositivas para HPV (98%), com 80% delas infectadas por múltiplos genótipos de HPV (média de 3,1 genótipos por paciente) e 90% apresentavam citologia inflamatória.

Maiman *et al.* (1998)<sup>109</sup>, utilizando a PCR para HPV em lavados cervicais de 253 mulheres HIV positivo e 220 HIV negativo, encontraram prevalência de HPV de 75,1% entre as soropositivas e de 46,7% entre as soronegativas ( $p < 0.0001$ ).

Pesquisando a prevalência de HPV por meio da PCR em 41 mulheres HIV positivo e 38 HIV negativo, Campos *et al.* (2005)<sup>98</sup> encontraram prevalência de 73% no primeiro grupo e de 24% no segundo.

Além de maior incidência, a persistência da infecção é significativamente maior entre as pacientes HIV positivo quando comparadas com mulheres não infectadas pelo HIV<sup>110</sup>.

Paralelamente, a prevalência de genótipos de HPV relacionados a verrugas genitais é quatro a cinco vezes maior entre as pacientes HIV positivo e as próprias lesões verrugosas ocorrem três vezes mais nesse grupo de mulheres<sup>110</sup>.

O risco de neoplasia intra-epitelial anal em homens e mulheres HIV positivo, além das alterações clínicas citadas, é 37 e sete vezes, respectivamente, maior que na população em geral<sup>58</sup>.

Ressalta-se que a evidência de associação dessas duas viroses foi ratificada já a partir de 1993, quando o próprio Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos incluiu a neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) entre as condições definidoras de doença na categoria B<sup>108</sup>.

A infecção genital pelo papilomavírus é das doenças mais comuns sexualmente transmitidas e sua prevalência em mulheres jovens abrange 20 a 46% em vários países<sup>54</sup>. O efeito dessa infecção na saúde pública é composto das relações causais conhecidas sobre a infecção HPV e a displasia cervical e câncer cervical<sup>75,111</sup>.

A infecção pelo HPV exerce importante função causal na neoplasia intra-epitelial cervical e carcinoma. O índice de infecção pelo papilomavírus humano, assim como a incidência de neoplasia cervical intra-epitelial estão aumentados em pacientes imunodeprimidos. Observações históricas têm levado ao reconhecimento de vários fatores epidemiológicos

importantes que parecem exercer uma função na etiologia do carcinoma celular escamoso do colo. O padrão de ocorrência é idêntico a uma doença venérea e o diagnóstico da neoplasia intra-epitelial é freqüentemente feito baseado em amostras cervicais de mulheres com parceiros sexuais múltiplos<sup>112</sup>.

Alta prevalência de NIC em mulheres com vírus da imunodeficiência humana está bem documentada. De todo modo, pouco se sabe sobre a patogênese da doença cervical em mulheres HIV positivo<sup>1,2</sup>. Porém, não é bem conhecido se a soropositividade pelo HIV aumenta a susceptibilidade do paciente para a infecção pelo HPV anogenital independentemente dos fatores de risco epidemiológicos padrões para a infecção HPV ou se altera as associações preferenciais entre os tipos específicos de HPV e a doença cervical que foi documentada na população e geral<sup>3</sup>.

A displasia cervical e lesões intra-epiteliais escamosas (SIL) estão associadas à infecção HPV<sup>113</sup> e parecem ocorrer mais freqüentemente entre as mulheres HIV positivo do que entre as que são HIV negativo<sup>114-116</sup>. As mulheres HIV positivo têm índices mais altos de infecção com HPV e prevalência de displasia cervical maior do que as não infectadas. As infectadas também têm índices bem mais altos de infecção com tipos oncogênicos e são freqüentemente infectadas com tipos múltiplos de HPV<sup>117</sup>. Aproximadamente 80% das infecções HPV são transitórias e assintomáticas<sup>77,118,119</sup>.

Essas infecções não produzem anormalidades epiteliais. Somente 20% das infecções pelo HPV de alto risco causam mudanças morfológicas no epitélio do colo sem intervenção<sup>120,121</sup>. A imunossupressão na pessoa HIV positivo tem importante papel em modular a história natural da infecção HPV<sup>122</sup>.

Estudos anteriores em outros lugares relataram prevalência de tipos HPV oncogênicos nas pacientes HIV positivo variando de 14 a 93%<sup>123-125</sup>. As anormalidades dos esfregaços de Papanicolaou foram observadas em 19% das mulheres infectadas pelo HIV, comparecendo nas clínicas de doenças sexualmente transmitidas em Pune, Índia<sup>126</sup>, comparadas com 6,3% no estudo de Joshi *et al.* (2005)<sup>127</sup>.

Uma série de investigações tem relatado que a infecção pelo HIV em mulheres está associada ao crescente risco de HPV e à malignidade do tumor cervical. Entretanto, ainda deve ser determinado se a alta frequência de SIL em mulheres HIV positivo é devida ao aumento da prevalência do HPV ou, ao contrário, ao realce da capacidade oncogênica do HPV por meio de mecanismo HIV induzido<sup>128</sup>.

Foi relatado que o risco de SIL está diretamente correlacionado à quantidade de HPV-DNA no trato cervical de mulheres<sup>129</sup>. Assim, uma hipótese é que a soropositividade para o HIV aumenta o risco de SIL, realçando a replicação HPV.

Os dados do trabalho de Capiello *et al.*<sup>128</sup> parecem estar consistentes com a hipótese de que a infecção induz progressão do tumor, realçando o nível de transformação das células cervicais infectadas pelo HPV, embora os mecanismos pelos quais o HIV induz à progressão do tumor HPV relacionado ainda sejam desconhecidos. A rápida evolução de SIL cervical em mulheres HIV positivo poderia também ser pelo aumento no número de células infectadas pelo vírus, seguido à diminuição da imunovigilância nessas pessoas.

O DNA do papilomavírus humano de qualquer tipo foi detectado significativamente mais freqüente em mulheres HIV soropositivo comparado com mulheres soronegativas e há

forte associação entre a doença cervical e infecção HPV nas soropositivas<sup>3</sup>. Infecções por tipos múltiplos de HPV ocorrem freqüentemente nas mulheres soropositivas para o HIV e alguns estudos documentaram alta prevalência nas mulheres soropositivas para o HIV comparado com o grupo-controle HIV negativo<sup>116,130</sup>. A soropositividade para o HIV possui complexo efeito promocional sobre o desenvolvimento da doença cervical, que se estende além da facilitação da aquisição de nova infecção e que inclui a promoção de transição da infecção HPV latente para uma infecção associada à NIC<sup>3</sup>. Estudos em outros países mostram que embora a maioria das infecções tenha probabilidade de regressão, numa proporção de mulheres a infecção persiste e aumenta a probabilidade de desenvolver câncer cervical<sup>131</sup>. A contribuição da infecção pelo HPV no desenvolvimento do câncer cervical está estabelecida e a detecção do HPV-DNA tem se mostrado ser o fator de risco mais forte para o câncer cervical no mundo todo<sup>132</sup>.

Há muito tempo se reconhece que as mulheres imunodeprimidas apresentam mais alto risco de malignidade ginecológica<sup>133</sup>, uma vez que a infecção HIV induz alterações profundas na resposta imune. Atenção recente tem focado se ela influencia a patogênese da doença cervical associada ao HPV. Contudo, questões chaves permanecem sem resposta em relação à freqüência e curso clínico da infecção pelo HPV em mulheres HIV positivo e os mecanismos de interação entre esses dois vírus.

Estudos transversais e relato de casos focando principalmente mulheres HIV positivo sintomáticas têm indicado que a prevalência da infecção HPV e de anormalidades epiteliais HPV induzido é mais alta em mulheres HIV positivo do que nas soronegativas. Tal associação não é totalmente inesperada, uma vez que ambos, HIV e HPV, são doenças sexualmente transmitidas<sup>114,130,134</sup>.

O risco absoluto das mulheres HIV positivo desenvolverem anormalidades cervicais permanece incerto. Alguns estudos relatam que o risco de SIL em mulheres HIV positivo correlaciona-se com o grau de imunossupressão<sup>115,135</sup>, enquanto outros descobrem que a gravidade da neoplasia cervical não difere em mulheres infectadas pelo HIV assintomáticas e mulheres com AIDS<sup>136</sup>.

Não está claro ainda como a imunossupressão induzida pelo HIV contribui para a suscetibilidade à infecção HPV e ao desenvolvimento da doença cervical. Contudo, muitos autores apóiam a opinião de que a função linfocitária afetada aumenta a atividade HPV latente ou subclínica, talvez resultando num índice mais alto de infecção persistente<sup>137</sup>.

Vários relatos indicam que a doença cervical é mais rapidamente progressiva, mais recalcitrante ao tratamento e mais possível de repetir-se em mulheres infectadas pelo HIV<sup>130,138</sup>.

Mecanismos possíveis para a progressão rápida poderiam envolver expressão crônica ativa de proteínas HPV devido à imunossupressão induzida HIV ou interação direta em níveis moleculares entre proteínas virais. Um melhor entendimento da relação entre infecção HIV e HPV e doença do trato genital em mulheres exige informações mais detalhadas sobre os eventos iniciais durante a infecção pelo HIV. Uma pergunta importante é se o HIV estabelece uma infecção principal nas células cervicais durante a transmissão heterossexual ou se o vírus é diretamente introduzido no sistema vascular através de abrasões nas superfícies da mucosa do trato genital<sup>138</sup>. Tais estudos têm sido dificultados pela falta de técnicas altamente sensíveis e específicas para identificar os tipos de células no trato genital feminino que alojam HIV. A infecção HIV pode influenciar a patogênese da doença

cervical HPV, associada ou diretamente por meio de interações moleculares entre os genes virais ou indiretamente, pelos efeitos de funcionamento imune dos indivíduos infectados HIV.

Estudos em pacientes de transplante renal têm estabelecido imunidade danificada como um fator chave no desenvolvimento do HPV associado à doença cervical<sup>139</sup>. A importância relativa das alterações sistêmicas ou a resposta imune local à infecção pelo HPV em mulheres HIV positivo não é, entretanto, entendida.

Uma vez que o HPV não se dissemina, a resposta local imune é provavelmente um ponto de controle chave na regulação da infecção ativa e progressão para lesões pré-cancerosas. Forte apoio para a importância da resposta imune local no controle da infecção HPV vem do trabalho de Spinillo *et al.* (1993)<sup>140</sup>, que descobriram que as contagens de células Langerhans estavam muito diminuídas nas biópsias cervicais de pacientes HIV positivo comparadas com os controles soronegativos combinados com classificação de neoplasia intra-epitelial, idade e hábito de fumar. A depleção dessas importantes células apresentadoras de antígenos pode permitir o escape de células HPV positivo pré-cancerosas da vigilância imunológica.

Os fatores de risco de infecção HPV persistente são: idade mais avançada, infecções com tipos múltiplos de HPV e com tipo de alto risco em exame anterior. Vários estudos de prevalência de HPV têm concluído que é principalmente uma infecção transiente<sup>85,141,142</sup>. O papel etiológico dos tipos de HPV de alto risco, assim como o pico de incidência do câncer cervical nas mulheres com mais de 40 anos podem ser explicados pela longa duração da infecção em mulheres mais idosas infectadas com tipos de alto risco<sup>143</sup>.

A infecção persistente, por sua vez, pode aumentar o risco de desenvolvimento e persistência de lesões intra-epiteliais escamosas<sup>75</sup>.

A associação entre infecção persistente e os tipos múltiplos de HPV sugere que as mulheres que possuem tipos múltiplos podem ter certas características, isto é, resposta imunodeficiente ao HPV, que as predispõem à infecção persistente<sup>117</sup>. De fato, as imunossuprimidas pela infecção com o HIV têm risco elevado de infecção com tipos múltiplos de HPV<sup>144</sup>.

O HPV DNA é duas a três vezes mais freqüente em espécimes de lavagem cervical e quase 15 vezes mais comum em espécimes de lavagem anal de mulheres HIV positivo na comparação com as soronegativas<sup>145</sup>. Além do mais, as mulheres HIV positivo têm em torno de cinco vezes mais probabilidades de terem lesões intra-epiteliais escamosas, condiloma acuminado e neoplasia anal<sup>146</sup>.

A infecção persistente por certos tipos de HPV, como 16, 18, 31, 35, e 45, é vista como necessária ao desenvolvimento de lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau e câncer cervical<sup>147</sup>.

Essa associação envolve infecções de todos os tipos do HPV, assim como infecções com tipos múltiplos de HPV, incluindo aqueles associados à neoplasia, como o 16 e o 18. As alterações associadas ao HIV na história natural da infecção por esse vírus pode também influenciar o risco de doenças associadas a ele em mulheres soropositivas. Poucas pesquisas determinaram a prevalência cumulativa de infecções HPV anogenital em mulheres na população em geral. Em estudo de mulheres predominantemente brancas, de

classe média, com descobertas citológicas cervicais normais, 26% tinham HPV nos esfregaços cervicais detectado por PCR na primeira visita<sup>85</sup>.

De forma similar, estudo populacional de 276 mulheres jovens na Suécia descreveu HPV-DNA em 21% das mulheres na visita inicial, pelo método PCR<sup>141</sup>. A infecção persistente com tipos de alto risco parece ter função central no desenvolvimento das lesões intra-epiteliais escamosas e câncer cervical invasor.

Num grupo de mulheres com descobertas citológicas cervicais anormais<sup>75</sup>, descobriu-se que a infecção persistente com tipos específicos de HPV resultou em displasia cervical crônica.

De todo modo, pouco se sabe sobre a persistência de infecção pelo HPV ou sobre a relação entre a infecção persistente e o desenvolvimento de lesões intra-epiteliais escamosas nas mulheres HIV positivo.

A alta frequência de infecção HPV persistente em mulheres HIV positivo comparada às mulheres HIV negativo pode explicar o porquê das lesões intra-epiteliais escamosas ocorrerem tão frequentemente nas HIV positivo<sup>145</sup>.

## 2.4 Citologia

A palavra citologia vem do grego *kitos*, que significa célula, e de *logos*, que significa estudo. Na citologia estudam-se as estruturas celulares citoplasmáticas e nucleares. O

crédito em nível mundial pelo desenvolvimento do método citológico para diagnóstico de carcinoma cervical é dado a George Papanicolaou. Em 1928, ele verificou que células malignas do colo uterino podiam ser identificadas em esfregaços vaginais. Pouco depois, em associação com Traut, Papanicolaou colheu amostras que resultaram em descrições detalhadas sobre lesões pré-invasivas. Assim, desde que Papanicolaou lançou, no final da década de 40, as bases de diagnóstico de malignidade por meio da citologia esfoliativa, o surto de progresso no combate ao câncer atingiu valores imensuráveis no mundo inteiro<sup>148</sup>. A *American Cancer Society* só admitiu o método como teste efetivo na detecção do câncer cervical em 1945 e, a partir daí, pôde ser observada significativa queda nas taxas de carcinoma cervical nos países em que o teste foi implantado, embora não haja evidências de que a doença tenha sido totalmente erradicada<sup>4</sup>.

#### 2.4.1 Citopatologia cervical

##### 2.4.1.1 Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico citológico de papilomavírus humano

Existe, atualmente, grande preocupação com a melhoria no diagnóstico citológico de HPV por meio da introdução de critérios não-clássicos para o seu diagnóstico, tendo em vista a elevada frequência da infecção viral, bem como o seu potencial carcinogênico. Foi comprovado que um fator relevante na gênese do carcinoma cervical está localizado principalmente no genótipo do HPV, favorecido pelos hábitos sexuais da população de risco, que pode gerar infecções concomitantes com possível potencial carcinogênico<sup>149,150</sup>.

As lesões oriundas de infecção pelo HPV provocam, geralmente, alterações morfológicas características, detectáveis em citologia de raspados cérvico-vaginais e biópsias. Com isso, são de suma importância os exames rotineiros de detecção precoce de câncer a partir de esfregaços corados pelo método de Papanicolaou<sup>151</sup>. Atualmente, há muita preocupação em torno da detecção precoce dessa infecção e também com a melhoria do diagnóstico citológico, pois em países em desenvolvimento a triagem citológica vem falhando em promover a redução na incidência de câncer cervical, sendo uma das causas a limitação de sensibilidade do método<sup>4,152</sup>. Com isto, tem-se estudado a introdução de novos critérios morfológicos, denominados não-clássicos ou secundários, para o diagnóstico de HPV. O objetivo principal é, associado aos clássicos critérios morfológicos, ampliar a sensibilidade do método, aproximando-se da obtida em amostra histopatológica e dos métodos diagnósticos mais sensíveis e específicos, tais como a detecção do DNA viral por captura híbrida ou reação em cadeia da polimerase (PCR)<sup>153</sup>.

Dada a importância da citologia no rastreamento populacional de HPV, a maximização da eficiência morfológica é fundamental para atender às expectativas dos controles periódicos para a prevenção e detecção do HPV, dos cânceres de colo uterino e suas lesões precursoras<sup>154</sup>. As classificações utilizadas para diagnóstico colpocitológico são a de Richart (1967) e o sistema Bethesda para citodiagnóstico (1989 e revisado em 1991).

#### 2.4.2 Critérios clássicos para o diagnóstico citológico do HPV

**Coilocitose:** alteração em células escamosas intermediárias maduras contendo um, dois ou mais núcleos discarióticos. Ocorre grande cavidade ou área clara que circunda o núcleo

proeminente, com bordas bem definidas; e a zona periférica amíúde apresenta-se em borrão.

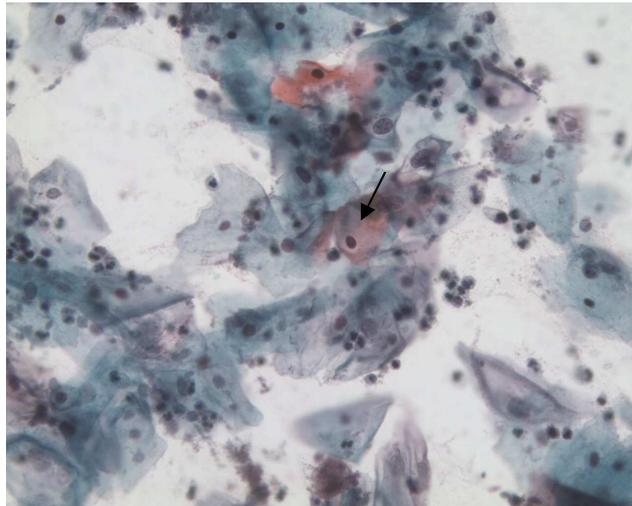
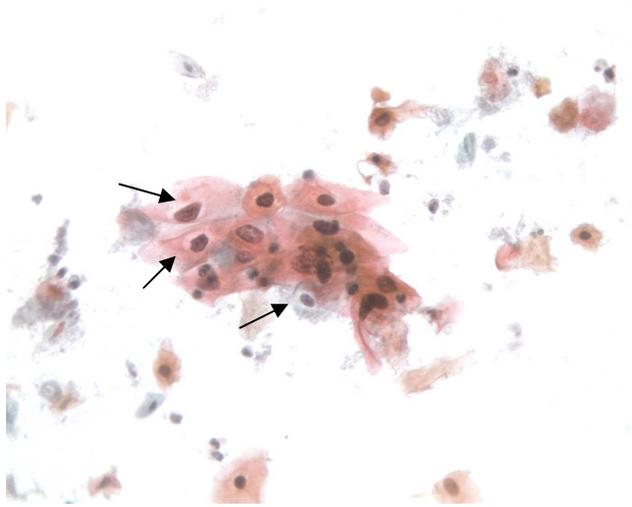


FIGURA 1 – Coilocitose.

Fonte: Dra. Lúcia Porto.

**Disceratose:** células espalhadas ou em grupos tridimensionais que demonstram pleomorfismo celular (formas caudadas ou alongadas) e/ou aumento de tamanho e atipia nuclear<sup>64,78,154,155</sup>.

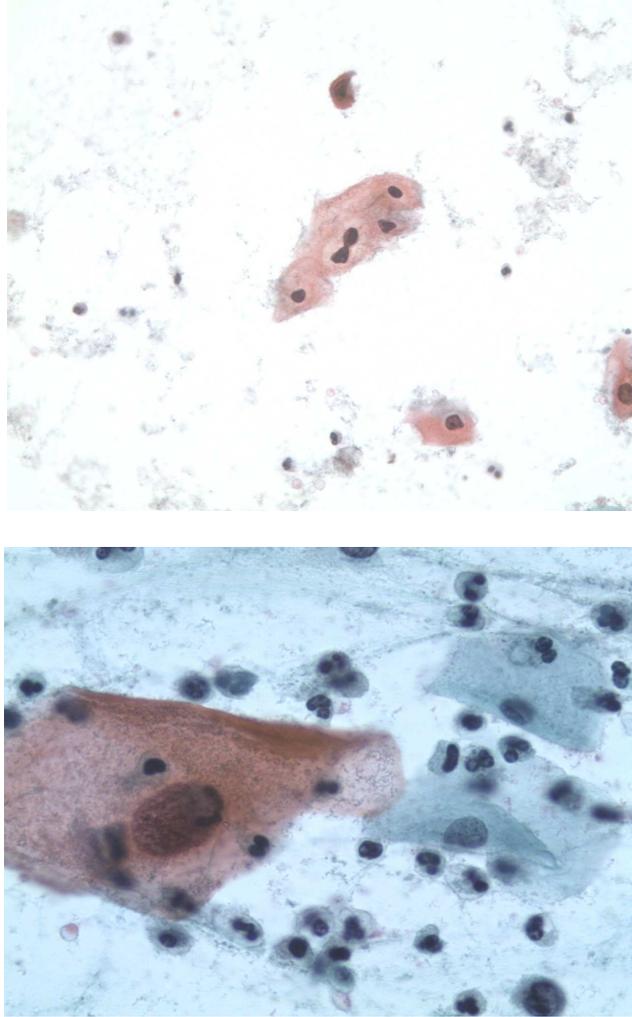


FIGURA 2 – Disqueratose.

Fonte: Dra. Lúcia Porto.

#### 2.4.3 Critérios não-clássicos para o diagnóstico citológico do HPV

- Bi ou multinucleação<sup>156</sup>

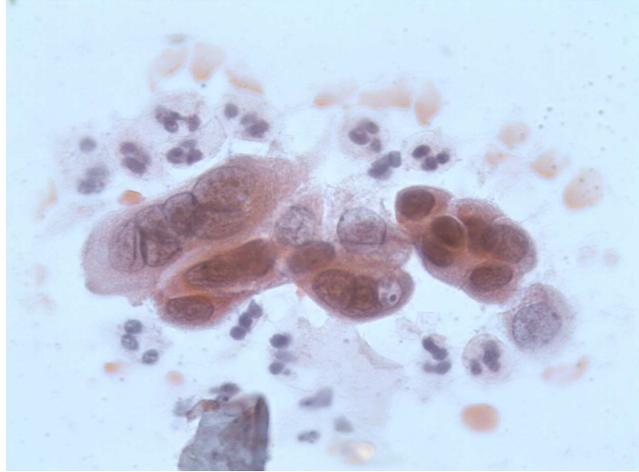


FIGURA 3 – Bi ou multinucleação.

**Cariorrexe:** trata-se da cromatina condensada periféricamente, que permanece como massas agregadas depois do desaparecimento da borda ou limite nuclear<sup>157</sup>.

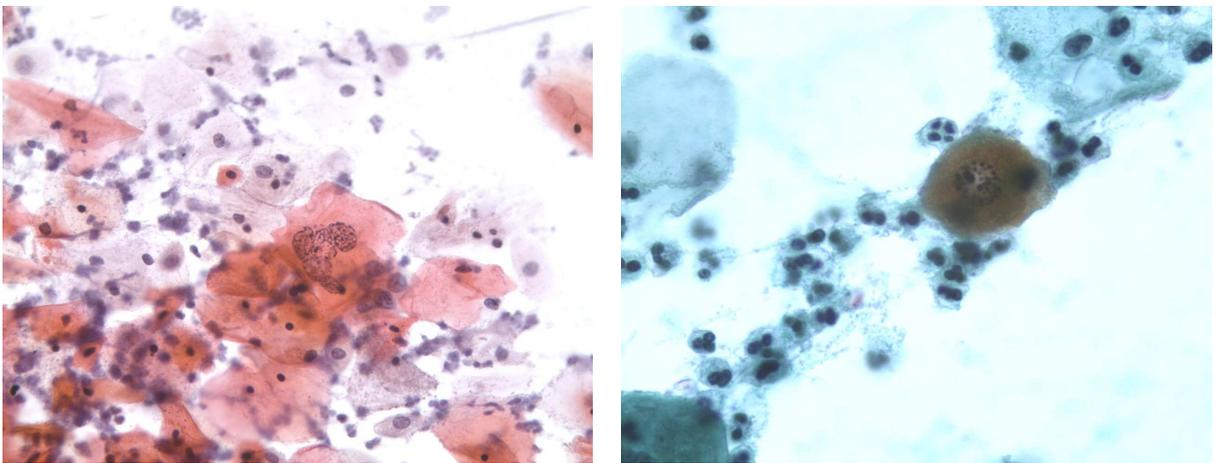


FIGURA 4 – Cariorrexe.

**Células fantasmas:** são células com clareamento citoplasmático, que têm uma evidente falta de substâncias citoplasmáticas não coradas, entre o núcleo e a borda celular<sup>156</sup>.

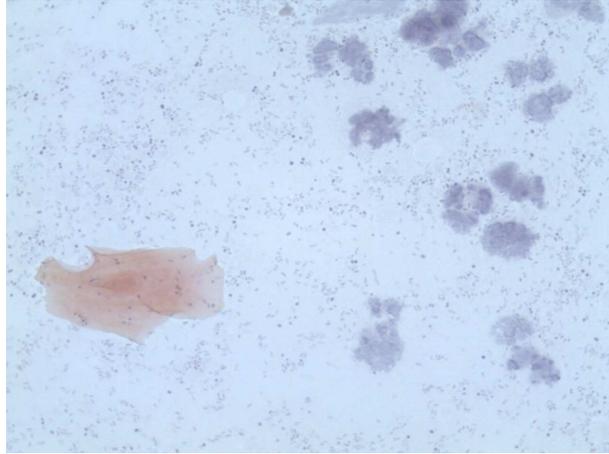


FIGURA 5 – Células fantasmas.

**Célula em fibra:** o citoplasma é alongado como uma fibra. Representa a forma mais pronunciada da disqueratose e é diferenciada das células similares encontradas no carcinoma escamoso queratinizante pelo padrão regular da cromatina<sup>156</sup>.

**Células gigantes:** apresentam alterações como binucleação, multinucleação, macronucleose e macrocitose, circundadas por halo com borda concêntrica que aparentemente separa esses núcleos do citoplasma<sup>158</sup>.

**Células parabasais coilocitóticas:** são pequenas, contendo núcleo maior, fortemente corado e irregular. O citoplasma é anfófilico ou cianofílico e às vezes mostra área clara na proximidade do núcleo<sup>159</sup>.

**Condensação de filamentos:** o citoplasma é visto com fissuras ou com aspecto de vidro quebrado e com coloração fraca<sup>156</sup>.

**Escamas anucleadas:** trata-se de células escamosas com citoplasma queratinizado e ausência de núcleo<sup>160</sup>.



FIGURA 6 – Escamas anucleadas.

**Grânulos cerato-hialinos:** são condensações de coloração basofílicas ou eosinofílicas. Frequentemente as células são anucleadas e, às vezes, todas as substâncias citoplasmáticas estão condensadas em grânulos, formando célula em aspecto de “sarampo”<sup>156</sup>.

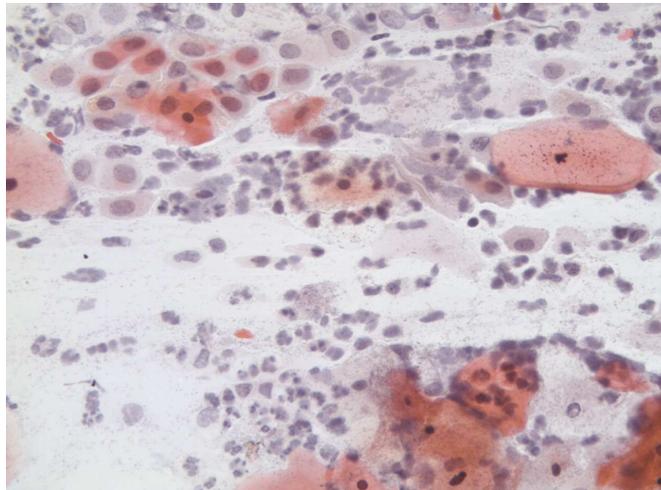


FIGURA 7 – Grânulos cerato-hialinos.

**Halo perinuclear:** apresenta-se como uma área nítida em volta do núcleo, formando um halo. O núcleo frequentemente perde detalhes do envelope nuclear e a cromatina pode estar agrupada irregularmente<sup>159</sup>.

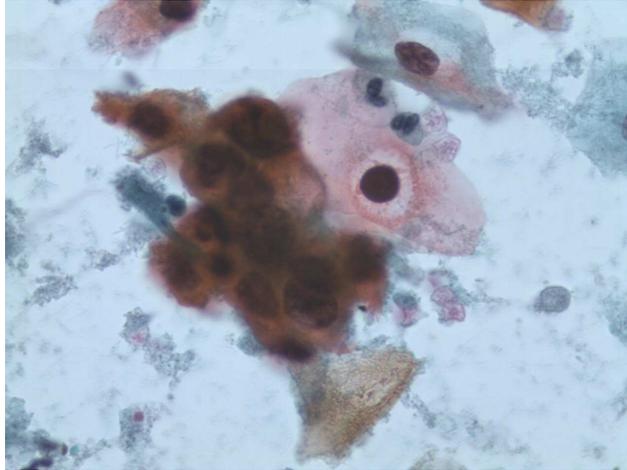


FIGURA 8 – Halo perinuclear.

**Núcleo em borrão:** células com citoplasma orangeofílico, às vezes apresentando núcleo aumentado, irregular, hipercromático, podendo ser único ou duplo. A cromatina, na maioria das vezes, aparece em borrão<sup>159</sup>.

**Núcleo em fibra:** consiste em uma distorção do contorno nuclear a partir da configuração arredondada normal ou ovalada do núcleo. A acromatina aparece grumosa e no citoplasma pode ocorrer clareamento perinuclear com numerosos tonofilamentos<sup>161</sup>.

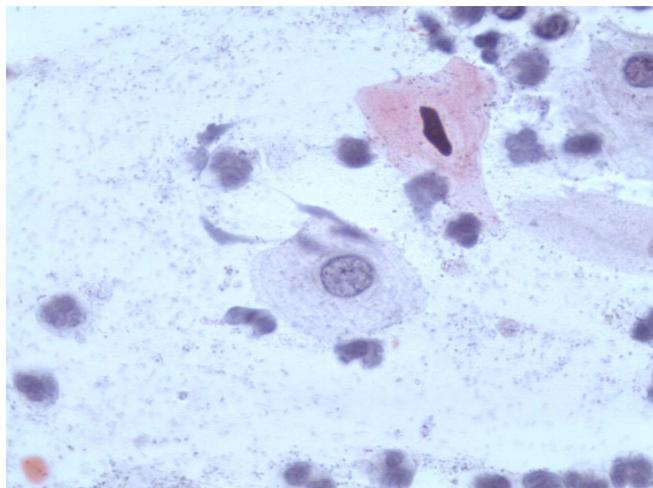


FIGURA 9 – Núcleo em fibra.

**Núcleo hiperchromático:** representado pelo hiperchromatismo nuclear e ausência de irregularidades tanto na cromatina como na membrana nuclear<sup>156</sup>.

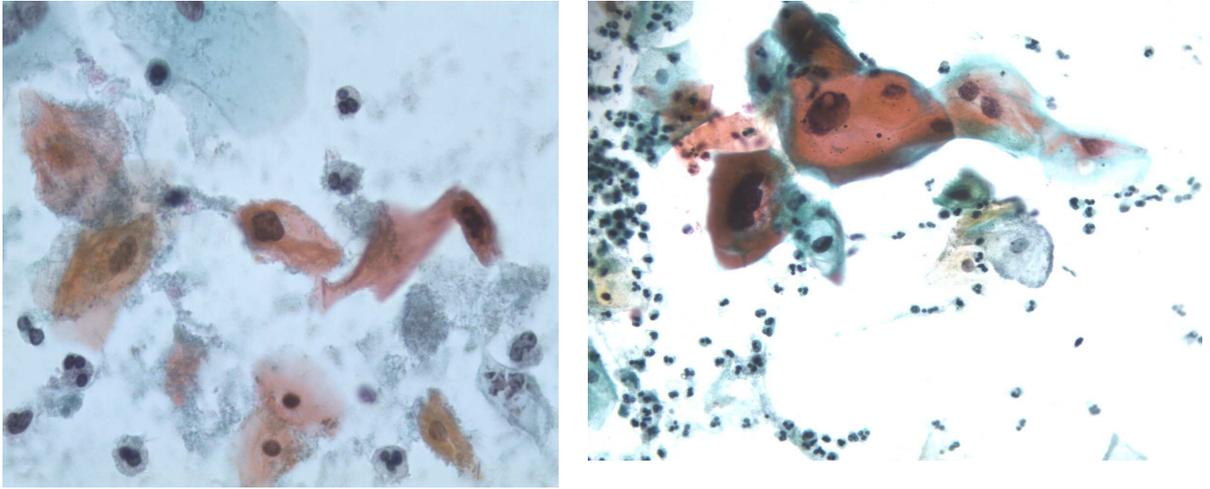


FIGURA 10 – Núcleo hiperchromático.

O diagnóstico citológico tem-se mostrado prático para a triagem do câncer de colo uterino de grandes populações devido à sua simplicidade, reprodutibilidade, precisão e baixo custo, sendo que desde a implantação na saúde pública como método de triagem e detecção precoce de neoplasias cérvico-uterinas, a frequência de morbidade e de mortalidade decorrentes desses cânceres foi reduzida significativamente, como pode ser comprovado em países desenvolvidos<sup>162</sup>.

Porém, o aprimoramento no diagnóstico citológico de infecção cervical por HPV é de grande importância, principalmente devido ao potencial oncogênico que apresentam alguns genótipos de HPV e pela crescente incidência desse agente<sup>157,163,164</sup>.

Apesar de a literatura ser unânime em apresentar a coilocitose como critério patognomônico para o diagnóstico de HPV e sugerir que ela exprime a atividade viral,

muitos autores<sup>154</sup> destacam que este não é o critério mais freqüentemente encontrado nos esfregaços citológicos<sup>4,156,165,166</sup>. Brown e Fife (1990)<sup>167</sup>, por exemplo, citam que muitos tecidos infectados, particularmente aqueles com infecção latente, não mostram células coilocitóticas.

Cavaliere *et al.* (1990)<sup>150</sup> descrevem que o achado de quatro ou mais critérios não-clássicos é suficiente para concluir infecção do HPV. Collaço e Pinto (1994)<sup>153</sup> preconizam que para confirmar o HPV existe a necessidade de pelo menos dois critérios, devendo um deles ser clássico. Korobowicz *et al.*<sup>168</sup> relatam que quando observados mais de três critérios não-clássicos, pode ser verificada a existência do vírus<sup>154</sup>.

Como a citologia é um método que se baseia nas alterações celulares usualmente associadas à infecção por HPV, às vezes não suficientemente específicas para esse agente, casos de infecção viral podem não diferir morfológicamente de reações não-específicas ou alterações inflamatórias<sup>78,152,153</sup>. Deve-se, com isso, conhecer que um número razoável de casos previamente selecionados, como os inflamatórios, pode ser considerado aplicando-se os critérios não-clássicos, como infecção subclínica ou latente por HPV, conforme dados da literatura<sup>148,150</sup>. No trabalho de Jordão *et al.* (2003)<sup>154</sup>, 10 (25%) dos 40 casos classificados inicialmente como inflamatórios demonstraram critérios principalmente não-clássicos de HPV, suficientes para sugerir o diagnóstico desse vírus. Considerando que os médicos haviam pedido o exame de captura híbrida nesses 40 casos, provavelmente havia suspeita clínica prévia de infecção por HPV e, portanto, esses 10 casos sugestivos de HPV na segunda leitura representam possivelmente a variedade subclínica da infecção viral. Vince *et al.* (2001)<sup>152</sup> detectaram o DNA em 25% dos casos diagnosticados pela citologia como alterações reativas, coincidindo com o trabalho de Jordão *et al.* (2003)<sup>154</sup>.

Mesmo introduzindo os critérios não-clássicos, a elevação diagnóstica pela citologia em infecções subclínicas não é muito representativa. A citologia possui sucesso diagnóstico principalmente nas lesões clinicamente aparentes, conforme o confirmado por Suzuki (2000)<sup>164</sup>.

O citologista deve basear-se em todos os critérios citológicos sugestivos de infecção pelo HPV, como propuseram Meisels e Fortin (1976)<sup>65</sup>, e não só no achado de coilocitose. Morse *et al.* (1988)<sup>169</sup>, comparando hibridização molecular com citologia, verificaram que quando se usa somente a coilocitose como critério citológico, a concordância com a citologia é de 48%; quando, no entanto, esse critério é ampliado (disqueratose, discariose, coilocitose mínima, binucleação ou multinucleação), a concordância se faz em 75% das vezes. Outro ponto de destaque é a obtenção de material das paredes vaginais. Tal procedimento, por abranger maior área de descamação, possibilita mais quantidade de células e, com isso, menos resultados falso-negativos<sup>56</sup>.

Este fato é bastante preocupante, uma vez que pacientes portadoras desse vírus, principalmente de alto potencial carcinogênico, independentemente de estarem em estado clínico, subclínico ou latente, possuem mais probabilidade de desenvolver lesões precursoras e até mesmo cânceres cervicais<sup>152,170-173</sup>

A infecção pelo HPV no colo uterino pode ser avaliada visualmente, microscopicamente (via citologia ou histologia) e por meio de métodos moleculares. As mudanças citológicas clássicas, devido ao efeito citopático do HPV, incluem coilocitose e disqueratose<sup>174,175</sup> que, quando usadas isoladamente, são específicas, mas somente moderadamente sensíveis para a infecção<sup>68</sup>.

Para aumentar a sensibilidade da detecção citológica de infecção pelo HPV, a validade de vários sinais citológicos “não-clássicos” em associações variáveis de significância, em conjunto com HPV DNA, foi proposta por Checcini *et al.* (1990)<sup>176</sup>. Entretanto, a implementação generalizada de testes HPV moleculares diminuiu amplamente o interesse pelo estudo de mudanças citológicas menores associadas ao HPV. Embora o uso combinado de teste HPV com a citologia pareça ideal, nem sempre é possível devido a questões de custo.

Portanto, a avaliação crítica das mudanças celulares leves sugestivas de infecção pelo HPV pode ajudar a aumentar a sensibilidade de diagnóstico citológico, com o potencial de pré-selecionar os casos antes do caro exame molecular HPV<sup>177</sup>. Nesse trabalho, a sensibilidade mais alta foi alcançada por bi/multinucleação (90,78%), seguida de hipercromasia nuclear leve (86,84%) e disceratose leve (79,70%) e variações nucleares leves (75,86). Os autores combinaram as características citomorfológicas em:

- “mudanças nucleares leves” consistindo de hipercromasia leve, variações nucleares leves e bi/multinucleação;
- “desordens de ceratinização” consistindo de disceratose leve e paraceratose;
- “células de infecção viral e coilócitos abortivos;
- “mudanças degenerativas” consistindo de macrócitos, grânulos de cerato-hialina.

Usando-se essas categorias, os autores<sup>177</sup> alcançaram sensibilidade e valor preditivo negativo máximos (100% cada) para o parâmetro “mudanças nucleares leves”. Paralelamente a isto, a especificidade foi bem baixa (31%), resultando em 37% de casos falso-positivos.

Por meio de um painel de 10 características citomorfológicas “não-clássicas” sugerindo o efeito do HPV, os autores<sup>177</sup> descobriram 3,8 sinais por lâmina, em média, nas amostras HPV negativo, em contraste com 6,68 sinais observados no grupo HPV positivo. Isto está de acordo com os resultados de Scheneider *et al.* (1987)<sup>68</sup>, cujos valores correspondentes foram 2,0 e 4,8 sinais, respectivamente. Os sinais “não-clássicos” que os autores descobriram nas amostras HPV negativo estavam principalmente relacionados às mudanças degenerativas, tais como dobra citoplasmática e macrócitos, assim como bi/multinucleação também vista em condições reativas. A prevalência de mudanças nucleares leves, incluindo hiper cromasia leve e variações nucleares, era bem mais baixa do que no grupo de casos HPV positivo.

#### 2.4.4 *Screening* citológico

Desde a implantação da triagem difundida com o teste Papanicolaou, índices de câncer cervical nos Estados Unidos diminuíram de 14,2 por 100.000 em 1973 para 7,8 por 100.000 em 1994. Apesar disso, a doença ainda representa a nona causa de morte por câncer entre mulheres americanas<sup>178</sup>.

Embora os programas de triagem cervical tenham reduzido dramaticamente a incidência de câncer cervical, 50% dos cânceres cervicais invasivos aparecem em mulheres examinadas com as metodologias citológicas existentes devido às limitações inerentes<sup>179</sup>. A sensibilidade da citologia para lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (SIL) foi somente de 40%, possivelmente devido à amostragem ou erros de interpretação<sup>180</sup>.

Estudos epidemiológicos descritivos têm demonstrado claramente uma queda extraordinária na incidência e índice de mortalidades atribuíveis ao carcinoma de células escamosas subsequente à introdução da triagem de citologia em países desenvolvidos nas últimas quatro décadas<sup>181</sup>.

Apesar de sua experiência bem sucedida, a citologia está longe de ser perfeita como instrumento de triagem e em muitos contextos, especialmente em países em desenvolvimento, programas nela baseados fracassaram substancialmente na redução dos índices de câncer<sup>4</sup>. Há muitas razões para os problemas dos sistemas de triagem de câncer cervical, incluindo limitações práticas em relação à baixa cobertura e índices de frequência, assim como limitações técnicas em relação à amostragem e erros de laboratório em triagem e interpretação. Resultados de citologia falso-positivos levam a procedimentos desnecessários e frequentemente invasivos, enquanto os resultados falso-negativos podem causar sérios danos às mulheres, assim como a saúde pública e implicações legais<sup>182</sup>.

Na última década, tem havido crescente interesse pelo desenvolvimento de novos testes com sensibilidade adequada e especificidade para detectar precursores clínicos significantes do câncer cervical. Um deles é o teste HPV-DNA viral. Esse interesse baseia-se na certeza de que a doença cervical e as lesões pré-malignas são necessariamente causadas pelo papilomavírus humano<sup>183,184</sup>. Os tipos de HPV oncogênicos de alto risco estão presentes em mais de 99% dos cânceres cervicais e na vasta maioria dos casos de NIC II e NIC III<sup>76,185</sup>.

Embora o estudo citológico com a técnica de Papanicolaou seja mais eficiente para prevenir e detectar condições pré-cancerosas do colo uterino, seu resultado falso-negativo é

ainda uma razão de preocupação entre patologistas, ginecologistas e serviços de atendimento de saúde<sup>4,186, 187</sup>.

A utilização da citologia, se bem feito, é o teste de rotina universalmente empregado para diagnosticar lesões cervicais, mas também é considerado por muitos como uma prova com grandes limitações por sua considerável proporção de falso-negativos<sup>188</sup>.

Em populações gerais, o índice de citologia falso-negativo tem sido estimado entre 20 e 40% e isto está direcionado para as recomendações de triagem cervical, repetindo-se os esfregaços anualmente por dois ou três anos antes de considerar-se a triagem menos freqüente<sup>189</sup>.

A citologia é um método acessível e rápido, que pode ser utilizado no rastreamento da infecção pelo HPV na população em geral<sup>92</sup>. Porém, a taxa apreciável de falso-negativos e a variação dos resultados interobservador tornam necessário o uso de outros métodos diagnósticos<sup>5</sup>.

Estudos sugerem que a prevalência de HPV em mulheres com exames citológicos considerados normais varia em torno de 5 a 14% quando se utilizam técnicas de biologia molecular<sup>92</sup>. Apesar de sua comprovada aplicabilidade em *screening* para detecção de lesão neoplásica ou pré-neoplásica do colo uterino, o exame citológico parece não ser um bom rastreador para diagnóstico de infecção pelo papilomavírus humano<sup>190</sup>.

Muito foi relatado sobre a confiabilidade da citologia cervical de rotina. Embora sua validade nunca tenha sido questionada, grande interesse tem sido despertado em relação a

falhas citológicas, especialmente na triagem de lâminas e interpretações nos últimos anos<sup>191</sup>.

A maioria das mortes por câncer cervical ocorre em mulheres que nunca fizeram teste de Papanicolaou, mas algumas incidem naquelas que recentemente receberam resultados de testes negativos. Aproximadamente dois terços de resultados falso-negativos são causados por erro na amostra e o resto por erro de diagnóstico<sup>192</sup>.

As limitações da citologia são altas taxas de falso-negativo e falso-positivo, compostas de um número substancial de exames citológicos relatados como negativos ou sem inflamação<sup>193-195</sup>. A abordagem dos exames inflamatórios negativos é assunto controverso e acredita-se que os relatórios de inflamações moderadas para graves em muitos casos podem representar um precursor irreconhecível da atipia<sup>196</sup>.

Sugere-se que, enquanto o teste citológico deve continuar a ser o método de triagem de rotina para o diagnóstico de lesões cervicais, o teste HPV DNA pode ser utilizado como um suplemento para a citologia para uma triagem efetiva de câncer cervical ou suas lesões precursoras, particularmente aquelas com exame negativo ou “inflamação”<sup>197</sup>.

Na revisão de Husain *et al.* (1974)<sup>198</sup>, os índices de falso-negativo variaram de 1,1% a 30%, enquanto no seu material era de 14,9%, mais baixo que o relatado em outros estudos<sup>187,199</sup>. Berkowitz *et al.* (1997)<sup>200</sup> relataram que 55% dos pacientes que desenvolveram carcinoma histologicamente provado tinham relatórios de esfregaços cervicais negativos. A revisão de lâminas descobriu células malignas originalmente não notadas em metade dos casos.

Erro de amostra ocorre quando células anormais não são coletadas ou não são transferidas para a lâmina do Papanicolaou; e erro de diagnóstico quando células anormais na lâmina estão faltando ou são mal interpretadas. O erro mais comum é a ausência de células da zona de transformação cervical<sup>192</sup>.

No trabalho de Di Benito *et al.* (1993)<sup>191</sup>, o índice de sensibilidade para o câncer cervical foi de 76,3%, enquanto a especificidade foi de 93%.

Fahey, Irwig e Macaskill (1995)<sup>201</sup> descobriram que os métodos citológicos tinham sensibilidade média de 58% e especificidade média de 69% em amostras de triagem.

Entretanto, a eficácia do método depende:

- do engajamento da população e dos médicos nos planos de prevenção do câncer de colo uterino;
- de coleta de material cervical adequada;
- de análise também adequada das lâminas de citologia;
- do acompanhamento às pacientes.

A técnica citológica convencional apresentou incidência de falso-negativos de 1,5% a 50%<sup>202</sup>. Falhas na coleta são apontadas como responsáveis por 66% desses resultados falso-negativos<sup>4</sup>. Além da coleta inadequada, também podem ocorrer erros na preparação das lâminas, tanto na transferência das células para as lâminas quanto na coloração das mesmas.

A coleta adequada está relacionada com a habilidade do coletador e do tipo de instrumento utilizado<sup>203</sup>. Uma amostra satisfatória deve estar adequadamente identificada, vir

acompanhada dos dados clínicos pertinentes e conter elementos representativos do epitélio escamoso e da junção escamocolunar de boa qualidade e em quantidade adequada.

O sistema de Bethesda para relatórios cérvico-vaginais estabelece que devem estar presentes células escamosas bem preservadas e bem visualizadas em mais de 10% da superfície da lâmina. A representação adequada da junção escamocolunar fornece, pelo menos, dois agrupamentos de células endocervicais ou metaplásicas preservadas, com pelo menos cinco células cada um. Esses critérios não se aplicam aos esfregaços atróficos, quando as células metaplásicas não podem ser facilmente diferenciadas das células escamosas basais e para as pacientes sem colo uterino<sup>78</sup>.

Na avaliação da acurácia do exame citológico convencional para HPV e NIC, encontram-se valores de sensibilidade do método variando entre 68 e 80% e especificidade entre 79 e 99%<sup>204</sup>.

Particularmente, a sensibilidade mostrou que a citologia é especialmente importante no reconhecimento de SIL de alto grau, com índice de 82,6 e 100% para NIC II e NIC III, respectivamente. Nesse trabalho de Di Benito *et al.* (1993)<sup>191</sup>, os falso-negativos foram 8,7%, entretanto, nenhuma NIC III foi omitida no exame de lâmina inicial. Com a revisão, a negatividade era, em muitos casos, confirmada e explicada por erro de amostragem. Erros de triagem e interpretação foram limitados e pertinentes em muitos casos de NIC I com células anormais raras.

Esses resultados são basicamente comparáveis com os relatados em outras grandes séries<sup>198,205</sup> usando comparação cito-histológica e considerando erros de amostragem como

fonte dos esfregaços falso-negativos e erros de triagem e interpretação sendo realmente raros.

Um programa de *screening* para ter sucesso precisa ser baseado em um teste confiável: que tenha alta sensibilidade e, muito importante, alta especificidade. Se a anormalidade do epitélio cervical é diagnosticada em uma mulher que possui previamente um esfregaço negativo, existem duas possibilidades: a anormalidade epitelial não existia quando o esfregaço negativo anterior foi feito; a anormalidade epitelial existia, mas não foi reconhecida (erro de interpretação) ou não estava presente nas amostras celulares (erro de amostra)<sup>187</sup>.

O controle de qualidade dos laboratórios parece ser o melhor modo de reduzir os erros de amostragem e *screening*. Os esfregaços duplicados podem minimizar o erro de varredura, mas essa medida parece ser muito cara para programas de *screening* populacional amplo. Uma boa supervisão e treinamento dos citotécnicos com carga máxima de 25 a 30 esfregaços diários e a permuta intralaboratorial e interlaboratorial de lâminas com anormalidade são modos efetivos para reduzir os erros de varredura<sup>187</sup>.

Ao contrário da opinião de que a citologia ginecológica tem exatidão de 95 a 97%, que dura desde o tempo de Papanicolaou, muitas publicações durante os últimos 10 a 15 anos têm mostrado que isto não é correto<sup>205,206</sup>.

Se um teste de triagem for usado para detectar uma doença, os resultados podem ser resumidos numa tabela dois por dois, assumindo que a doença existe ou não<sup>207</sup>. Os resultados possíveis de um determinado teste podem ser: identificar corretamente a

presença da doença (verdadeiro positivo - VP) ou a ausência (verdadeiro negativo - VN) ou diagnosticar incorretamente que a doença está presente (falso-positivo - FP) ou ausente (falso-negativo - FN). A sensibilidade e a especificidade dependem somente da qualidade do diagnóstico de um teste, isto é, elas podem ser calculadas usando-se pessoas com ou sem a doença. Os valores preditivos, entretanto, também dependem da prevalência, isto é, do número de pessoas com doença na população total<sup>206,207</sup>.

Os valores preditivos são parâmetros muito importantes para a avaliação de um procedimento de triagem, porque eles documentam quantas mulheres com teste positivo realmente têm a doença e quantas com teste negativo não a têm<sup>204</sup>.

Para avaliar criticamente os resultados de um programa de triagem citológica, muitos problemas especiais e soluções potenciais têm de ser considerados. Primeiro, enquanto os resultados FP podem ser determinados muito fácil e corretamente (porque as mulheres são acompanhadas e têm exame histológico), é muito difícil determinar o índice de FN. Em contrapartida, os diagnósticos FN geralmente não têm exame histológico confirmado. Além disso, o resultado histológico nem sempre espelha a condição real da doença. Enquanto os resultados histológicos FP são, certamente, extremamente raros, os histológicos FN podem ocorrer, como o resultado de amostras insuficientes do tecido para exame histológico ou de divisão insuficiente do tecido. Vários métodos podem dar uma estimativa aproximadamente correta dos resultados citológicos FN. Um é a comparação de todos os resultados com os dados num registro completo de câncer, que deve identificar cada paciente o mais completamente possível para facilitar possíveis comparações. Outro método possível é o reexame sistemático de um grupo numeroso de mulheres examinadas, por exemplo, três meses após o primeiro exame. A revisão dos esfregaços iniciais não é

adequada para essa finalidade; seria necessário obter mais esfregaços, o que foi feito num estudo realizado na Inglaterra por Husain *et al.* (1974)<sup>198</sup>.

Um terceiro método possível é a revisão retrospectiva dos esfregaços anteriores em casos de carcinoma histologicamente comprovado e carcinoma *in situ*. Mais uma técnica para a validação de resultados citológicos não confirmados histologicamente seria a avaliação por exames citológicos subseqüentes. Outra dificuldade na validação dos resultados citológicos é o fato de que nem os resultados citológicos nem os histológicos são relatados como simples resultados positivos ou negativos. Ambos utilizam um espectro de diagnóstico e têm vários níveis para resultados positivos. Ambos são avaliações subjetivas, especialmente para neoplasias intra-epiteliais. Portanto, pequenos desvios não podem ser considerados erros de diagnóstico. A citologia cervical tem especificidade alta (de mais de 99%), mas sensibilidade relativamente baixa, mais ou menos 80%, para identificar lesões cancerosas<sup>198</sup>.

No trabalho de Sasieni *et al.* (1995)<sup>8</sup> realizado no Reino Unido, os autores relataram que 36% de cânceres cervicais (correspondendo a 1.250 mulheres com idade inferior a 70 anos) que poderiam ter sido evitados tinham cinco triagens anuais e procedimentos para o acompanhamento com adesão de todas elas. Melhoramentos na qualidade de ambos (esfregaço e leitura) levariam as pessoas a esperar que fosse algo mais alta a proporção de cânceres possíveis de serem evitados.

O intervalo entre os estudos de triagem citológica é questão controversa, enfocando principalmente os resultados FN. Consideração importante na determinação de intervalos aconselháveis para triagem é a questão dos resultados FN, isto é, a falha para detectar

células anormais em amostra de pessoa com malignidade cervical. Isto também pode ser expresso como sensibilidade: com que frequência o esfregaço é citologicamente anormal quando a malignidade está presente<sup>208</sup>.

Variáveis múltiplas e problemas influenciam nos índices de detecção finais nos esfregaços cervicais, incluindo a técnica de amostragem usada, a preparação da paciente, a fixação e coloração dos esfregaços, a exatidão da triagem do citotecnologista e a interpretação do citopatologista. Na literatura, os índices de malignidade cervical citológica FN variam muito<sup>208</sup>. Por exemplo, muitos estudos mostraram índices variando de 15 a 55% diante de câncer cervical invasivo<sup>209,210</sup> e de 6 a 45% na presença de carcinoma de células escamosas<sup>211</sup>.

Na maioria das séries na literatura, os resultados FN também parecem representar erros de amostragem. Em algumas séries clínicas publicadas, preparações insatisfatórias são consideradas negativas<sup>212</sup>. Entretanto, a categoria “insatisfatória” não deveria ser incluída no grupo FN<sup>213</sup>. Mesmo no reexame, normalmente é difícil concluir objetivamente se uma dada amostra é adequada. Foi sugerido que a presença de células endocervicais é um indicador de amostra satisfatória<sup>214,215</sup>, embora outros discordem<sup>216</sup>. Vários fatores podem determinar se uma dada amostra pode ser satisfatória. Por exemplo, os esfregaços devem ser fixados imediatamente para evitar artefatos secos. Ocasionalmente, inflamação extrema pode obstruir as células epiteliais e tornar a preparação insatisfatória. Em alta porcentagem de pacientes com carcinoma invasor de células escamosas, os esfregaços podem conter somente material necrótico, células inflamatórias e, assim, esses esfregaços são sempre insatisfatórios<sup>198</sup>. Como descrito na literatura, os índices de FN variaram muito, mas usualmente são de 20 a 30%<sup>217</sup>. Alguns trabalhos sugeriram que o diagnóstico citológico

não pode ser campo apropriado para controle de qualidade, porque é essencialmente uma expressão de opinião<sup>218</sup>.

A fadiga do *screening* foi a principal causa dos resultados falso-negativos em 31% dos esfregaços examinados<sup>219</sup>. O tédio do *screening*, já bem descrito por Rylander (1977)<sup>220</sup>, é certamente exacerbado pela sobrecarga de trabalho que muitos laboratórios têm. Robertson e Woodend (1993)<sup>219</sup> relataram que, nessas circunstâncias, a fadiga pode resultar em exame de esfregaços sem qualquer análise crítica, sendo realizada com o examinador inconsciente. Varredura dupla dos esfregaços já foi considerada, mas ainda não se chegou a um consenso. Em 17% dos esfregaços analisados no trabalho de Robertson e Woodend (1993)<sup>219</sup>, a anormalidade epitelial foi principalmente encontrada nos fragmentos de tecidos. Como já se notou, os programas de treinamento e livros têm se concentrado quase que exclusivamente na citologia de células decompostas, tal que a equipe oferece pouca atenção à identificação de fragmentos de tecidos durante a varredura. Muito freqüentemente, fragmentos displásicos são mal interpretados como metaplasia escamosa. O epitélio displásico evidente apenas como fragmentos de tecido removido pela espátula também indica a importância da obtenção de esfregaços nos quais é mostrado o endocérvice.

Até agora não há critérios universalmente aceitos ou protocolos para avaliar a adequação de amostras nos esfregaços cervicais. Os critérios de laboratórios atuais geralmente aceitos como esfregaços insatisfatórios incluem sangue excessivo, inflamação, dessecação e celularidade inadequada. A presença ou ausência de células endocervicais em amostras simples foi sugerida como medida de adequação de amostras<sup>221,222</sup>. Os resultados negativos da citologia cervical na NIC podem depender da ausência de células observáveis no

esfregaço ou da falha de interpretação para identificá-lo. A ausência de células atípicas observáveis pode resultar da qualidade pobre da retirada ou do processamento do esfregaço<sup>223</sup>. Em uma metanálise realizada por Fahey, Irwig e Macaskill (1995)<sup>201</sup>, a sensibilidade do teste de Papanicolaou abrangeu 14 a 90%. Nenhuma tentativa foi de todo feita para estimar a contribuição das diferentes fontes na falha do teste.

Há consenso geral de que os esfregaços cervicais deveriam ser feitos da junção escamocolunar, da qual a maioria das mudanças epiteliais anormais é suposta de originar. Entretanto, o significado da ausência de células endocervicais tem sido controverso nos últimos 10 anos<sup>224</sup>.

A precisão do diagnóstico de esfregaços cervicais de rotina, independentemente da técnica, não é absoluta. A junção escamo-colunar em amostra negativa adequada, ao contrário, não elimina a possibilidade de anormalidade epitelial e não é garantia absoluta de amostragem adequada. Do contrário, células anormais podem ocorrer na ausência de componente endocervical<sup>225</sup>.

As estimativas da precisão dos relatórios citológicos vão sempre exigir os resultados de um procedimento de diagnóstico alternativo para permitir a categorização dos relatórios em verdadeiro, falso-positivos, verdadeiro e falso-negativos. A sensibilidade, definida como a proporção de todos os verdadeiros positivos que são triados como positivos, pode ser medida para relatórios de laboratórios das amostras citológicas. No sentido inverso, a especificidade, definida como a proporção de todos os verdadeiros negativos que são triados como negativos, não pode ser medida com exatidão pelos laboratórios citológicos, porque a maioria das mulheres que têm relatório citológico negativo emitido não se

submete a mais investigações com as quais o relatório negativo possa ser avaliado<sup>226</sup>. Mesmo se a avaliação precisa da especificidade de relatório de citologia cervical pudesse ser feita e parecesse ser suficientemente alta (por exemplo, 95%), a baixa prevalência da neoplasia cervical na população feminina pode determinar que alto número preocupante de relatórios falso-negativos do teste de triagem ainda ocorreria.

Os procedimentos de controle de qualidade num laboratório de citologia cervical devem monitorar a habilidade dos resultados de testes de triagem para detectar com precisão mudanças malignas e doenças pré-malignas, que têm probabilidade alta de progressão para câncer invasivo e, apropriadamente, tranquilizar as mulheres sem neoplasia. Ambos os programas de controle de qualidade, interno e externo, têm uma função, sendo o primeiro considerado o mais importante, uma vez que reflete a precisão do dia-a-dia do laboratório e, particularmente, seu índice de falso-negativo<sup>227</sup>. Os externos são seriamente desfavorecidos pela sua artificialidade, porque a equipe trabalha sob condições que não refletem a realidade das atividades diárias do laboratório<sup>226</sup>.

Estudo de caso-controle aninhado de coorte de mulheres com esfregaço negativo estimou a fração de casos de câncer invasor prevenido pela varredura citológica a cada cinco anos, sendo de 72 e 62%, respectivamente, para mulheres com ao menos dois esfregaços e um esfregaço somente<sup>228</sup>.

#### 2.4.5 Esfregaço de Papanicolaou em mulheres soropositivas para o HIV

Embora a relação entre anormalidades cervicais e HIV esteja bem estabelecida, a patogênese da doença cervical em pacientes HIV positivo não é completamente entendida. É provável ser uma complexa ação recíproca de características biológicas e epidemiológicas das duas doenças<sup>229</sup>.

Maiman *et al.* (1998)<sup>109</sup> demonstraram, com sua grande série de estudos, que a prevalência de esfregaços cervicais anormais de 32,9% era 4,3 vezes mais alta nas mulheres infectadas pelo HIV do que nas HIV negativo da mesma comunidade. Confirmaram as descobertas de outros autores, que relataram índices de citologia anormal de 23 a 60%: Marte *et al.* (1992)<sup>230</sup> verificaram aumento de 5,8 vezes no índice de esfregaços anormais em mulheres infectadas pelo HIV em estudo multi-institucional, enquanto Wright *et al.* (1994)<sup>1</sup> referenciaram índice 3,6 vezes mais alto nas HIV positivo de populações similares e mostraram alta prevalência de SIL (20 a 42%) e de anormalidades cervicais nas HIV infectadas comparadas com as HIV negativo.

Pacientes com infecções simultâneas de HIV e HPV foram 42 vezes mais propensas a ter anormalidade citológica que as sem indícios de qualquer um dos vírus<sup>130</sup>.

Recentes relatos têm mostrado índices mais altos de lesões cervicais em mulheres infectadas pelo HIV e têm sugerido que essa infecção sozinha é um fator de risco de displasia cervical<sup>134,231,232</sup>. As mulheres com qualquer uma das infecções, HIV ou HPV, são sujeitas a risco mais alto de anormalidades citológicas cervicais e com ambas as infecções estão em risco ainda maior<sup>130</sup>. Várias pesquisas em pequeno número de mulheres registraram indícios de redução de linfócitos cervicais, diminuição das células T

supressoras e diminuição das células de Langherans em epitélios cervicais infectados por HPV<sup>133,233</sup>.

A descoberta de alta frequência de HPV em mulheres infectadas pelo HIV é de grande interesse. Explicações possíveis podem incluir exposição similar a dois agentes sexualmente transmissíveis, facilitação de transmissão de HIV entre mulheres infectadas pelo HPV infectadas ou alto risco de infecção de HPV entre as HIV positivo<sup>130</sup>.

Imunossupressão secundária à infecção do HIV é mais provável de acelerar o avanço de lesões associadas ao HPV, expondo mulheres com infecção simultânea pelos dois vírus a alto risco de desenvolver SIL. A infecção causada pelo HIV e a consequente imunossupressão alteram a história natural da infecção anogenital causada pelo HPV, havendo mais persistência desse vírus nas mulheres HIV positivo e, consequentemente, mais prevalência das lesões HPV induzido. O HPV, especialmente o grupo de alto-risco oncogênico, é considerado o principal agente das lesões precursoras do câncer cérvico-uterino. Portanto, o conjunto de mulheres soropositivas apresenta mais incidência de NIC<sup>234</sup>.

Tal é a importância dessas doenças que o CDC incluiu a displasia cervical e o câncer cérvico-uterino na classificação de 1993 da doença relacionada ao HIV<sup>235</sup>. Deve-se ressaltar também a presença de tipos de HPV múltiplos em amostras cervicais de mulheres HIV positivo.

Embora a infecção com tipos múltiplos tenha sido descrita no passado, ela não parecer ser comumente observada em amostras cervicais obtidas de mulheres imunocompetentes de muitos países<sup>236</sup>.

A infecção múltipla foi encontrada em somente 2,2% das participantes no ingresso, no estudo coorte Ludwig-McGill, consistindo de mulheres assistidas num programa de saúde materno-infantil para famílias de baixa renda na cidade de São Paulo, Brasil<sup>237</sup>.

Da mesma forma, a infecção múltipla foi observada em 2,6% das mexicanas do estado de Morelos, com citologia normal<sup>88</sup>. No trabalho de Levi *et al.* (2004)<sup>108</sup>, a infecção com mais de dois tipos de HPV foi observada em 45% das coortes infectadas pelo HIV. Esta é exatamente a mesma proporção encontrada em outro estudo realizado numa população de mulheres HIV positivo de Santos, São Paulo, confirmando a alta frequência de infecções múltiplas nas brasileiras HIV positivo. Esses resultados sugerem que a prevalência de infecção com tipos múltiplos em mulheres HIV positivo é mais alta do que entre as soronegativas.

A questão por que as mulheres imunocomprometidas pelo HIV são infectadas por tipos HPV múltiplos merece mais investigação. Isto pode ser consequência de mais frequência de contato sexual sem proteção ou de uma falha da imunidade HPV específico. É possível que os hospedeiros imunocompetentes sejam capazes de controlar e erradicar a infecção com a maioria dos tipos de HPV, enquanto os tipos mais comumente vistos, tais como HPV 16, 53, 6, 11, são capazes de livrar-se da resposta hospedeira por mecanismos ainda indefinidos. Assim, um hospedeiro imunocomprometido forneceria um ambiente onde aqueles tipos de HPV “menos adaptados” pudessem replicar<sup>108</sup>.

A prevalência de lesões cervicais escamosas (SIL) em mulheres imunocompetentes é de aproximadamente 3% no oeste europeu<sup>238</sup>. Vários relatos<sup>129,239</sup> indicaram alta prevalência de SIL (20-42%) em mulheres infectadas pelo HIV. A *odds ratio* foi estimada em 4,9 (95% intervalo de confiança 3.0-8.2) em mulheres infectadas pelo HIV<sup>240</sup>. Relatos preliminares sugerem que a infecção pelo HIV pode alterar a história natural do carcinoma cervical invasivo e doença pré-invasiva, com progressão rápida do SIL ao câncer cervical<sup>136,241</sup>. A sensibilidade do diagnóstico de esfregaços de Papanicolaou em mulheres soropositivas foi questionada no trabalho de Heard *et al.* (1995)<sup>242</sup>, mas descobertas subsequentes indicam que a sensibilidade de diagnóstico do esfregaço de Papanicolaou não é reduzida em mulheres infectadas<sup>2,243</sup>. A sensibilidade do esfregaço de Papanicolaou no trabalho de Korn *et al.*<sup>244</sup> em população soropositiva para o HIV foi de 63%, semelhante à da população-controle (64%).

A especificidade do esfregaço de Papanicolaou foi de 84% nas mulheres HIV positivo e 74% no grupo-controle. Na conclusão de seu trabalho, Korn *et al.*<sup>244</sup> verificaram que a sensibilidade do teste de Papanicolaou não parece diminuir em mulheres HIV positivo. Na população em geral, a taxa de citologia falso-negativo foi estimada em 20 a 40%, sendo essa a recomendada para o *screening* do câncer cervical pela repetição do esfregaço anualmente por dois a três anos, antes de se considerar menos freqüente outro esfregaço<sup>189</sup>.

A co-infecção não é acontecimento inesperado, pois os dois vírus são transmitidos por relações sexuais. Atualmente, é incerto se os altos índices das lesões genitais relacionadas com o HPV em mulheres HIV positivo é consequência do aumento da freqüência e da repetição da infecção do HPV. Além do mais, vários estudos têm mostrado que, nas soropositivas para o HIV, lesões de HPV podem progredir mais rapidamente e podem

regredir mais vagarosamente do que nas soronegativas<sup>245,246</sup>. Atribui-se a imunodeficiência associada ao HIV<sup>247,248</sup>. O valor biológico da possível interação entre HIV e HPV é apoiado em observações de que o HIV não somente infecta as células do sistema hematopoiético, expressando o receptor CD4, mas também as células que podem ser infectadas pelo HPV, como as células de Langerhans, células M, células dendríticas da mucosa retal e genital e células epiteliais do colon<sup>249</sup>.

Em metanálise de cinco estudos epidemiológicos publicados entre 1986 e 1990, Mandelblat *et al.* (1992)<sup>240</sup> encontraram que o risco de desenvolver NIC era cinco vezes mais alto em mulheres HIV positivo na comparação com as HIV negativo com os mesmos fatores de risco de NIC. A NIC associa-se ao HPV de maneira significativa entre as soropositivas. Há alta correlação entre NIC e a gravidade da displasia, de um lado, e imunodepressão induzida pelo HIV, por outro. Atualmente, o esfregaço de Papanicolaou é usado como uma classificação em mulheres não infectadas pelo HIV. De todo modo, a aplicação apenas de esfregaço de Papanicolaou na população HIV tem sido criticada. É bem sabido que esse esfregaço carrega taxa de falso-negativo de 23 a 30% em populações de alto risco. As teorias para explicar essas altas taxas incluem efeitos mascarados de infecção concorrente, assim como diferenças na esfoliação das células cervicais normais e anormais<sup>125</sup>.

Investigações mostrando a discordância entre citologia e histologia têm levantado a questão se outras recomendações são necessárias nas infectadas pelo HIV<sup>2,250</sup>.

Múltiplas pesquisas têm mostrado altas taxas de citologia anormal em mulheres HIV positivo com prevalência tão alta quanto 45% quando todas as formas de anormalidade

citológicas são incluídas<sup>115,230,244</sup>, embora as taxas registradas possam ser baixas se somente esfregaços específicos de NIC/displasia são incluídos<sup>2,251</sup>.

Fink *et al.* (1994)<sup>243</sup> estimaram sensibilidade da citologia para NIC de 65%, consistente com o registro de Korn *et al.*<sup>244</sup>, com sensibilidade de 63% em 52 mulheres.

A validade dos testes de esfregaços de Papanicolaou para detecção da doença cervical nas mulheres infectadas por HIV foi questionada por Maiman *et al.* (1991)<sup>2</sup>, mas outros autores observaram sensibilidade e especificidade parecidas dos testes de esfregaços de Papanicolaou nas mulheres HIV negativo e HIV positivo<sup>1</sup>. Independentemente da infecção pelo HIV, o teste de Papanicolaou não é 100% sensível (81% de sensibilidade nas mulheres HIV positivo<sup>1</sup>) e sugeriu-se a realização de dois para reduzir-se o risco de um resultado falso-negativo<sup>1</sup>. Vários investigadores têm recomendado esfregaços a cada seis meses em mulheres HIV positivo, para compensar a possibilidade de altos índices de falso-negativos<sup>243</sup>.

As lesões epiteliais escamosas do colo uterino possuem prognóstico pior e mais agressivo nas mulheres infectadas pelo HIV<sup>252</sup>. Infelizmente, o valor da citologia foi questionado nas mulheres HIV positivo e pode ser inadequado para a detecção do SIL ou na previsão do diagnóstico histológico<sup>2</sup>.

No trabalho de Priore e Lurain (1993)<sup>250</sup> comparando resultados citológicos com a histopatologia, na série de mulheres infectadas pelo HIV, encontraram-se: sensibilidade 57%, especificidade 96%, valor preditivo positivo 96% e valor preditivo negativo 39%.

Fialho *et al.* (2002)<sup>253</sup> avaliaram as anormalidades citológicas e a acurácia da citopatologia como método de rastreio nas mulheres HIV positivo, encontrando sensibilidade de 78% e especificidade de 57% da citologia em detectar os casos de HPV e NIC. Outros autores demonstraram taxas parecidas, que confirmam a limitação do método em rastrear as populações de alto risco para NIC: sensibilidade de 58% e de especificidade de 69%<sup>201</sup> e de 60 e 81%, respectivamente<sup>109</sup>.

Mesmo havendo sensibilidade abaixo daquela esperada para um exame de rastreio e a opinião divergente de diversos autores em como rastrear as pacientes, é importante analisar o método escolhido e os recursos disponíveis levando-se em julgamento também a sua exequibilidade. No Brasil, a citologia oncótica ainda é um método bom, de baixo custo e de fácil realização, devendo ser acessível para a maioria das mulheres HIV positivo. De acordo com os resultados de Fialho *et al.* (2002)<sup>253</sup>, da literatura mundial e a situação econômica e cultural de nosso país, ainda se deve aplicar a rotina preconizada pelo CDC<sup>234</sup>. As mulheres infectadas pelo HIV devem receber a recomendação de submeterem-se a exame ginecológico completo, inclusive exame citopatológico, como parte da sua avaliação clínica inicial. Se o exame citopatológico inicial estiver dentro dos valores normais, pelo menos um exame citopatológico adicional deve ser obtido em aproximadamente seis meses, para descartar a possibilidade de resultados falso-negativos no exame inicial.

## 2.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR) e citologia

A citologia tem sido utilizada em todo o mundo há várias décadas como método de rastreio das lesões precursoras do câncer do colo uterino. Embora seja um método barato e

disponível, sua sensibilidade e especificidade situam-se abaixo do desejável devido a problemas com sua reprodutibilidade. Nos últimos anos, observa-se nos países desenvolvidos uma tendência a substituir a citopatologia por métodos de mais acurácia. Entre eles, o teste do HPV é o que tem sido mais estudado atualmente<sup>253</sup>.

Na literatura, o exame PCR é considerado mais sensível e superior às demais técnicas de diagnóstico<sup>132,254</sup>; também ficou bem estabelecida a maior sensibilidade do PCR pela ocorrência de positividade em situações nas quais outros métodos apresentam resultado negativo<sup>255,256</sup>.

Qualquer que seja o método molecular empregado, é necessário admitir que a ausência de HPV em determinada lesão pode corresponder às seguintes possibilidades: ausência real do DNA virótico dentro da lesão; existência de outro tipo de HPV não pesquisado pela técnica utilizada; pequeno número de cópias do vírus no espécime analisado<sup>257</sup>. Na interpretação do resultado da tipificação do HPV com a citologia, colposcopia e histologia, é necessário considerar as seguintes variáveis: HPV positivo com os outros parâmetros negativos e, considerando-se que não existe falso-positivos de HPV DNA, a interpretação definiria uma infecção latente pelo HPV. A constatação de coilócitos na citologia e histologia é uma interpretação da atividade reprodutiva do vírus. A positividade morfológica na citologia e histologia com imagens colposcópicas positivas clássicas dependendo do colposcopista e o tamanho da lesão e de sua situação determinada são interpretados como uma atividade “transformante do vírus dentro do genoma celular”<sup>57</sup>.

A infecção pelo HPV é agora reconhecida como o maior causador de neoplasia cervical intra-epitelial. A triagem tradicional para infecção pelo HPV já dependeu do esfregaço de

Papanicolaou. Entretanto, em vista do alto número de falso-negativos e positivos associados a ele e à necessidade de métodos mais sensíveis de diagnóstico, especialmente em mulheres com grande suspeita de infecção pelo HPV, a triagem por citologia não é mais suficiente para avaliar neoplasias cervicais<sup>258,259</sup>.

Em países desenvolvidos, entretanto, o *screening* citológico é imperfeito para promover a redução da incidência do câncer cervical, porque o método tem limitações a respeito da sensibilidade<sup>4</sup>. Por outro lado, há uma tendência em direção ao superdiagnóstico de alterações celulares, o qual conduz para o supertratamento dessas pacientes<sup>260,261</sup>. O *screening* citológico tem sido muito útil em reduzir a incidência de carcinoma cervical nos últimos 50 anos, porém, o clínico, assim como o citologista, tem que estar a par de suas limitações. A citologia é um método observador-dependente e mudanças celulares, usualmente associadas à infecção pelo HPV, não são específicas o bastante e freqüentemente não diferem de reações inespecíficas ou mudanças inflamatórias<sup>78</sup> indicativas de infecção pelo HPV.

O diagnóstico de HPV por meio de teste molecular é logicamente mais sensível do que o reconhecimento microscópico das anormalidades citológicas<sup>262</sup>. Em avaliações prospectivas, a detecção HPV DNA precede e prevê anormalidades citológicas subseqüentes<sup>263</sup>. Durante a infecção, testes HPV DNA consistentemente detectam mais alta porcentagem das mesmas amostras descamadas do que o exame citológico<sup>41</sup>. Um resultado negativo com um teste sensível para HPV DNA oncogênico indica risco extremamente baixo de NIC de alto grau latente ou incipiente ou câncer<sup>79</sup>. Essa propriedade torna o teste HPV promissor para a triagem de anormalidades citológicas e, talvez, por fim, para a triagem geral<sup>77</sup>.

As metodologias diagnósticas com alta sensibilidade para detecção da infecção por HPV poderiam incrementar, juntamente com a citologia, a sensibilidade nos rastreamentos primários e secundários do câncer cervical. Vince *et al.* (2001)<sup>152</sup> concluíram que o teste molecular para infecção cervical pelo HPV deveria adicionalmente ser usado em pacientes nas quais o teste de Papanicolaou indicasse o HPV acompanhado de mudanças reativas, NIC I, NIC II, em ordem para identificar quem está em risco de desenvolver lesão de alto grau.

As técnicas de biologia molecular têm sido extensamente utilizadas para detectar e subdividir os tipos de HPV em três categorias: os de alta capacidade oncogênica, os de grau intermediário e os de baixa capacidade oncogênica<sup>60</sup>.

O desenvolvimento de métodos para a detecção e tipificação do HPV é dificultado por grande diversidade de genótipos. O alto número de tipos, subtipos e variantes descritos até o momento (+ de 80) somente admite o desenvolvimento de técnicas moleculares que permitam o estudo de tal diversidade genética. Considerando-se a importância clínica que possui o conhecimento do tipo viral presente no indivíduo infectado, criar novas metodologias que abordam essa questão reveste-se de primordial importância<sup>264-266</sup>.

Estudos virológicos e epidemiológicos têm confirmado a forte correlação entre infecção pelo HPV e câncer cervical. O HPV é agora claramente aceito como o principal agente etiológico do câncer cervical e é detectado em 93%-100% de SIL e câncer cervical<sup>267-271</sup>.

### 2.5.1 Reação em cadeia da polimerase (PCR) e lesões intra-epiteliais escamosas (SIL)

Há ampla evidência implicando a infecção de alto risco do HPV como um fator causal no desenvolvimento do carcinoma intra-epitelial e invasor do colo<sup>33,272</sup>. Com o uso dessa informação, um passo lógico foi concluir que o rastreamento de HPV em pacientes com resultados anormais de citologia permitiria ao médico fazer uma triagem dos pacientes infectados de alto risco, naqueles com mais probabilidade de abrigar uma lesão de alto grau ou carcinoma invasor, enquanto aquelas mulheres com HPV de baixo grau ou com resultado negativo no teste provavelmente não teriam anormalidades significantes<sup>273</sup>.

Na avaliação da eficácia da varredura HPV, é preciso considerar não somente a sensibilidade, mas também a especificidade, o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo. A prevalência da infecção com HPV de alto risco numa dada população precisa ser considerada. No caso de alta prevalência, a especificidade pode não ser confiável. Em outras palavras, muitas mulheres tendo HPV de alto risco não terão e podem nunca ter NIC<sup>273</sup>.

À parte de sua função proposta na triagem de mulheres com esfregaços limítrofes (Ascus e Agus), o exame HPV está sendo considerado um adjunto da citologia na triagem da população<sup>180,183,274</sup> ou mesmo seu substituto<sup>183,275,276</sup>. Há, entretanto, considerável controvérsia em relação ao exame HPV na triagem da população e resultados opostos têm sido publicados, a ponto de dois artigos de revisão recente seriamente duvidarem do uso do teste de HPV em triagem cervical<sup>277</sup> e recomendarem a limitação de sua adoção<sup>273</sup>.

Muitos métodos têm sido usados para detectar HPV DNA, incluindo *dot blot*, hibridização *in situ*, captura híbrida e PCR. Entre eles, a PCR é o mais sensível e é considerada teste de referência<sup>277,278</sup>.

### 2.5.2 Reação em cadeia da polimerase e câncer

O HPV é detectado em mais de 95% de pacientes com câncer cervical<sup>6,267</sup>. Portanto, o teste HPV poderia ser considerado um auxiliar da citologia em triagem de população<sup>279</sup> ou mesmo seu substituto<sup>132,275</sup>. Contudo, outros dados relataram que o teste não parece ter qualquer benefício significativo além da citologia<sup>273,280</sup>. Muitas pesquisas anteriores lidaram com a possibilidade de se usar o teste HPV, além dos esfregaços cervicais, para identificar a neoplasia cervical<sup>279,281,282</sup>.

Para aumentar a sensibilidade da triagem citológica, a adição do teste HPV aos esfregaços cervicais é atualmente recomendada nos Estados Unidos. No trabalho realizado por Chan *et al.* (2001)<sup>283</sup> em Singapura usando a PCR como teste padrão para a infecção pelo HPV, a sensibilidade dos outros testes para a infecção no colo uterino estava em ordem decrescente: colposcopia (85%), histologia (44%) e citologia (19%). Entretanto, a implementação de ambos, esfregaços cervicais e teste HPV, para todas as mulheres como um método de triagem principal não é de custo viável. Há considerável controvérsia sobre a função do teste HPV na triagem das populações. Quando, para onde e como conduzir o teste HPV para a triagem de câncer cervical são questões importantes<sup>283</sup>.

Considerou-se<sup>284</sup> que um teste HPV oncogênico positivo seleciona uma população de alto risco para SIL de alto grau, enquanto um teste negativo tem valor preditivo negativo eficaz<sup>73</sup>. De forma ideal, a adição do teste de HPV à citologia convencional melhoraria a detecção da taxa de NIC de alto grau e também reduziria a taxa referencial, permitindo com segurança às mulheres HPV negativo com discariose média ou fronteira (*bordeline*) serem acompanhadas pela citologia em intervalos normais. A associação do teste HPV à

citologia pode substancialmente aumentar as taxas de detecção de NIC de alto grau com valor preditivo positivo aceitável. O teste HPV pode ser importante na prevenção do aumento de proporção de cânceres invasores entre mulheres com históricos de rastreamento aparentemente adequados.

Com base em um significativo ensaio clínico aleatório, o teste de HPV DNA é agora recomendado para a maioria das mulheres, com conclusões duvidosas nas análises citológicas cervicais (ASCUS)<sup>285</sup>.

O teste para HPV mostrou resultados encorajadores em grandes estudos de triagem e provavelmente receberá aprovação da *Federal Drugs Administration* (FDA) para uso em conjunto com análises citológicas na triagem inicial do câncer cervical em mulheres de 30 anos ou mais<sup>286</sup>. Apesar de ter benefícios reais a serem ganhos, a incorporação de teste HPV DNA em triagem inicial tem uma possibilidade de excesso. Um exemplo é que poucas mulheres infectadas com HPV se tornam realmente infectadas (aproximadamente 10% permanecem infectadas em cinco anos), sendo este o grupo menor com risco substancial (acima de 50%) de desenvolvimento de lesão de alto grau ou câncer cervical se a triagem não for realizada. Conseqüentemente, a possibilidade de uso em excesso do teste de HPV DNA é particularmente problemática para mulheres na adolescência e nos seus 20 anos, que são propensas a ter novas e transitórias infecções de HPV, mas são improváveis de ter câncer cervical por causa do longo período de latência (anos e até mesmo décadas) entre o início da infecção HPV e o desenvolvimento de câncer. Outras formas de excesso de uso são também possíveis.

Uso excessivamente freqüente do teste de HPV pode levar à classificação de alto número de mulheres como sendo de alto risco, embora suas infecções estejam predestinadas a ser solucionadas naturalmente. Independentemente de como é implementado, a incorporação do teste de HPV DNA em triagem primária informa muito mais mulheres com teste de Papanicolaou normal em risco crescente de câncer cervical<sup>287</sup>.

O refinamento da tecnologia para a identificação do tipo de HPV tem sido acuradamente bem estabelecido. Para os tipos de alto risco, o pico de prevalência de 8-12% em mulheres de 18-24 anos declina para 2-5% naquelas acima de 35 anos. Esses dados também indicam que a infecção em mulheres jovens tende a ser transitória, enquanto a infecção persistente em mulheres acima de 30 anos tende a ser estável, mais freqüentemente é de alto risco e mostra forte associação com o câncer cervical. Essa informação tem implicação para o uso clínico do teste de HPV para ambos, *screening* e triagem. O uso do teste de HPV para a triagem de mulheres com achados citológicos de baixo grau agora tem dados substanciais para comprovar sua eficácia. Usado com essa finalidade, ele tem reduzido a necessidade da colposcopia num terceiro momento, mantendo a sensibilidade para a detecção fundamental de NIC II e NIC II, juntos, com valor preditivo negativo de aproximadamente 98% para dois consecutivos testes negativos. Isto substancialmente excede o desempenho da repetição citológica<sup>179</sup>.

Essa aplicação do teste de HPV é proveitosa para mulheres de qualquer grupo de idade, independentemente da prevalência viral, porque elas constituem um subgrupo selecionado com base em resultados citológicos. Tipicamente, 5 a 10% dos *screenings* terão anormalidades de baixo grau e a prevalência de HPV de alto risco nesse grupo é entre 20 e 30%, com a maior parte negativa. O teste de HPV como um instrumento de *screening* é

considerado para mulheres acima de 30 anos. Nesse grupo, a sensibilidade e o valor preditivo positivo do teste do HPV são ambos maiores que a citologia. Entretanto, dados revelam que o mais efetivo procedimento de *screening* deverá ser a combinação do teste de HPV com a citologia, o qual oferece um grau de performance muito mais alto que qualquer dos dois individualmente. Claramente, o custo adicional do teste de HPV deveria ser divulgado, mas a melhora da acurácia do *screening* poderá seguramente permitir um aumento do intervalo de *screening* de três anos para, finalmente, cinco anos, com melhora efetiva dos custos dos recursos da saúde<sup>179</sup>.

Vários estudos também sugeriram que o diagnóstico pelo HPV DNA tem uma função auxiliar, mas não pode substituir a triagem citológica<sup>46,281,288,289</sup>.

Entretanto, para tornar o teste HPV DNA possível no sistema de saúde pública, especialmente nos países em desenvolvimento, ele deve se tornar mais barato e de mais simples execução<sup>197</sup>.

Uma revisão feita por Cuzick *et al.* (2006)<sup>290</sup> em países que estabeleceram as atividades de *screening* baseadas em citologia, incluindo mais de 60.000 mulheres que foram testadas por ambos, HPV e citologia, fornece uma comparação direta da sensibilidade desses dois testes. A sensibilidade da citologia foi substancialmente menor do que no teste HPV e variou consideravelmente entre os estudos. A sensibilidade total de citologia para NIC II foi de 53,0% (48,6-57,4), mas variou significativamente de 18,6% em Jena para 76,7% no estudo de HART<sup>291</sup>. A sensibilidade foi consideravelmente melhor nas mulheres com idade acima de 50 anos do que nas mais jovens (79,3 % *versus* 59,5%) e o valor preditivo positivo foi de 20,3% (18,3% - 22,4%). Em comum com o teste HPV, a especificidade foi

melhor nas mulheres mais velhas (95,9% *versus* 97,1% para <35 anos *versus* 35anos +) e o valor preditivo positivo foi mais alto nas mulheres mais jovens (23,2% *versus* 17,5% para <35 anos vs. 35 anos+) <sup>290,291</sup>. O teste HPV foi consideravelmente mais sensível em todos os estudos, com a sensibilidade para NIC II e NIC III de 96,1% geral (94,2-97,4% e 93,6-97,6%, respectivamente).

O uso do teste HPV DNA somente como um método de triagem primária tem se mostrado mais sensível do que a citologia em numerosos estudos clínicos. Mais experimentos estão em curso para ajudarem a definir seu melhor uso como uma ferramenta de triagem primária <sup>290</sup>.

A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) afirmou que há indícios suficientes baseadas em indicadores substitutos de que a eficácia do teste HPV usando um sistema validado como modalidade primária de triagem pode ser no mínimo tão boa quanto a da citologia convencional <sup>292</sup>.

Devido ao ensaio HPV ser mais sensível do que a citologia cervical na detecção de NIC II e NIC III, as mulheres com resultados de testes negativos simultâneos (Pap e teste HPV) podem apresentar risco de NIC II, NIC III ou cânceres cervicais não identificados de aproximadamente 1/1000 <sup>293,294</sup>.

O modelo custo-benefício indica que o teste HPV DNA é uma abordagem atraente em muitos locais <sup>295</sup>. O teste HPV DNA não tem a variabilidade interlaboratório e interobservadora da citologia cervical.

## 2.6 Triagem primária nos países em desenvolvimento

Em áreas onde os recursos são escassos, deveriam ser criadas campanhas especiais para tentar assegurar-se de que todas as mulheres com idade de 30 anos ou mais fizessem no mínimo um exame<sup>290</sup>. São necessários recursos suficientes para o manejo e tratamento de todas as mulheres com testes positivos antes da triagem ser feita<sup>290</sup>.

O valor preditivo negativo extremamente alto (99%-100%) do teste HPV DNA negativo encoraja uma estratégia de triagem uma ou duas vezes na vida<sup>290</sup>. O teste HPV DNA rápido de preço acessível pode potencialmente se tornar a base para uma simples abordagem de consulta para triagem e tratamento<sup>295,296</sup>.

Em comparação com a citologia, o teste HPV é altamente reproduzível, é mais facilmente monitorado, fornece resultado de exame objetivo e pode facilmente ser automatizado. A especificidade mais baixa do teste HPV em mulheres mais jovens é devida à prevalência mais alta de infecções transitórias. A citologia tem valor preditivo positivo mais alto do que o teste do HPV DNA, que reduz os custos associados ao encaminhamento para a colposcopia<sup>297</sup>. Entretanto, em populações bem triadas, alguns cânceres de intervalo ainda ocorrem, os quais poderiam, potencialmente, ser evitados usando-se um método de triagem mais sensível, como o teste HPV<sup>298,299</sup>. A sensibilidade mais alta do teste HPV também leva a um valor preditivo negativo mais alto, sugerindo que o intervalo de triagem pode ser seguramente alongado se o teste HPV for usado<sup>290,291,300,301</sup>.

A *International Agency for Research on Cancer* (IARC) concluiu que há evidências suficientes de que o teste HPV pode reduzir a incidência e mortalidade por câncer cervical e que é provável que seja no mínimo tão eficaz quanto a citologia<sup>292</sup>.

### **3 OBJETIVO**

Verificar a acuidade do exame citológico para o diagnóstico do HPV a partir de citologias do colo uterino de mulheres portadoras do HIV, pela comparação com o método da reação em cadeia de polimerase (PCR).

## 4 PACIENTES E MÉTODOS

### 4.1 Considerações éticas

Este estudo é parte do “Programa multicêntrico para controle e prevenção das lesões cervicais de alto risco e do câncer cérvico-uterino em mulheres portadoras do HIV”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (ANEXO A), juntamente com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A), em 19/06/2002 (Parecer 085/02).

### 4.2 Pacientes

Foram estudadas 158 pacientes atendidas no Ambulatório de Ginecologia do CTR-DIP Orestes Diniz, regime de co-gestão entre a Prefeitura Municipal de Belo Horizonte e o Hospital das Clínicas da UFMG. O período de estudo foi de agosto de 2003 a julho de 2006.

Todas as pacientes foram submetidas a questionário padrão durante atendimento ginecológico no ambulatório (APÊNDICE B).

Realizaram-se anamnese, exame ginecológico completo, coleta de material para detecção do HPV pela PCR, coleta de material para colpocitologia oncótica, colposcopia e biópsia dirigida, quando indicada.

#### 4.2.1 Critérios elegíveis

##### A) População-alvo

- Mulheres portadoras do HIV, rastreadas pelo ELISA e confirmadas pela imunofluorescência indireta ou *Western Blot*, com ou sem AIDS.

##### B) População acessível

- Pacientes atendidas no ambulatório de ginecologia do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP) Orestes Diniz, com 18 anos ou mais de idade.

#### 4.2.2 Critérios não elegíveis

- Pacientes que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participar da pesquisa.
- Pacientes com impedimento para fornecer dados para o trabalho (barreira de linguagem, desorientação).
- Pacientes que tiveram suas amostras sem qualidade para a detecção do HPV por meio da reação em cadeia de polimerase (PCR).
- Pacientes hysterectomizadas.
- Gestantes.

### 4.3 Cálculo amostral

Para calcular o tamanho da amostra de pacientes a serem observadas neste estudo foi utilizado o programa Epi-info versão 6.04. A TAB. 1 mostra os diferentes tamanhos amostrais, de acordo com os níveis de significância e poder de estudo.

TABELA 1

Estudos de coorte e transversal não-emparelhados (expostos e não-expostos) tamanho amostral de 39% de doença no grupo não-exposto

<b>Conf.</b>	<b>Poder</b>	<b>Não- Exp:Exp</b>	<b>Doença nos exp.</b>	<b>Risco Relativo</b>	<b>Odds Ratio</b>	<b>Não- Exp.</b>	<b>Exp.</b>	<b>TOTAL</b>
95 %	80 %	1:1	78 %	2,00	5,55	29	29	58
90 %	80 %	1:1	78 %	2,00	5,55	24	24	48
95 %	80%	1:1	78 %	2,00	5,55	29	29	58
99 %	80%	1:1	78 %	2,00	5,55	41	41	82
99,9%	80%	1.1	78 %	2,00	5,55	58	58	116
95%	80%	1.1	78 %	2,00	5,55	29	29	58
95 %	90 %	1.1	78 %	2,00	5,55	36	36	72
95 %	95 %	1.1	78 %	2,00	5,55	43	43	86
95 %	99 %	1.1	78 %	2,00	5,55	59	59	118
95 %	80 %	4.1	78 %	2,00	5,55	72	18	90
95 %	80 %	3.1	78 %	2,00	5,55	57	19	76
95 %	80 %	2.1	78 %	2,00	5,55	44	22	66
95 %	80 %	1.2	78 %	2,00	5,55	21	42	63
95 %	80 %	1.3	78 %	2,00	5,55	18	55	73
95 %	80 %	1.4	78 %	2,00	5,55	17	67	84

Exp: exposto.

Fonte: Fleiss (1981)<sup>208</sup>.

**Fórmula:**  $M' = \text{Sq}\{c(a/2)*\text{Sqrt}[(r+1)*PQ]-c(1-b)*\text{Sqrt}[r*P1Q1+P2Q2]\}/(r*\text{Sq}[P2-P1])$

$$M = .25m'*\text{Sq}\{1+\text{Sqrt}[1+2*(r+1)/m'r*\text{Abs}[P2-P1]]\}$$

Foi estabelecido um  $\alpha=0,05$ , com nível de significância estatística de 95% e  $\beta=0,20$ , conferindo ao estudo um poder estatístico de 80%.

Com base em dados de estudo anterior, a prevalência de HPV entre as pacientes HIV positivo é de 73,2% e entre as soronegativas de 23,8%<sup>98</sup>.

O risco relativo para esses cálculos é de 2,0 e a *odds ratio* de 5,55.

O número de casos necessários para conferir o poder estatístico proposto era de 58, mas o tamanho amostral foi ultrapassado porque no período do estudo conseguiu-se obter mais pacientes do que inicialmente se havia sido planejado.

Quanto às perdas, das 158 pacientes que participaram do estudo, foram obtidas 109 lâminas, que foram revisadas no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG. Perderam-se 49 lâminas, que foram destruídas após dois anos de arquivo. Entretanto, o número de lâminas analisadas foi suficiente para o cálculo amostral.

#### 4.4 Métodos

É um estudo transversal, com componentes analíticos e descritivos. Para sua execução, algumas etapas bem definidas foram seguidas:

- **Etapa 1** – Normatização de procedimentos em relação ao exame e coleta do material cervical dos pacientes; instruções sobre o preenchimento do banco de dados; normas para diagnóstico e tratamento das lesões cervicais.
- **Etapa 2** – Exame das pacientes e coleta do material para diagnóstico e tratamento. Constituição do banco de dados.
- **Etapa 3** – Avaliação parcial dos resultados.

- **Etapa 4** – Término da coleta do material. Análise final.

#### 4.4.1 Exame físico

Todas as pacientes foram submetidas a exame ginecológico completo, com coleta de material para detecção do HPV e seus genótipos, coleta de material para citologia oncológica e colposcopia. As que apresentaram alterações colposcópicas foram submetidas à biópsia dirigida.

##### 4.4.1.1 Coleta de material para detecção do HPV e seus genótipos

Foi utilizada a PCR para detecção do HPV. Após a introdução do espéculo vaginal, antes de coletar-se o material para citologia oncológica, com o auxílio de uma espátula de Ayre fez-se um raspado cauteloso do colo uterino. Quebrou-se essa espátula com o intuito de diminuir o seu comprimento, colocando-a em um tubo de ensaio contendo aproximadamente 2 ml de soro fisiológico a 0,9%. O tubo foi rotulado com o nome completo da paciente, número de registro no serviço e data da coleta. A seguir, o tubo foi enviado ao Núcleo de Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) da UFMG. Caso não fosse possível o envio imediato, o mesmo era armazenado em geladeira. Todo material chegava ao laboratório em no máximo 24 horas. Foram utilizadas sondas para os tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35 do papilomavírus humano.

#### 4.4.1.2 Coleta de material para citologia oncótica

A coleta de material para citologia oncótica foi realizada com espátula de Ayre e escova endocervical (*cytobrush*). Os laudos foram emitidos segundo a classificação de Bethesda (1991).

#### 4.4.1.3 Colposcopia

O colposcópico empregado foi da marca Vasconcelos, modelo padrão com três aumentos.

**Técnica:** primeiro aplicava-se o ácido acético a 3% sobre o colo uterino com o objetivo de pesquisar áreas acetobranças. Após essa primeira avaliação colposcópica, o colo era corado com solução de Schiller e novamente observado ao colposcópico. Toda área iodo-negativo era estudada. O passo seguinte era a aplicação de solução de bissulfito de sódio a 5% para retirar o iodo. O ácido acético a 3% era reaplicado e novamente era realizado estudo colposcópico com o objetivo de identificar as imagens alteradas. A representação gráfica da lesão foi registrada no prontuário da paciente. Para a classificação colposcópica das lesões cervicais foi adotada a nomenclatura proposta pelo Comitê da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia (Roma, Itália, maio de 1990) - (ANEXO B).

#### 4.4.1.4 Biópsia dirigida do colo uterino

A biópsia foi realizada sob visão colposcópica usando-se a pinça Professor Medina ou similar. O material biopsiado foi fixado em formol a 10% e processado para estudo histopatológico na rotina do Serviço de Biópsia do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG.

#### 4.4.2 Exames laboratoriais

##### 4.4.2.1 Reação em cadeia de polimerase (PCR)

As amostras entregues ao NUPAD foram conservadas em geladeira a 4°C até seu processamento. Inicialmente, procedeu-se à homogeneização do material da amostra e transferiram-se todas as amostras para tubos *Eppendorf* para que se processasse a centrifugação por um minuto, a 14.000 rotações por minuto (rpm), para a formação de depósito no fundo do tubo (*pellet*). O sobrenadante foi desprezado e ao *pellet* foram adicionados 200 µl de resina quelante (*Chelex-100* a 20%). A mistura foi colocada em banho seco a 100°C por 20 minutos e guardada em geladeira até a preparação do *mix*, para o qual foram empregados os seguintes reagentes:

*MIX* para a PCR com *primers* genéricos para o HPV (MY09 e MY11):

<i>Buffer</i> (1X) 50mM de KCl; 4mM de MgCl <sub>2</sub> ; 10mM de Tris - HCl (pH 8,5)	
dNTPs (dexoxirribonucleotídeos trifosfato) .....	200 µM
Taq DNA polimerase .....	2,5 UI
<i>Primers</i> 1 e 2 (2,5 µl de cada um).....	5,0 µl (25 pmoles)
Água .....	28,5 µl
Total .....	40,0 µl

*MIX* para a *Nested PCR*:

<i>Buffer</i> (1X) 50mM de KCl; 4mM de MgCl <sub>2</sub> ; 10mM de Tris - HCl (pH 8,5)	
dNTPs (dexoxirribonucleotídeos trifosfato) .....	200 µM
Taq DNA polimerase .....	2,5 UI
<i>Primers Nested</i> 1 e 2 (1,0 µl de cada um).....	2,0 µl (10 pmoles)
Água .....	40,5 µl
Total .....	49,0 µl

*MIX* para a tipagem com *primers* alelo-específicos:

<i>Buffer</i> (1X) 50mM de KCl; 4mM de MgCl <sub>2</sub> ; 10mM de Tris - HCl (pH 8,5)	
dNTPs (dexoxirribonucleotídeos trifosfato) .....	200 µM
Taq DNA polimerase .....	2,5 UI
<i>Primers</i> tipo-específicos 1 e 2 (2,5 µl de cada um).....	5,0 µl (25 pmoles)
Água .....	33,5 µl
Total .....	45,0 µl

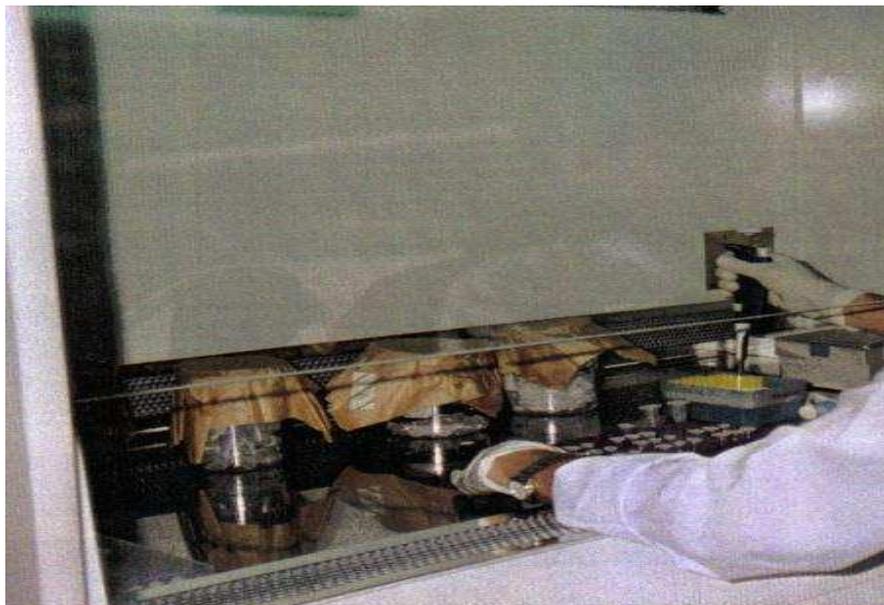


FIGURA 11 - Etapas da PCR: preparação do *mix* para a realização da PCR.

No *mix* da PCR com os *primers* genéricos para o HPV (geral), foram acrescentados 10 µl do DNA extraído; e no *mix* da *Nested* PCR foi adicionado 1 µl do produto da PCR realizada com os *primers* genéricos; no *mix* da PCR com os *primers* alelo-específicos foram acrescentados 5 µl do DNA extraído, completando o volume final de 50 µl e, após a adição do DNA, as amostras foram levadas ao termociclador por duas horas e 40 minutos, onde foi acionado o Programa de Amplificação composto das três etapas seguintes (cada reação de PCR possui um programa de amplificação específico, no qual o tempo e as temperaturas são variáveis):

- Desnaturação: o DNA de dupla-fita é separado em fitas únicas mediante brusca elevação da temperatura para 95° C.
- Anelamento: ocorre entre a cadeia original do DNA (agora já desnaturado) e a seqüência de nucleotídeos dos *primers*, que se ligarão à região inicial gênica a ser amplificada.
- Extensão: a extensão é desempenhada pela enzima *Taq* DNA polimerase, de modo que ambas as fitas de DNA sejam convertidas em quatro fitas. A PCR é concluída, geralmente, após 40 ciclos de reação.



FIGURA 12 - Amostras sendo colocadas no termociclador onde ocorrerão as etapas da PCR: desnaturação, anelamento e extensão.

Fonte: SOUZA (2000)<sup>100</sup>.

Depois de amplificados no termociclador, os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio, a partir da comparação visual com os fragmentos de DNA constituintes de um padrão de peso molecular conhecido.

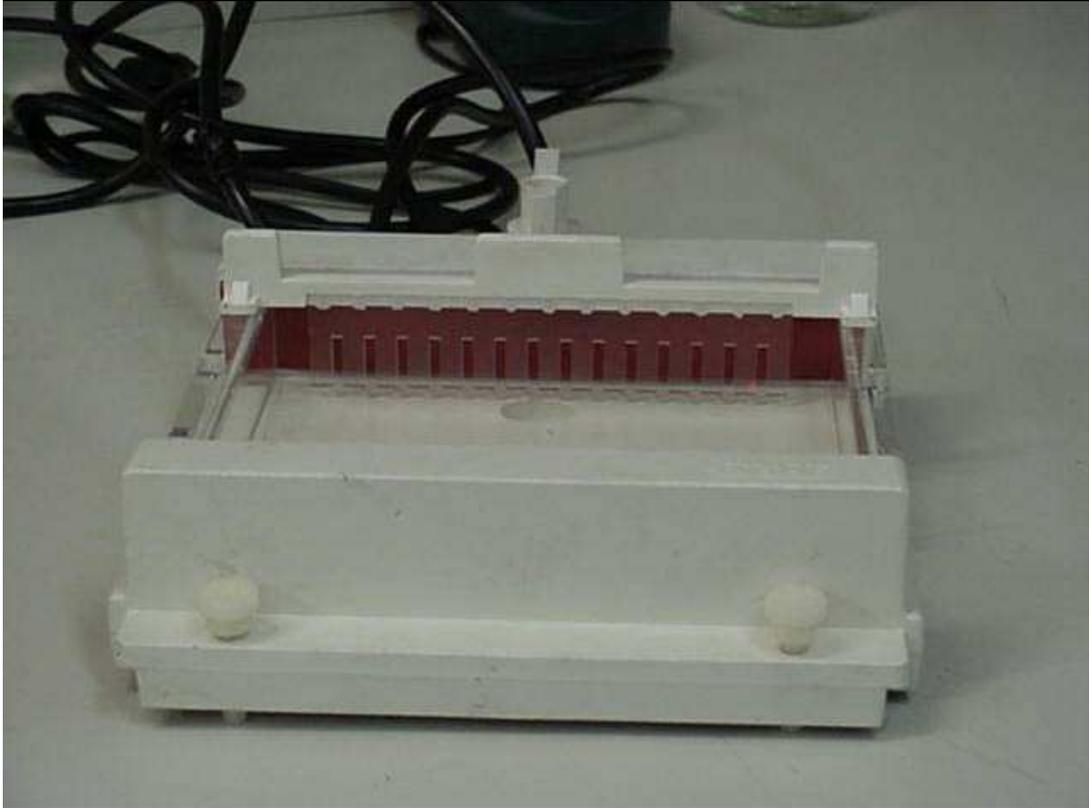


FIGURA 13 - Montagem de gel de agarose.

A agarose fundida é despejada nessa cuba de montagem, onde é deixada até a polimerização. Na figura pode-se ver o pente utilizado para a formação dos poços. Após o término da polimerização, o pente é retirado e em seu lugar ficam espaços cujo volume pode variar de 10 a 150  $\mu\text{l}$ , dependendo do volume de agarose e do sistema de montagem.

Para o controle da extração do DNA utilizou-se um par de *primers* que amplifica o gene da  $\beta$ -globina humano. A amplificação do gene de  $\beta$ -globina atesta a integridade das amostras de DNA extraídas, ou seja, existe DNA adequado para a reação de PCR.

Para a pesquisa dos tipos de HPV presentes nas amostras (tipagem), foram adotados dois procedimentos de PCR. Primeiramente, foi feito o *mix* de detecção, para o diagnóstico qualitativo. Quando o resultado foi positivo, procedeu-se à tipagem. A reação de detecção foi realizada a partir de PCR com um par de *primers* genéricos, seguida da reação de *Nested* PCR com um par de *primers* interno.

Após o anelamento desses iniciadores, um DNA polimerase termoestável utilizou as resultantes de 20 a 25 fitas duplas de base para conduzir 40 ciclos de PCR. Desse modo, foi possível realizar a tipagem a partir do DNA extraído empregando-se iniciadores específicos para cada tipo de HPV.

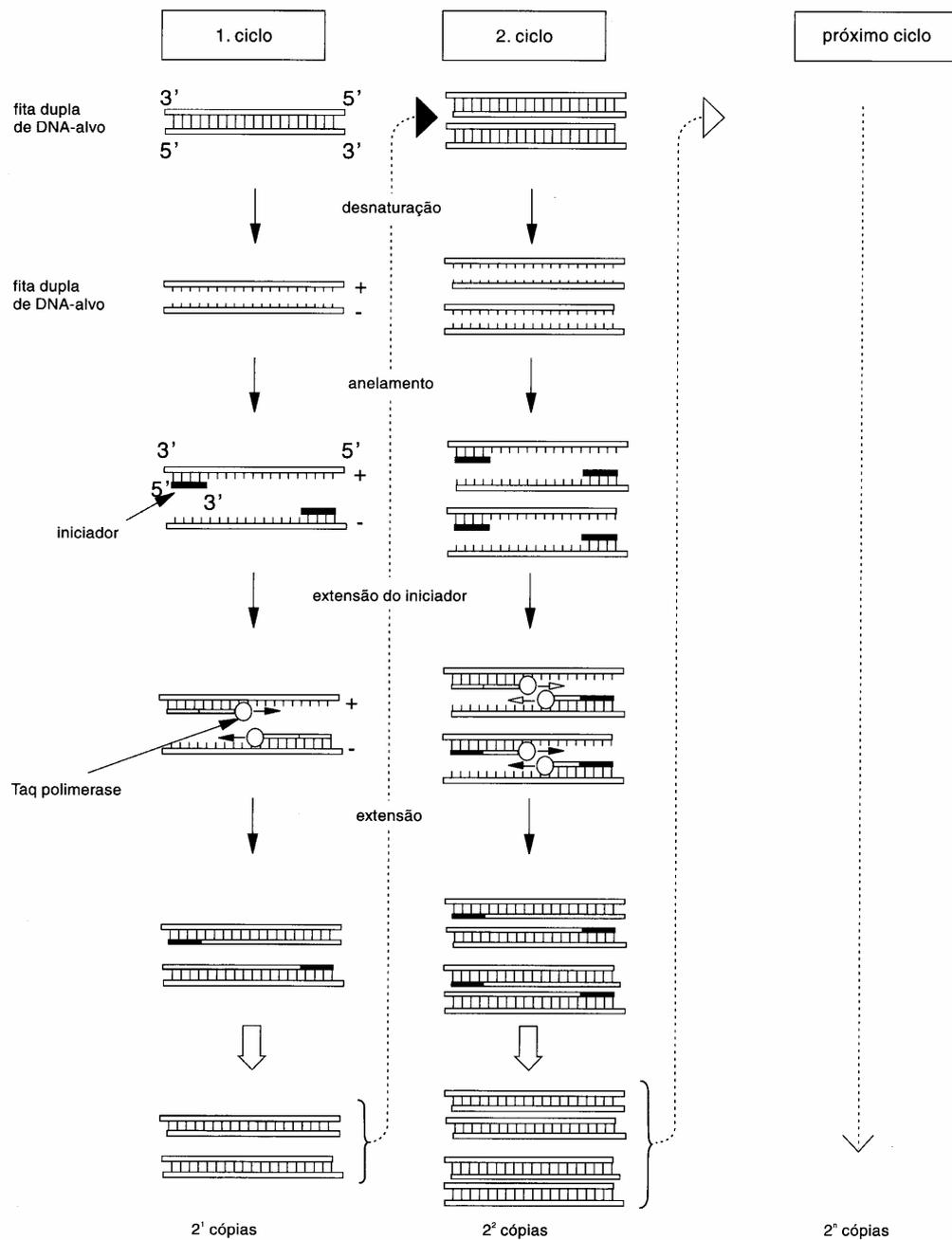


FIGURA 14 - Esquema ilustrativo das etapas da PCR.

As amostras de DNA sem qualidade suficiente foram excluídas e as positivas foram tipadas para os tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35, sendo utilizado um par de *primers* específico para a tipagem de cada tipo de HPV. Para cada amostra foram realizadas sete reações (6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35): uma para cada tipo a ser pesquisado.

TABELA 2

Interpretação dos resultados do procedimento da PCR

<b>Globina</b>	<b>Geral</b>	<b>Consensus</b>	<b>Resultado</b>
Negativo	Negativo	Negativo	Amostra sem qualidade
Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

O HPV foi classificado de acordo com seu potencial oncogênico em baixo risco (6, 11) e alto risco (16, 18, 31, 33 e 35).

Importante ressaltar que, para evitar a contaminação do DNA estranho, foram utilizadas salas independentes para cada uma das seguintes etapas: extração do DNA, preparação do *mix*, procedimentos da PCR e eletroforese.

TABELA 3

Esquema de iniciadores utilizados pelo NUPAD

<b>Tipo</b>	<b>Nº</b>	<b>Seqüência de Nucleotídeo</b>	<b>Região</b>	<b>Localização</b>
HPV 6	P1	5'-TAGGGGACGGTCCTCTATTC-3'	LCR	7195-7214
HPV 6	P2	5'-GCAACAGCCTCTGAGTCACA-3'	LCR	7434-7443
HPV 11	P1	5'-GAATACATGCGCCATGTGGA-3'	L1	6842-6861
HPV 11	P2	5'-AGCAGACGTCCGTCCTCGAT-3'	L1	7179-7198
HPV 16	P1	5'-TCAAAGCCACTGTGTCCTG-3'	E6	421-440
HPV 16	P2	5'-CGTGTCTTGATGATCTGCAA-3'	E6	540-521
HPV 18	P1	5'-TGGTGTATAGAGACAGTATACCCCA-3'	E6	265-289
HPV 18	P2	5'-GCCTCTATAGTGCCCAGGTATGT-3'	E6	512-490
HPV 31	P1	5'-TGAACCGAAAACGGTTGGTA-3'	E6	49-68
HPV 31	P2	5'-CTCATCTGAGCTGTCGGGTA-3'	E7	642-661
HPV 33	P1	5'-AGTAGGGTGTAACCGAAAGC-3'	E6	28-47
HPV 33	P2	5'-CTTGAGGACACAAAGGTCTT-3'	E6	429-448
HPV 35	P1	5'-GAATTACAGCGGAGTGAGGT-3'	E6	215-234
HPV 35	P2	5'-CACCGTCCACCGATGTTATG-3'	E6	485-504
LI	P1	5'-CGTAAACGTMCCCTATTTTTTTT-3'		(5500-5759)
Consensus	P2	5'-TACCCTAAATACTCTGTATTG-3'	L1	(5800-6000)
Geral	P1	3'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-5'	L1	7035-7054
Geral	P2	5'-GCMCAGGGWCATAAAYAATGG-3'	L1	6584-6603
$\beta$ -globina	P1	5'-CTAGCAACCTCAAACAGACA-3'		132-151
$\beta$ -globina	P2	5'-TGCCTATCAGAAACCCAAAGA-3'		316-335

Fonte: Gross e Barrasso (1999)<sup>302</sup>.

A interpretação dos resultados do procedimento da PCR foi descrita na TAB. 2 e os iniciadores utilizados no NUPAD foram descritos na TAB. 3.

A) Seqüência do *primer* geral interno (usado na *Nested* PCR):

P1 – TTT GTT ACT GTG GTA GAT AC

P2 – GAA AAA TAA ACT GTA AAT CA

Obs: Não se está usando o *primer consensus* e sim o geral interno no lugar dele.

B) Programas de amplificação usados no *Nupad*:

PCR – **Primer Geral, globina, tipos 16, 31 e 35**

94°C..... 1’  
 90°C.....30’’ }  
 54°C.....2’ } 30x  
 72°C.....1’ }  
 72°C.....10’  
 4°C .....16hs

PCR – **Primer Geral Interno (Nested)**

94°C..... 4’  
 94°C.....1’ }  
 45°C.....1’ } 40x  
 72°C.....1’ 30’’ }  
 72°C.....10’  
 4°C .....16hs

PCR – **Primer tipo 6**

94°C..... 1’  
 90°C.....30’’ }  
 56°C.....2’ } 30x  
 72°C.....1’ }  
 72°C.....10’  
 4°C .....16hs

PCR – **Primer tipo 11**

94°C..... 1’  
 90°C.....30’’ }  
 61°C.....2’ } 30x  
 72°C.....1’ }  
 72°C.....10’  
 4°C .....16hs

PCR – **Primer tipo 18**

94°C..... 1’  
 90°C.....30’’ }  
 58°C.....2’ } 30x  
 72°C.....1’ }  
 72°C.....10’  
 4°C .....16hs

PCR – **Primer tipo 33**

94°C..... 1’  
 90°C.....30’’ }  
 50°C.....2’ } 30x  
 72°C.....1’ }  
 72°C.....10’  
 4°C .....16hs

#### 4.4.2.2 Estudo histopatológico do colo uterino

Foi realizado pelo Serviço de Biópsias do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG, cujo exame foi feito por um único patologista, com padronização do laudo.

O material foi fixado em formol a 10% e processado para estudo histológico, sendo realizados cortes dos blocos de parafina com 5 µm de espessura, os quais foram corados com hematoxilina-eosina.

Com base na literatura, a análise e descrição histológica, neste estudo, seguiram a orientação de Wright *et al.* (1994)<sup>1</sup>, baseada na classificação proposta por Richart (1973)<sup>303</sup> - (ANEXOS C; D)

#### 4.4.2.3 Citologia

O exame foi feito pelo Serviço de Citopatologia do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG por um único citopatologista, com padronização do laudo. A classificação adotada foi a de Bethesda, 1991 (ANEXO E).

#### 4.4.2.4 Coleta de material do colo uterino

O esfregaço citológico cérvico-vaginal de rastreamento incluiu amostras da endocérvice e ectocérvice. Foi colhido o material, de preferência com a espátula de Ayre, fazendo-se uma rotação de 360° e recolhendo-o da ectocérvice e da junção escamocolunar (JEC).

A coleta endocervical foi feita com a escovinha, fazendo-se um movimento circular no canal cervical. Para proceder-se ao esfregaço, a lâmina foi dividida em duas metades longitudinais. Em uma metade foi feito o esfregaço endocervical e na outra o ectocervical.

Um movimento rotatório impedia a formação de agregados de células, que são de difícil interpretação<sup>148,304,305</sup>.

#### 4.4.3 Fixação e fixadores

O objetivo da fixação é preservar o estado morfológico das células. A fixação dos esfregaços deve ser imediata para evitar-se a dessecação que deforma as células e altera suas afinidades tintoriais. O agente fixador não deve ser tóxico ou volátil e seu preço deve ser razoável. Por esses motivos, o álcool foi o fixador de escolha, em forma líquida.

##### 4.4.3.1 Qualidade da amostra

Uma amostra satisfatória deve estar adequadamente identificada, vir acompanhada de dados clínicos pertinentes e conter elementos representativos do epitélio escamoso e da junção escamocolunar de boa qualidade em quantidade adequada. O sistema de Bethesda

para relatórios cérvico-vaginais estabelece que devam estar presentes células escamosas bem preservadas e bem visualizadas em mais de 10% da superfície da lâmina. A representação adequada da junção escamocolunar fornece, pelo menos, dois agrupamentos de células endocervicais ou metaplásicas preservadas com no mínimo cinco células cada.

Esses critérios não se aplicam aos esfregaços atróficos, quando as células metaplásicas não podem ser diferenciadas das células escamosas basais, nem para pacientes sem colo uterino<sup>78</sup>.

O sistema de Bethesda define como amostras “satisfatórias, porém limitadas”, aquelas em que os dados clínicos não são fornecidos, as células escamosas estão parcialmente mascaradas por intensa reação inflamatória, hemorragia, artefatos de ressecamento ou espessura de agrupamentos celulares prejudicando a visualização de 50 a 75% das células presentes e as sem representação da junção escamocolunar<sup>78</sup>.

São considerados “insatisfatórios” os esfregaços recebidos sem identificação ou com lâminas quebradas que não podem ser reparadas, com menos de 10% da superfície da lâmina com células preservadas, com mais de 75% de mascaramento das células por intensa reação inflamatória, hemorragia, artefato de ressecamento ou de espessura dos agrupamentos celulares. Caso uma dessas características esteja presente, mas haja elementos celulares anormais, não se aplica a denominação “insatisfatório”<sup>78</sup>.

#### 4.4.3.2 Coloração

A coloração de Papanicolaou é hoje universalmente utilizada em citologia genital e foi também adotada no presente estudo. O corante nuclear é a hematoxilina que por oxidação pelo óxido de mercúrio se transforma em hemoteína. A hematoxilina cora o núcleo em azul, pelo alume de potassa. Os corantes citoplasmáticos mais empregados são a eosina (EA36 e EA50), em combinação com o orange (OG6)<sup>148,304</sup>.

#### 4.4.4 Técnica de preparo das lâminas de citologia no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG

A técnica de Papanicolaou é o método de rotina de escolha, por fornecer morfologia nuclear fidedigna, com a clara demonstração translúcida do citoplasma. A variabilidade do corante citoplasmático nas variações hormonais não é uma desvantagem se o mais fidedigno índice de cariopícnose é usado para avaliação.

##### 4.4.4.1 Preparação dos corantes

###### A) Hematoxilina de Harris

Esta é uma hematoxilina alume quimicamente amadurecida com óxido de mercúrio. É um propósito geralmente útil da hematoxilina e, particularmente, proporciona uma mancha nuclear clara. Por essa razão, tem sido usada no diagnóstico citológico exfoliativo, com a eosina contrastando com a mancha. Na rotina histológica, usa-se a hematoxilina de Harris

regressivamente, mas na citologia exfoliativa pode ser usada mancha progressiva. A mancha é preparada como se segue:

Hematoxilina.....	2,5 g
Álcool absoluto.....	25 cm <sup>3</sup>
Alume potássica.....	50 g
Água destilada .....	500 cm <sup>3</sup>
Óxido de mercúrio .....	1,25 g
Ácido acético glacial.....	20 cm <sup>3</sup>

A hematoxilina é dissolvida no álcool absoluto e adicionada ao alume, que está previamente dissolvido em água destilada quente em garrafa de dois litros. A mistura é rapidamente trazida para a fervura e o óxido de mercúrio é então adicionado. A mancha é rapidamente resfriada e colocada em um frasco de água fria ou mergulhada em recipiente contendo gelo. Quando a solução está fria, o ácido acético é adicionado e a mancha está pronta para uso imediato. O ácido acético glacial é opcional, mas sua inclusão dá mais precisão e seletividade à mancha do núcleo.

#### B) O.G.6.

Solução de Orange G. (0,5% em 95% de álcool etílico)	100 cm <sup>3</sup>
Ácido Fosfotungstênio	0,015 g
c-EA 50	
<i>Light green</i> S.F. ( 0,1 em 95% de álcool etílico).....	45 cm <sup>3</sup>
<i>Bismarck brown</i> ( 0, 5 em 95% de álcool etílico).....	10 cm <sup>3</sup>
<i>Eosin yellowish</i> ( 0,5 em 95% de álcool etílico).....	45 cm <sup>3</sup>

Ácido fosfotungstênio.....	0,2 g
Carbonato de Lítio (solução saturada aquosa).....	1 gota

### Método

1. Lavar em álcool a 95%.
2. Lavar em álcool a 70%.
- 3- Lavar em água destilada.
- 4- Corante de hematoxilina de Harris por cinco a 30 segundos.
- 5- Lavar em água destilada.
- 6- Lavar em álcool a 95%.
- 7- Tratar com 0,1 de amônia em álcool a 95% por um minuto.
- 8- Lavar em álcool a 95%.
- 9- Corante de O.G.6 por 90 segundos.
- 10- Lavar em álcool a 95% por duas vezes.
- 11- Corante EA 30 por 90 segundos.
- 12- Lavar em álcool a 95% duas vezes.
- 13- Lavar em álcool absoluto duas vezes.
- 14- Lavar em xylol duas vezes.
- 15- montar em Entelan usando lamínulas de 24x50.

### Resultados

Núcleo – azul

Células superficiais citoplasmáticas – rosa

Células intermediárias e parabasais citoplasmáticas – azul e verde<sup>306</sup>.

#### 4.4.5 Critérios citológicos para diagnóstico de HPV

##### 4.4.5.1 Critérios definidores para HPV (Clássicos)

- Coilocitose : alteração em células escamosas intermediárias maduras contendo um, dois ou mais núcleos discarióticos. Ocorre grande cavidade ou área clara que circunda o núcleo proeminente, com bordas bem definidas. A zona periférica amíúde apresenta-se em borrão.
- Disceratose: células espalhadas ou em grupos tridimensionais que demonstram pleomorfismo celular (formas caudadas ou alongadas) e/ou aumento de tamanho e atipia nuclear.

##### 4.4.5.2 Critérios prováveis para HPV (Não Clássicos)

- Binucleação e/ou multinucleação: presença de dois ou mais núcleos.
- Halo perinuclear: apresenta-se como uma área clara nítida em volta do núcleo, formando um halo. O núcleo freqüentemente perde detalhes do envelope nuclear e a cromatina pode estar agrupada irregularmente.
- Irregularidade nuclear: determina formatos nucleares bastante diversos.
- Hiper Cromasia nuclear: representada pelo hiper cromatismo nuclear e ausência de irregularidades, tanto na cromatina como na membrana nuclear.

Neste trabalho foram usados somente os critérios clássicos, para o diagnóstico citológico do HPV.

#### 4.4.6 A citometria de fluxo para a contagem de linfócitos T CD4

A contagem de linfócitos T CD4 foi realizada a partir de anticorpos monoclonais para uso comercial e da citometria de fluxo (*Becton Dickinson*). O número absoluto dos linfócitos T CD4 foi calculado com base na contagem total de linfócitos.

Foram aceitas as dosagens de linfócitos T CD4 realizadas pelo Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG ou Laboratório Central da PBH, cujos laudos constam no prontuário médico, porque esses laboratórios fazem parte da rede de CD4 do Ministério da Saúde e usam *kit* e equipamento do mesmo fabricante.

Foi considerado na análise o valor mais baixo da contagem de linfócitos T CD4 mais próximo da data da coleta para PCR nos seis meses que antecederam até seis meses após a data da coleta para PCR. A descrição da técnica está no ANEXO F

#### 4.4.7 Método de quantificação da carga viral do HIV

Foram aceitos os laudos existentes em prontuário médico das dosagens da carga viral pelos testes:

- *Nuclisens* HIV-1 RNA QT, tecnologia NASBA (amplificação de ácidos nucléicos baseada em seqüência) do fabricante *Organon Teknika*, com limite de detecção de 400 cópias/ml e 80 cópias/ml e no máximo de  $1 \times 10^7$  cópias/ml (ORGANON TEKNIKA, 1997);

- *Quantiplex HIV RNA 3.0*, tecnologia bDNA (*branched chain deoxyribonucleic acid* – utiliza moléculas de DNA ramificadas) do fabricante Bayer com limite inferior de detecção de 50 cópias/ml e superior de, no máximo, 500.000 cópias/ml (BAYER, 2000).

Os dois testes foram realizados no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular – DIP da Faculdade de Medicina da UFMG ou pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED) – Instituto Octávio Magalhães divisão de epidemiologia e controle de doenças – Laboratório de Virologia. Ambos fazem parte da rede nacional de quantificação da carga viral do HIV do Ministério da Saúde com as devidas padronizações de equipamento e *kit*.

Considerou-se na análise a dosagem de carga viral mais alta e mais próxima da data da coleta de material cervical para PCR no intervalo entre um ano antes e seis meses após a data da coleta para PCR. O teste de quantificação da carga viral HIV RNA foi o *Nuclisens HIV-1QT* (NASBA; *Organon Teknika*). A sensibilidade de detecção usada neste estudo foi de 80 HIV-RNA cópias/ml. A descrição das técnicas está no ANEXO G.

#### 4.4.8 Coleta dos dados

##### 4.4.8.1 Presença ou ausência de NIC

Foi considerada com NIC a paciente que apresentou biópsia mostrando tal diagnóstico, independentemente do grau da neoplasia. As pacientes que tiveram resultado

histopatológico normal e cervicite de qualquer grau ou infecção pelo HPV foram consideradas não portadoras de NIC.

As pacientes que tiveram a biópsia positiva para NIC foram categorizadas em NIC I, NIC II, NIC III.

#### 4.4.9 Método estatístico

As informações coletadas foram digitadas em um banco de dados desenvolvido no EpiInfo versão 6.04 e os resultados descritivos apresentados na seção de resultados foram obtidos através da listagem e frequência das características das diversas variáveis.

A comparação de variáveis categóricas foi realizada através de tabelas de contingência sendo utilizado o teste do qui-quadrado com correção de Yates para comparação de proporções. Quando uma das frequências esperadas foi menor que 5 foi utilizado o teste de Fisher.

Na comparação de testes diagnósticos foram calculados a sensibilidade, especificidade e razões de verossimilhança.

As razões de verossimilhança são uma forma de descrever um desempenho de um teste diagnóstico. Elas resumem o mesmo tipo de informação que a sensibilidade/especificidade e podem ser utilizadas para calcular a probabilidade de doença depois de um teste positivo ou negativo. Uma das vantagens da razão de verossimilhança é que ela permite descrever

a acurácia de um teste de resultados numéricos em diversos pontos de corte de resultado. Outra vantagem é ser menos susceptível em função da prevalência da doença.

Uma RVP é a probabilidade de um teste positivo para uma pessoa com a doença de interesse dividida pela probabilidade de um teste positivo para uma pessoa sem a doença de interesse. Matematicamente, a RVP é calculada da seguinte maneira:  $\text{sensibilidade}/1 - \text{especificidade}$ .

Uma RVN é a probabilidade de um teste negativo para uma pessoa com a doença de interesse, dividido pela probabilidade de um teste negativo, para uma pessoa sem a doença de interesse. Matematicamente, a RVN é calculada como:  $1 - \text{sensibilidade}/\text{especificidade}$ .

Embora de certo modo arbitrário, um valor de RVP igual ou maior que 10 frequentemente é percebido como uma indicação de um teste de elevado valor diagnóstico. Também de forma arbitrária, um valor de RVN igual ou menor que 0,1 geralmente é percebido como uma indicação de um teste com elevado valor diagnóstico.

#### 4.4.10 Método bibliográfico

Para a redação do texto e referência bibliográfica deste estudo foi consultado o Manual para normalização de publicações técnico-científicas de França *et al.*<sup>308</sup>. A revisão bibliográfica foi obtida no Medline, Lilacs e livros textos.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características demográficas e comportamentais

Foram avaliadas 158 pacientes soropositivas para HIV e coletadas citologia e PCR da cérvix uterina.

A idade do grupo variou de 20 a 61 anos, com mediana de 35 anos e média de 35,8 anos  $\pm$  8,3 anos.

Em relação à escolaridade, quatro pacientes não souberam informá-la, enquanto a maioria possuía apenas o primeiro grau (70,9%).

O início da atividade sexual foi com 16 anos ou menos em 35,4% da amostra. A faixa etária para o início da atividade sexual variou entre 11 e 32 anos, com mediana de 18 anos. Apenas duas mulheres não informaram a idade da coitarca.

A forma de contágio em 91,8% dos casos foi heterossexual. Doze pacientes (7,6%) desconheciam a forma de contágio e apenas uma (0,6%) relatou contágio pelo uso de drogas.

O grupo de mulheres solteiras ou separadas representou 43,7% da amostra, enquanto 27,8% eram casadas e 12,7% eram viúvas. Relataram união estável 15,8% das mulheres avaliadas.

Quanto ao número de parceiros sexuais em toda a vida, 55,7% tiveram um a três parceiros, 38% tiveram entre quatro e 10 e quatro pacientes não informaram o número de parceiros sexuais. Esses resultados são apresentados na TAB. 4.

TABELA 4

Características demográficas e comportamentais de mulheres infectadas pelo HIV (n=158)

<b>Variáveis</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Escolaridade		
Analfabeta	0	0,0
I grau	112	70,9
II grau	37	23,4
III grau	5	3,2
Sem informação	4	2,5
Estado civil		
Solteira/separada	69	43,7
Casada/amaziada	44	27,8
Viúva	20	12,7
União estável	25	15,8
Tipo de trabalho		
Do lar	81	51,3
Fora do lar	75	47,5
Profissionais do sexo	1	0,6
Ignorado	1	0,6
Forma de contágio		
Heterossexual	145	91,8
Hemotransusão	1	0,6
Desconhecida	12	7,6
Número de parceiros em toda a vida		
1	21	13,3
2-3	67	42,4
4-10	60	38,0
Acima de 10	6	3,8
Desconhecida	4	2,5
Atividade sexual		
Ativa	133	84,2
Inativa	25	15,8
Uso de drogas injetáveis		
Sim	0	0,0
Não	157	99,4
Já usou	1	0,6
Tabagismo		
Sim	40	25,3
Não	98	62,0
Ex-tabagista	20	12,7

## 5.2 Características ginecológicas e obstétricas

A mediana em relação ao número de gestações e paridade foi de três gestações e dois partos. Oito pacientes (5,1%) eram nuligestas; 22 (13,9%) tiveram de cinco a 10 filhos e uma paciente relatou 15 partos. Relataram aborto 62 pacientes (39,2%).

Exames de rotina sem queixas foram relatados por 119 (75,3%) pacientes. As queixas principais, em ordem decrescente, foram: massa pélvica (5,1%), lesão vulvar ou vaginal (4,4%), prurido (3,8%), amenorréia (3,2%), corrimento vaginal e dor pélvica, com 1,9% cada. Sete (4,4%) tiveram suas queixas agrupadas em “outras”.

Apenas 15,8% das pacientes relataram inatividade sexual. Entre as mulheres com vida sexual ativa, 33,5% usavam preservativo, 23,4% submeteram-se à salpingotripsia e anticoncepcional oral isolado e preservativo associado a outro método foram relatados por 7,0% cada. Esses resultados são apresentados na TAB. 5.

TABELA 5

Características ginecológicas e obstétricas de mulheres infectadas pelo HIV (n=158)

<b>Variáveis</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Contraceção atual		
Preservativo	53	33,5
Antinconcepcional oral	11	7,0
Dispositivo uterino	1	0,6
Injetável	6	3,8
Salpingotripsia	37	23,4
Vasectomia	2	1,3
Método natural	7	4,4
Preservativo associado a outro método	11	7,0
Nenhum	5	3,2
Sem atividade sexual	25	15,8

### 5.3 Características clínicas

A maior parte das pacientes (75,3%) procurou o serviço para consulta ginecológica de rotina.

O uso de anti-retrovirais foi confirmado por 65,8% delas, com tempo médio de 57 meses  $\pm$  34,6 meses, com mediana de 60 meses.

De acordo com a classificação do CDC de 1993, o grupo estudado apresentou 80 (51,3%) pacientes HIV positivo (categorias A1; A2; B1 e B2) e 76 (48,4%) aidéticas (categorias A3; B3; C1; C2 e C3). Duas não puderam ser classificadas com base no CDC.

Em 22 pacientes (13,9%), o CD4 estava abaixo de 200/mm<sup>3</sup>; em 69 (43,7%) entre 200 e 499/mm<sup>3</sup> e em 63 (39,9%) era maior ou igual a 500/mm<sup>3</sup>. Em quatro o CD4 não estava disponível. Esses resultados estão apresentados na TAB. 6.

A carga viral foi indetectável em 50 mulheres e em seis os valores não foram determinados. Nas outras 102, a média foi de 32.433  $\pm$  60.633, com mediana de 9.663 e amplitude entre 54 e 333.037.

TABELA 6

Características clínicas de mulheres infectadas pelo HIV (n=158)

<b>Variáveis</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Uso de anti-retrovirais		
Sim	104	65,8
Não	54	34,2
Classificação do CDC		
HIV positivo (categorias A1, A2, B1 e B2)	80	51,3
Aidéticas (categorias A3, B3, C1, C2 e C3)	76	48,4
Sem classificação	2	0,3
Níveis de CD4		
<200/mm <sup>3</sup>	22	13,9
200-499/mm <sup>3</sup>	69	43,7
500/mm <sup>3</sup>	63	39,9
Não disponível	4	2,5
Carga viral		
Indetectável	50	31,6
Não determinada	6	3,7
Detectável	102	64,5

#### 5.4 Achados colposcópicos e citológicos

O exame clínico-ginecológico de 119 pacientes (75,3%) apresentava-se normal e em 30 (19,0%) estava alterado. Nove (5,7%) não tinham resultado do exame colposcópico.

Características não colposcópicas sugestivas de alterações metaplásicas foram observadas em 72 (45,6%) pacientes, alterações menores em 24 (15,2%) e alterações maiores em seis (3,8%).

A biópsia foi realizada em 44 casos, sendo a cervicite o resultado mais descrito, em 12 (27,3%) pacientes. Alterações sugestivas de HPV foram verificadas em apenas três (6,8%) das mulheres e HPV com alterações NIC I ou III em 13 (29,5%) das pacientes. Três biópsias (6,8%) ainda estavam sem resultado definitivo.

A colpocitologia oncótica foi normal em 50 (31,6%) pacientes e com alterações inflamatórias em 83 (52,5%). Esses resultados são apresentados na TAB. 7.

TABELA 7

Achados citológicos e colposcópicos da amostra estudada

Variáveis	n	%
Colposcopia		
Normal	119	75,3
Alterada	30	19,0
Ignorada	9	5,7
Alterações do colo		
Características não colposcópicas sugestivas de alterações metaplásicas	72	45,6
Alterações colposcópicas menores	24	15,2
Alterações colposcópicas maiores	6	3,8
Não se aplica	51	32,3
Ignorado	5	3,2
Colpocitologia oncótica		
Normal (inclui metaplasia escamosa e alterações celulares benignas)	50	31,6
Alterações inf. (inclui infecções por bactérias, fungos ou protozoários)	83	52,5
HPV + NIC qualquer grau	4	2,5
NIC I	7	4,4
NIC II	1	0,6
Aguardando resultado	3	1,9
ASCUS	8	5,1

### 5.5 Tipos de HPV identificados através da PCR

A pesquisa de DNA-HPV pelo método da PCR foi positiva em 106 casos (67,1%); 28 (17,7%) tinham infecção por apenas um tipo de HPV (infecção simples), sendo o mais prevalente o 6, presente em 50% das pacientes com apenas um tipo e em 8,8% do total de pacientes. A PCR foi positiva para mais de um tipo de HPV (infecção múltipla) em 78 mulheres (49,3%). Entre estas, as associações mais frequentes foram: 6/16 (14,1% dos casos) e 6/16/35 (16,6% dos casos) - (TAB. 8 e 9). A comparação da idade de início da atividade sexual ( $\leq 16$  anos *versus*  $> 16$  anos) não está associada à infecção pelo HPV no presente estudo (OR=0,92; IC95%=0,43-1,96 e valor-p=0,94).

TABELA 8

Tipos de HPV (infecção simples) em 28 pacientes infectadas pelo HIV

<b>Tipos do HPV</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
6	14	50,0
11	3	10,7
16	2	7,1
18	1	3,6
31	1	3,6
33	3	10,7
35	4	14,3
Total	28	100,0

TABELA 9

Tipos de HPV (infecção múltipla) em 78 pacientes infectadas pelo HIV (ordem decrescente)

<b>Tipos do HPV</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
6/16/35	13	16,7
6/16	11	14,1
6/11	6	7,7
6/11/16/33/35	6	7,7
6/35	5	6,4
6/11/16/35	4	5,1
6/11/16	3	3,8
6/11/16/33	3	3,8
6/11/16/13/35	3	3,8
11/16	2	2,6
16/31	2	2,6
6/16/33	2	2,6
16/18	1	1,3
16/33	1	1,3
16/35	1	1,3
11/33	1	1,3
6/33	1	1,3
11/16/35	1	1,3
16/31/33	1	1,3
6/11/35	1	1,3
16/31/35	1	1,3
11/31/35	1	1,3
11/33/35	1	1,3
6/16/31/33	1	1,3
6/16/31/35	1	1,3
6/16/33/35	1	1,3
6/11/16/18/33/35	1	1,3
6/11/16/31/33/35	1	1,3

Foram avaliadas lâminas de 109 mulheres, das quais 97 (89%) apresentaram resultados normais, seis (5,5%) alterações prováveis e seis (5,5%) alterações definidas, como as do HPV. A comparação entre citologia e PCR para HPV mostrou sensibilidade baixa (15,8%) e especificidade máxima (100,0%).

TABELA 10

Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e a PCR em  
109 mulheres infectadas pelo HIV

Citologia	PCR		Total
	Positiva	Negativa	
Positiva	12	0	12
Negativa	64	33	96
Total	76	33	109

Teste de Fisher  $p = 0,10$

Sensibilidade = 15,8%, IC95%: [9,6-27,5]

Especificidade = 100,0%, IC95%: [86,7-100,0]

Valor preditivo positivo = 100,0%, IC95%: [71,7-100,0]

Valor preditivo negativo = 33,3%, IC95%: [24,2-43,8]

Razão de verossimilhança positiva  $\cong$  infinidade positiva

Razão de verossimilhança negativa = 0,83

A comparação entre achados citológicos sugestivos de HPV e número de HPV's identificados pela PCR está apresentada na TAB. 11. Na TAB. 12 essas alterações citológicas são comparadas com pacientes que apresentaram até dois tipos de HPV e aquelas que apresentaram três ou mais.

TABELA 11

Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e número de HPVs identificados  
à PCR em 109 mulheres infectadas pelo HIV

Número de HPVs (PCR)	Citologia		Total
	Positiva	Negativa	
Zero	0	33	33
Um	1	15	16
Dois	6	17	23
Três	3	14	17
Quatro	2	10	12
Cinco	0	7	7
Seis	0	1	1
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>97</b>	<b>109</b>

TABELA 12

Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e número de HPVs identificados  
pela PCR em mulheres infectadas pelo HIV

Citologia	Número de HPVs identificados pela PCR		Total
	Três ou mais	Dois ou menos	
Positiva	5	7	12
Negativa	32	65	97
Total	37	72	109

Teste de Fisher  $p = 0,11$

Sensibilidade = 13,5%, IC95%: [5,1-29,6]

Especificidade = 90,3%, IC95%: [80,4-95,7]

Valor preditivo positivo = 41,7%, IC95%: [16,5-71,4]

Valor preditivo negativo = 67,0%, IC95%: [56,6-76,0]

Razão de verossimilhança positiva = 1,39

Razão de verossimilhança negativa = 0,97

As alterações citológicas apresentaram baixa sensibilidade na identificação de um ou mais tipos de HPV com elevado potencial carcinogênico, mas com especificidade elevada na identificação de HPV com baixo risco (TAB. 13).

TABELA 13

Diagnóstico de HPV utilizando a citologia e o tipo de HPV's identificados pela PCR em mulheres infectadas pelo HIV

Citologia	Tipo de HPV identificado pela PCR		Total
	Alto risco	Baixo risco	
Positiva	9	3	12
Negativa	51	13	64
Total*	60	16	76

Teste de Fisher  $p = 0,47$

Sensibilidade = 15,0%, IC95%: [7,5-27,1]

Especificidade = 81,3%, IC95%: [53,7-95,0]

Valor preditivo positivo = 75,0%, IC95%: [42,8-93,3]

Valor preditivo negativo = 20,3%, IC95%: [11,7-32,6]

Razão de verossimilhança positiva = 0,80

Razão de verossimilhança negativa = 0,82

\* 33 mulheres não apresentaram HPV e não estão incluídas nesta tabela

Na TAB. 14 pode ser observado que as mulheres com citologia positiva para HPV têm 5,6 vezes a chance de exibir neoplasia cervical intra-epitelial comparadas às mulheres com citologia negativa.

TABELA 14

Comparação entre citologia positiva e neoplasia intra-epitelial

	NIC	Sem NIC	Total
Citologia			
Positiva	4	8	12
Negativa	8	89	97
Total	12	97	109

Odds ratio = 5,56 (1,11-27,49)

Valor de p bicaudal teste de Fisher = 0,03

## 5.7 Imunossupressão e HPV

Apenas quatro pacientes não tinham valores de CD4 entre as 91 (59,1%) que apresentaram valores abaixo de 500. Não houve relação entre frequência de infecção por HPV identificado pela citologia e níveis de CD4 ( $p=0,70$ ) (TAB. 15). Também não foi observada associação entre pacientes HIV positivo e pacientes aidéticas com HPV identificado pela citologia (TAB. 16).

TABELA 15

Comparação do diagnóstico de HPV pela citologia relacionado com níveis de CD4

CD4 (cél./mm <sup>3</sup> )	HPV (Citologia)		Total
	Positivo	Negativo	
≥ 500	5	41	46
200-499	6	44	50
<200	1	11	12
Total	12	96	108*

Qui-quadrado com correção de Yates,  $p=0,90$

\* uma paciente com citologia negativa não tinha valor de CD4

TABELA 16

Diagnóstico de HPV pela citologia em pacientes portadoras do HIV (com e sem AIDS)

Status da paciente	HPV (citologia)		Total
	Positivo	Negativo	
AIDS	7	44	51
Não AIDS	5	53	58
Total	12	97	109

Qui-quadrado com correção de Yates,  $p=0,58$

TABELA 17  
 Comparação entre idade e resultado da colpocitologia oncótica

Idade	Alterada		Normal		OR	IC95%	Valor-p
	n	%	n	%			
<30 anos	25	23,8	11	22,0	1,11	0,46-2,71	0,96
Igual ou acima 30 anos	80	76,2	39	78,0	1,0		

Três mulheres estavam sem resultado, todas com mais de 30 anos

Mulheres com idade abaixo de 30 anos não apresentam maior proporção de exames alterados sem tendência de significância estatística.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Características demográficas e comportamentais

No grupo estudado, a idade variou entre 20 e 61 anos, com mediana de 35 anos e média de 35,8 anos, com desvio-padrão de 8,3 anos. O início da atividade sexual foi com 16 anos ou menos em 35,4% da amostra. A faixa etária para o início da atividade sexual variou entre 11 e 32 anos, com mediana de 18 anos. Apenas duas mulheres não informaram a idade da coitarca.

Um estudo<sup>317</sup> de 371 mulheres portadoras de infecção cérvico-vaginal pelo HPV encontrou a coitarca mais precoce aos 10 anos e a mais tardia aos 50 anos, com média de 19,1 anos. No grupo-controle (114 pacientes), ocorreram, respectivamente, 11, 34 e 19,2 anos.

O início precoce da atividade sexual está relacionado com a infecção pelo HPV e é considerado fator de risco de câncer de colo uterino. A infecção pelo HPV foi mais comum em mulheres jovens, sexualmente ativas, segundo Pereira, Guerra e Villa (1996)<sup>309</sup> e a maioria das mulheres que desenvolveram o câncer do colo uterino iniciou a atividade sexual antes dos 18 anos de idade<sup>310</sup>.

No estudo realizado por Arora *et al.*<sup>197</sup> examinando 160 mulheres quanto à condição HPV, a maioria das HPV positivo (75%) pertencia ao grupo de idade mais jovem (20-39 anos), enquanto 25% eram do grupo de idade mais alta (40-60). A média de paridade foi de três ou mais e 50% tiveram o primeiro coito aos 18 anos de idade ou menos.

Dores *et al.*<sup>317</sup> revelaram em seu artigo que a presença de infecção pelo HPV não guarda relação com a idade de início da atividade sexual, indo ao encontro do presente trabalho, que também não constatou diferença com significância estatística.

Um outro trabalho (1997)<sup>311</sup> estudando um grupo de 615 mulheres com sinais citológicos de infecção pelo papilomavírus humano (HPV) revelou que 69,88% iniciaram a atividade sexual antes dos 18 anos, contra 56,4% de 649 mulheres do grupo-controle sem sinais citológicos de infecção pelo HPV. Isto demonstra que o início da atividade sexual antes dos 18 anos está relacionado com a infecção pelo HPV.

A forma de contágio em 91,8% foi heterossexual e era desconhecida por 12 pacientes (7,6%); apenas uma (0,6%) declarou contágio pelo uso de drogas.

Souza *et al.*<sup>100</sup>, estudando o diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões do colo uterino em mulheres HIV positivo, encontraram 91,8% de transmissão heterossexual, 6,1% desconheciam a forma de contágio e apenas uma paciente (2%), atribuiu a infecção à hemotransusão.

Estudando a prevalência do papillomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não portadoras do vírus da imunodeficiência humana, Campos *et al.*<sup>98</sup> verificaram, como forma predominante de contágio, a heterossexual (97%).

O grupo de mulheres solteiras ou separadas representou 43,7% da amostra, enquanto 27% eram casadas e 12,7% eram viúvas. Revelaram união estável 15,8% das mulheres

avaliadas. Quanto ao estado civil, foram separadas por categorias, o que, na realidade, representou a presença ou não de um parceiro fixo.

O estado civil mostrou-se uma variável importante, uma vez que pacientes casadas apresentaram percentagem mais baixa que as mulheres com outros estados civis<sup>318,319,320</sup>.

No grupo de mulheres HIV positivo avaliou-se o diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões do colo uterino, obtendo-se 44,8% de solteiras ou separadas, 39,6% de casadas e 8% viúvas<sup>100</sup>.

No estudo sobre aspectos epidemiológicos da infecção cérvico-vaginal pelo papillomavírus humano, a porcentagem de infecção pelo HPV foi significativamente mais baixa nas pacientes casadas do que nas solteiras ou de outros estados civis<sup>317</sup>.

Em relação à escolaridade, quatro pacientes não souberam informá-la, enquanto a maioria possuía apenas o primeiro grau (70,9%). No estudo sobre a relação da displasia/neoplasia cervical e a infecção pelo HIV e HPV concomitantemente<sup>312</sup>, as HSIL e o câncer cervical relacionaram-se ao baixo grau de instrução.

A prevalência do papillomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não portadoras do vírus da imunodeficiência humana foi de 75% nas pacientes HIV positivo que possuíam apenas o primeiro grau, enquanto 25% tinham completado o segundo grau<sup>98</sup>.

## 6.2 Características obstétricas e ginecológicas

Quanto à paridade, a mediana aqui encontrada foi de três gestações e dois partos. Oito pacientes (5,1%) eram nuligestas, 22 (13,9%) tiveram cinco a 10 filhos e 62 (39,2%) relataram aborto.

Mediana de dois (duas gestações e dois partos) em relação ao número de gestações e paridade foi encontrada por Souza *et al.*<sup>100</sup>. Duas pacientes (4,1%) eram nuligestas e 10 (20,4%) possuíam cinco a 11 filhos.

Massa pélvica foi a queixa mais freqüente na primeira consulta (5,1%), seguida de lesão vulvar ou vaginal (4,4%). Corrimento vaginal foi a queixa de somente 1,9%.

Arora *et al.*<sup>197</sup>, examinando 160 mulheres para verificar a prevalência de HPV tipos 16 e 18 em esfregaços citológicos negativos, registraram vários sintomas ginecológicos, como: corrimento vaginal, dor no andar inferior do abdômen, prurido vulvar e queimação ao urinar. Essas queixas foram muito mais comuns no grupo HPV positivo. Nesse mesmo trabalho, foi verificado que a positividade HPV era mais alta em mulheres com erosões cervicais e hipertrofia do colo, o que foi considerado estatisticamente significante.

Uma avaliação<sup>313</sup> de pacientes HIV positivo internadas detectou doenças ginecológicas em 83%. Os problemas mais comuns foram: vaginites (51%); displasia cervical (45%); condilomatose genital (23%); herpes genital (20%); e doença inflamatória pélvica (15%). Os sintomas como preditores de doença ginecológica tiveram sensibilidade de 76%; valor preditivo de 95%; e valor preditivo negativo de 41%, o que significa que a toda soropositiva para HIV deve ser oferecido um exame ginecológico, com o objetivo de diagnosticar doenças assintomáticas.

Entrevista com 292 mulheres HIV positivo que já haviam sido internadas por causas obstétricas ou ginecológicas antes e depois do diagnóstico de infecção por HIV revelou que as causas que mais motivaram as internações foram: doença inflamatória pélvica (34%); gravidez ectópica (13%); aborto espontâneo (10%); e histerectomia (10%). Os autores<sup>314</sup> chamam a atenção dos ginecologistas e obstetras para a importância de se fazer um diagnóstico precoce de infecção pelo HIV, reduzindo-se, assim, a transmissão heterossexual e perinatal. Entre as sexualmente ativas, 81% utilizavam métodos contraceptivos, sendo o preservativo a contracepção mais utilizada (33,5%), seguida pela salpingotripsia (23,4%). Das 158 pacientes da presente amostra, 15,8% relataram inatividade sexual.

Apenas 20,4% das pacientes utilizavam métodos contraceptivos, sendo que 42,9% delas faziam uso de anticoncepcional e 42,9% de condom<sup>100</sup>.

### 6.3 Achados citológicos, colposcópicos e histológicos

Entre as pacientes estudadas, a colposcopia esteve alterada em 30 (19%); e 119 (75%) apresentavam exame colposcópico normal. Nove (5,7%) não tinham resultado do exame colposcópico. Foram realizadas 44 biópsias, das quais a ocorrência mais descrita foram 12 cervicites (27,3%). Alterações sugestivas de HPV foram observadas em apenas três (6,8%) e HPV com alterações NIC I ou NIC III em 13 (29,5%). Três biópsias ainda estavam sem resultado definitivo.

Comparando achados de colposcopia e histopatopatologia em 248 pacientes HIV positivo, alguns autores<sup>109</sup> demonstraram que a colposcopia possui sensibilidade de 79% e especificidade de 32%. No presente estudo, a citologia mostrou características prováveis de HPV em seis (5,5%) e seis (5,5%) com alterações definitivas de HPV. Metanálise<sup>201</sup> envolvendo 28 estudos para verificar a acurácia da citologia para diagnosticar NIC em mulheres soropositivas para HIV encontrou sensibilidade de 58% e especificidade de 69%. Os autores comprovaram com os resultados a grande limitação da citologia como instrumento de acompanhamento em populações de alto risco para NIC. Estudo<sup>109</sup> relacionando achados de citologia com os da histologia em 248 pacientes HIV positivo confirmou o valor limitado da citologia para o diagnóstico de NIC. Das 168 citologias normais, 87 (52%) tinham HPV à histologia e 31(18,5%) tinham algum grau de displasia (sensibilidade = 60%; especificidade = 81%). Esses resultados já tinham sido encontrados em estudos menores<sup>2,243</sup>.

A acurácia da citologia no *screening* de neoplasia cervical intra-epitelial avaliada em mulheres com o vírus da imunodeficiência humana revelou sensibilidade de 60% e especificidade de 80% para todos os graus de NIC e sensibilidade de 83% e especificidade de 74% para NIC de alto grau. A prevalência da citologia anormal foi de 32,9% em mulheres infectadas pelo HIV e 7,6% em mulheres soronegativas<sup>109</sup>.

Uma metanálise da precisão<sup>201</sup> do exame de Papanicolaou em 28 estudos de triagem relatou sensibilidade média de 58% e especificidade média de 69%. Entretanto, enquanto a sensibilidade e a especificidade da citologia em mulheres HIV soropositivas eram consistentes com as da população em geral, a citologia apresentou graves limitações como uma ferramenta em populações de alta prevalência para NIC.

A sensibilidade e a especificidade nos testes de Papanicolaou para detecção de NIC, nas mulheres HIV soropositivas, foram de 81 e 87%, respectivamente<sup>1</sup>. Se as mulheres com células atípicas de significado indeterminado fossem excluídas da análise, os percentuais seriam de 73 e 97%, respectivamente.

Analisada a acurácia da citologia como método de rastreio em 130 mulheres HIV soropositivas avaliadas em um estudo transversal descritivo, a sensibilidade e a especificidade do método em detectar casos de HPV e NIC foram de 78 e 57%, respectivamente<sup>253</sup>.

Na comparação da hibridização molecular com a citologia, quando se usa somente a coilocitose como critério citológico, a concordância com a citologia é de 48%; quando, no entanto, esse critério é ampliado (disqueratose, discariose, binucleação ou multinucleação), a concordância se faz em 75% das vezes<sup>169</sup>.

A sensibilidade total da citologia na detecção de NIC atingiu 76% e a especificidade 93%<sup>191</sup>. O índice de sensibilidade da citologia na detecção de cada grupo mostrou aumento progressivo de 52,6% para NIC I, 82,6% para NIC II e 100% para NIC III. A sensibilidade, particularmente, mostrou que a citologia é especialmente importante no reconhecimento de lesão de alto grau do sistema Bethesda.

A validação da citologia cervical foi estudada<sup>204</sup> em Munique, Alemanha, usando-se 748.871 citologias de 277.842 mulheres por um período de 10 anos, obtendo-se sensibilidade total de 80% e especificidade de 99,4% para triagem do câncer cervical. A

sensibilidade era levemente mais baixa para displasia leve e moderada (78%) e levemente mais alta para carcinoma *in situ* e displasia grave (81,4%) e carcinoma invasor (82,3%).

Em outro estudo de quatro anos (1980-1983), realizado em Minesota, EUA<sup>199</sup>, foram examinadas 339 pacientes que tiveram malignidades cervicais comprovadas. Destas, 66 tinham esfregaços Papanicolaou falso-negativos, representando um total de de 20% do índice de falso-negativo.

Numa revisão sistemática da acurácia do teste de Papanicolaou na triagem e acompanhamento de anormalidades citológicas<sup>192</sup>, a sensibilidade no limiar LSIL/NIC variou de 17 a 99% e a especificidade variou de 9 a 100%. Para o limiar LSIL/NIC II e III, a sensibilidade era mais alta (variação de 44 a 99%) e a especificidade mais baixa (variação de 91 a 98%).

A sensibilidade do esfregaço de Papanicolaou em população HIV soropositiva foi de 63%, semelhante à sensibilidade de 64% na população-controle. A especificidade do esfregaço de Papanicolaou foi de 84% nas mulheres HIV soropositivas e 74% nas do grupo-controle. Os autores<sup>244</sup> concluíram que a sensibilidade do teste de Papanicolaou não parece diminuir em mulheres HIV soropositivas.

A pesquisa sobre a adequação da citologia no diagnóstico de neoplasia cervical em mulheres HIV soropositivas estimou a sensibilidade da citologia, com referência à NIC I, como 65%<sup>243</sup>.

Del Priore *et al.*<sup>250</sup>, no seu trabalho sobre o valor da citologia cervical em mulheres infectadas pelo HIV, compararam os achados histológicos e acharam as seguintes características: sensibilidade 57%, especificidade 96%, valor preditivo positivo 96% e valor preditivo negativo 39%.

O exame de 196 mulheres para um protocolo morfológico da citologia cervical uterina associada à infecção pelo HPV revelou sensibilidade de 25,5%, especificidade de 84,4% e valor preditivo positivo de 26,8% quando casos suspeitos foram agrupados com casos positivos. Quando casos suspeitos foram agrupados com casos negativos, a sensibilidade diminuiu 10,8%, enquanto a especificidade e o valor preditivo positivo aumentaram (96,3 e 39,3%, respectivamente<sup>69</sup>).

Na citologia de encaminhamento, 105 mulheres com atipias pré-neoplásicas na citologia oncológica tinham 57% de sensibilidade e 82% de especificidade e razão de verossimilhança positiva (RVP) de 3,2 para o diagnóstico de NIC II e III<sup>321</sup>. No serviço de referência, a citologia mostrou sensibilidade de 79% e especificidade de 84% e RVP de 5,0. A sensibilidade (86%), especificidade (80%) e RVP (4,3) foram semelhantes às da revisão lenta realizada pelo segundo observador, havendo queda significativa da sensibilidade (64%) na revisão rápida efetuada pelo terceiro observador. A captura híbrida II mostrou alta sensibilidade (100%), baixa especificidade (43%) e baixa RVP (1,7).

#### 6.4 Tipos de HPV Identificados pela PCR

Entre as 106 (67%) pacientes com resultados positivos para HPV dados pela PCR, 28 (17,7%) tinham infecção por apenas um tipo de HPV (infecção simples), sendo o mais

prevalente o tipo 6, presente em 50% das pacientes com apenas um tipo e em 8,8% do total de mulheres; e o tipo 16, presente em 62 delas com PCR positiva para HPV (58%). A infecção por múltiplos tipos de HPV foi observada em 78% das pacientes (49,3%). Entre elas, as associações mais frequentes foram 6/16 (14,1% dos casos) e 6/16/35 (16,6%) dos casos.

Em estudo prospectivo, multicêntrico<sup>315</sup> utilizando PCR, não se registraram diferenças significativas na proporção de diferentes tipos de HPV entre os grupos de 398 pacientes HIV positivo e 307 pacientes HIV negativo. A infecção por tipos não identificados foi mais prevalente em ambos os grupos. Os HPVs 16 e 18 estiveram presentes em 11% dos casos de HIV positivo e em 12% dos soronegativos. Os tipos 16 e 18 manifestaram-se em 21% dos soropositivos e em 28% das soronegativas.

A prevalência de HPV varia com o método de detecção utilizado<sup>316</sup>. A infecção múltipla é mais observada quando se utiliza o PCR. As combinações mais frequentes encontradas por esses autores foram HPV 6/11 e 16/18. Verificou-se, ainda, que em colos uterinos com lesão de baixo grau as infecções por múltiplos tipos de HPV eram mais frequentes, enquanto nas lesões de alto grau a infecção simples predominou. O HPV 16 foi predominante nas pacientes com carcinoma cervical. Em colos normais, o HPV 11 foi o mais frequente.

Investigação sobre a prevalência do papillomavírus humano no câncer cervical, uma perspectiva mundial<sup>93</sup>, detectou o HPV DNA em 93% dos tumores, sem variação significativa na positividade HPV entre os países. O HPV 16 estava presente em 50% dos espécimes, o HPV 18 em 14%, o HPV 45 em 8% e o HPV 31 em 5%. O HPV 16 foi o tipo

predominante em todos os países, exceto na Indonésia, onde o HPV 18 foi o mais comum. Em tumores de células escamosas, o HPV 16 predominou (51% das espécimes), mas o HPV 18 foi o mais encontrado em adenocarcinomas (56% de tais tumores) e tumores adenoescamosos (39% de tais tumores).

A análise dos genótipos HPV em 236 mulheres, sendo 135 HIV positivo e 101 HIV negativo, estabeleceu os HPVs 16 e 18 como os mais freqüentes. Entretanto, entre as mulheres HIV positivo, esses genótipos estavam freqüentemente associados à SIL em 18 (75%) casos com HPV 16 e 18 detectados e somente quatro (25%) dos 16 casos existentes entre HIV negativo<sup>128</sup>.

No presente estudo, a questão da prevalência dos subtipos do HPV está em consonância com a literatura pesquisada. O HPV 6 foi o mais prevalente, seguido pelos HPVs 16 e 35. A infecção múltipla foi mais freqüente em relação às infecções por somente um subtipo de HPV.

### 6.5 Imunossupressão e HPV

Na TAB. 15, quando se faz a comparação entre freqüência de infecção por HPV identificado pela citologia e níveis de CD4, não foi encontrada associação significante. Do mesmo modo, não foi observada associação entre pacientes HIV positivo e pacientes aidéticas com HPV identificado pela citologia, como está exemplificado na TAB. 16. No presente estudo, quando o diagnóstico de HPV pela PCR (“padrão ouro”) foi comparado aos resultados citológicos, verificou-se que a citologia apresentou sensibilidade de 15,8%;

especificidade de 100%; valor preditivo positivo de 100%; e valor preditivo negativo de 33,3%.

Ficou, portanto, demonstrado que a citologia para a pesquisa de HPV em pacientes infectadas é confiável quando o resultado é positivo. O número elevado de falso-negativos (84,2%) sugere repetir a citologia a cada seis meses, quando o resultado for negativo. Na literatura pesquisada, não foram encontrados trabalhos comparando os resultados da citologia e PCR para o diagnóstico de HPV em mulheres soropositivas, valorizando ainda mais a importância desta pesquisa.

#### 6.6 Citologia *versus* PCR para HPV

A citologia diagnosticou alterações definitivas para o HPV em seis (5,5%) casos e seis (5,5%) alterações prováveis e 97 (89%) tinham resultados normais. A prevalência desse vírus foi de 69,7% quando se utilizou a PCR.

No estudo de prevalência realizado no CTR-DIP (Belo Horizonte)<sup>98</sup> encontraram-se 73% de diagnóstico de HPV. Para outros autores<sup>109</sup>, a prevalência de HPV dada pela PCR foi de 75,1% nas mulheres HIV positivo.

O objetivo deste trabalho está representado na TAB. 10, que demonstra que a PCR foi positiva em 76 (69,7%) das 109 pacientes estudadas, enquanto a citologia foi positiva em 12 (15,8%). A citologia não fez o diagnóstico em 64 (84,2%), nas quais a PCR foi positiva.

Não houve falso-positivo e sempre que a citologia foi positiva, a PCR confirmou a existência do vírus.

Usando PCR como teste padrão para infecção pelo HPV<sup>283</sup>, a sensibilidade dos outros testes para a infecção na cérvix uterina estava em ordem decrescente: colposcopia (85%), histologia (44%) e citologia (19%). Segundo outros autores<sup>253</sup>, a sensibilidade da citologia em detectar os casos de HPV e NIC foi de 78% e a especificidade de 57% mulheres HIV soropositivas/AIDS. Outros autores demonstraram taxas parecidas, que confirmam a limitação do método em rastrear as populações de alto risco de NIC, como média de sensibilidade de 58% e de especificidade de 69%<sup>201</sup> e de 60 e 81%, respectivamente<sup>109</sup>.

A razão de verossimilhança positiva, também chamada de razão de probabilidade, é a probabilidade de um teste positivo para uma pessoa com a doença de interesse dividida pela probabilidade de um teste positivo para uma pessoa sem a doença de interesse. Matematicamente, a  $RV+$  é calculada da seguinte maneira  $RV+ = \text{sensibilidade} / (1 - \text{especificidade})$ . O valor mais baixo possível de  $RV+$  ocorre quando o numerador é minimizado (sensibilidade = 0), produzindo uma  $RV+$  de zero. O valor máximo de  $RV+$  ocorre quando o denominador é minimizado (especificidade = 1, então,  $1 - \text{especificidade} = 0$ ), resultando em uma  $RV+$  de infinidade positiva<sup>322</sup>. No presente estudo, a  $RV+$  apresentou infinidade positiva, indicando que um resultado positivo tem chance praticamente total de ser de um paciente acometido.

Analogamente, quanto menor a razão de verossimilhança negativa, mais forte a associação entre ter um teste negativo e ser saudável<sup>322</sup>. No presente estudo, a  $RV-$  apresentou valor 0,83, indicando que o teste negativo sinaliza maior probabilidade de ser de um paciente

saudável, porém não é confiável pois está muito próximo da unidade. Valor igual a 1 indica um teste sem valor para determinar pessoas com e sem a doença de interesse, uma vez que a probabilidade de um teste negativo é igual entre pessoas afetadas e não afetadas pela doença de interesse. Uma das principais vantagens da razão de verossimilhança (positiva ou negativa) é que ela não varia como uma função da prevalência da doença, ao contrário dos valores preditivos.

A TAB. 11 compara achados citológicos sugestivos de HPV com o número de HPVs identificados. Não foi estatisticamente significante se a presença de maior número de HPVs sinalizaria mais acuracidade aos achados citológicos definidores de HPV. A TAB. 12 mostra a comparação do diagnóstico de HPV utilizando a citologia e o número de HPV identificado pela PCR em mulheres infectadas. A razão de verossimilhança negativa igual a 0,96 sinaliza maior probabilidade de que o teste seja bom para eliminar a doença, porém não é confiável, porque está próximo da unidade; e a razão da verossimilhança positiva igual a 1,39 não fornece qualquer informação sobre a probabilidade de doença, porque indica um teste sem valor para determinar as pessoas com e sem a doença de interesse, já que a probabilidade de um teste positivo é igualmente provável para pessoas afetadas e não afetadas.

As alterações citológicas que apresentaram baixa sensibilidade na identificação de um ou mais tipos com elevado potencial carcinogênico, mas com especificidade elevada na identificação de HPV com baixo risco, estão identificadas na TAB. 13. A razão de verossimilhança positiva igual a 0,80, muito baixa, não aprova o diagnóstico, porém, a razão de verossimilhança negativa igual a 0,82 indica bom resultado para eliminar a possibilidade da doença.

Na TAB. 14, observa-se que das 12 pacientes com citologia positiva para HPV, quatro (33,3%) apresentaram neoplasia intra-epitelial (NIC). Desta forma, foi possível comprovar que entre mulheres portadoras do HIV, nas infectadas pelo HPV, a chance de desenvolver displasia cervical é de 5,7 (1,13-28,1) vezes, comparadas às não infectadas por HPV.

A relação entre NIC e HPV DNA está bem reconhecida. A variável independente mais fortemente associada à NIC foi a presença de HPV DNA nos esfregaços cérvico-vaginais (OR=9,8), seguida de infecção pelo HIV (OR=3,5)<sup>1</sup>.

A NIC associada ao HPV é significativamente freqüente entre mulheres HIV soropositivas. Há forte correlação entre NIC e a gravidade da displasia de um lado e imunodepressão HIV induzida de outro<sup>249</sup>.

Em uma metanálise de cinco estudos epidemiológicos publicados entre 1986 e 1990, verificou-se<sup>240</sup> que o risco de desenvolver NIC era cinco vezes mais alto em mulheres HIV positivo comparadas com as HIV negativo, com os mesmos fatores de risco.

A associação entre as várias classes de HPV e SIL em mulheres HIV positivo foi mostrada por Coppiello *et al.*<sup>128</sup>. Em mulheres HIV positivo o diagnóstico de HPV em nível cervical estava associado ao diagnóstico de SIL (OR=7,71). A associação foi confirmada entre as mulheres HIV soropositivas com subtipos de HPV de alto risco (OR=3,02).

Em um estudo sobre anormalidades citológicas cervicais e HPV, realizado em 67 mulheres, encontraram-se 17 (25%) com citologias anormais reconhecidas pelo exame

preventivo. Estas incluíam 14 das 35 (40%) HIV positivo e três das 32 (9%) HIV negativo (OR=6,4)<sup>130</sup>.

Verifica-se, na TAB. 15, que não houve relação entre a frequência de infecção pelo HPV identificado pela citologia e níveis de CD4; e, na TAB. 16, que também não existiu associação entre pacientes HIV positivo e pacientes HIV/AIDS com HPV identificados pela citologia. Na literatura pesquisada para o presente trabalho, não foram encontradas tais associações.

Este estudo corrobora o que está estabelecido na literatura, ou seja, no rastreamento citológico as taxas de falso-negativos parecem ser altas. Uma população específica como a deste estudo (pacientes HIV soropositivas) constitui um grupo especial de pacientes conhecidas por serem mais propensas à infecção pelo HPV e NIC, devido à imunossupressão. Conseqüentemente, as mulheres HIV soropositivas requerem vigilância clínica especial do seu trato genital inferior, para permitir a detecção inicial e erradicação da infecção pelo HPV e NIC. Nessa vigilância, a PCR tem se mostrado um procedimento diagnóstico mais sensível na detecção dos precursores do câncer cervical, quando comparada com a citologia.

## **7 CONCLUSÃO**

A citologia mostrou especificidade de 100% para o diagnóstico de HPV, comparado à PCR, o que significa dizer que quando a citologia foi positiva, o HPV certamente estava presente. No entanto, a baixa sensibilidade retira da citologia o valor como rastreamento para a infecção pelo HPV.

No presente estudo, a razão de verossimilhança positiva apresentou infinidade positiva, indicando que um resultado positivo tem chance praticamente total de ser de uma paciente acometida.

## REFERÊNCIAS

- 1- Wright TC, Ellerbrock TV, Chiasson ME. *et al.* New York cervical Disease Study. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with immunodeficiency virus: Prevalence, risk, factors, and validity of Papanicolaou smears. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 591-7.
- 2- Maiman M, Tarricone N, Vieira J. *et al.* Colposcopic evaluation of human immunodeficiency virus- seropositive women. *Obstet Gynecol* 1991;78:84-8.
- 3- Sun WW, Ellerbrock TV, Chiasson MA. *et al.* Human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive women. *Obstet Gynecol* 1995;85:680-6.
- 4- Koss LG. The Papanicolaou test for cervical cancer detection: a triumph and a tragedy. *J Am Med Assoc* 1989;261:737-43.
- 5- Lorincz AT. Human papillomavirus detectin tests. *In: Holmes KK, Mardh PA, Sparlig PF, Wiemer PJ, eds. Sexually transmitted diseases. New York: mcGraw-Hill 1990:953-959.*
- 6- Cuzick J, Beverley E, Ho L. *et al.* HPV testing in primary screening of older women. *Br J Cancer* 1999;81:554-558.
- 7- Clavel C, Masure M, Bory JP. *et al.* 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* 1999;80:1306-11.
- 8- Sasieni PD, Cuzick J, Lynch Framey E. Estimating the efficacy of screening by auditib smear histories of women with and without cervical cancer. *Br J cancer*1996; 73: 1001-5.
- 9- Bafverstedt B. Condyloma acuminata. Past and present. *Acta Derm.Venereol*;1967;47:376-381.
- 10- Hunter J. Treatise on the venereal disease. London, 1786. pp. 250 apud Oriel JD, 1971.
- 11- Ricord P. Traité pratique das maladies veneriennes. De Just Rouvier and E, Le Bouvier, Paris. 1838; apud Oriel, J.D. 1971.
- 12- Barret TJ, Silbar JD, McGinley. Genital warts: A venereal disease. *J Am Med Assoc*, 1954;154:333-4.
- 13- Oriel JD. Natural history of genital warts. *Br. J. Vener Dis*, v. 47, 1-13, 1971.
- 14- Gissmann L. Papillomavirus and human oncogenesis. *Curr Op in Gen and Develop* 1992;2:97-102.

- 15- Schlecht NF, Kuaga S, Robitaille J. *et al.* Persistent Human Papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 2001; 286: 3106-3114.
- 16- Ferencic A. Management of patients with high grade squamous intraepithelial lesions. *Cancer* 1995;76(suppl):1928-1933.
- 17- Ferenczy A, Mitao M, Nagai N. *et al.* Latent papillomavirus and recurring genital warts. *N Engl J Med* 1985;313: 784.
- 18- Franco E. Cancer causes revisited: human papillomavirus and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87(11): 779-80.
- 19- Villa L. O papel do papillomavirus humano na neoplasia genital feminina:in Tratado de Oncologia Genital e Mamária. Editora Roca, SP; 1994.
- 20- De Villiers EM, Wagner D, Scheneider A. *et al.* Human papillomavirus DNA in women without and with cytological abnormalities results of a 5 year follow study. *Ginecol Oncol*,1992; 44: 33-9.
- 21- Jenson AB, Kurman RJ, Lancaster WD. Tissue effects of and the host response to human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol Clin* 1987; North  $\square$ âncer $\square$  14(2):397-406.
- 22- Pakarian F, Kaye J, Cason J. *et al.* Cancer associated human papillomaviruses: perinatal transmission and persistence. *Br J Obstet Gynecol* 1994;101:514-7.
- 23- Cason J, Kaye JN, Jewers RJ. *et al.* Perinaal infection and persistence of human papailomavirus types 16 and 18 in infants. *J Med Virol* 1995;47:209-18.
- 24- Kaye JN, Starkey WG, Kell B. *et al.* Human papillomavirus type 16 infants: use of DNA sequence analyses to determine the source of infection. *J Gen Virol* 1996; 77: 1139-43.
- 25- Tseng CJ, Liang CC, Soong YK. *et al.* Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: relationship between infection rate and mode of delevery. *Obstet Gynecol* 1998; 91:92-6.
- 26- Barnes, L. *et al.* Verruca vulgarisof the larynx. Demonstration of human papillomavirus type 6/11 by in situ hybridization. *Arch Pathol Lab Med* 1991;115:895-9.
- 27- Bindu, NS, Radhakrishna AP. Oncogenesis of squamous carcinoma of uterine cervix. *Int Gynecol Pathol* 1992;11:47-57.
- 28- Charlotte F. *et al.* Detection and typing of human papillomavirus in cervical smears by na original application of the polymerase chain reaction. *Mol Cell Probes* 1991;5:445-50.

- 29- Duggan, MA. *et al* Adenocarcinoma *in situ* of endocervix human papillomavirus determination by dot blot hybridization and polymerase chain reaction amplification. *Int j Gynecol Pathol* 1994;13:14309.
- 30- Higgins, GP. *et al*. High prevalence of human papillomavirus transcripts in all grades of cervical intraepithelial glandular neoplasia. *Cancer* 1992;70:136-46.
- 31- Hording M. *et al*. Human papillomavirus type 11 in a fatal case of esophageal and bronchial papillomatosis. *Scand J Infect Dis* 1989;21:229-31.
- 32- Kahn T, Scharz E, Zur Hausen H. Molecular cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus (HPV30) from laryngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1986; 37: 61-5.
- 33- Schiffman M, Bauer H, Hoover R. *et al*. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Nat Cancer Inst* 1993;85:958-964.
- 34- Villa LL. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Adv. Cancer Res*, 1997: 71;321-41).
- 35- Caussy D. *et al*. Interaction of immunodeficiency and papilloma viruses association with anal epithelial abnormality in homosexual men. *Int J Cancer* 1990;46:214-9.
- 36- Maden MM. *et al*. Human papillomavirus, herpes simplexvirus and the risk of oral cancer in men. *Am J Epidemiol* 1992;135:1093-102.
- 37- Zur Hausen H. Papillomavirus in anogenital cancer an model to understand the role of viruses in human cancers. *Cancer Res* 1989; 49: 4677-81.
- 38- Chen, SL. *et al*. Identification and typing of human papillomavirus in cervical cancer in Taiwan. *Cancer* 1993;72:1939-45.
- 39- Eluf-Neto J, Booth M, Muñoz N. *et al*. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. *Brit J Cancer* 1994;69:114-119.
- 40- Hirsch-Behnam, A. *et al*. A comparative sequence analysis of two human papillomavirus (HPV) types 2a and 57. *virus Res* 1990;18:81-98.
- 41- Schiffman MH. *et al*. Comparison of southern blot hybridization and polymerase chain reaction methods for the detection of human papillomavirus DNA. *J Clin Microbiol* 1991; 29:573-7.
- 42- Manos MM. *et al*. Use the Polymerase Chain reaction amplification for the detection of genital human papillomavirus. *Cancer Cells* 1989;7:209-14.
- 43- Pao CC. *et al*. Human papillomaviruses and small cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1991;43:206-10.

- 44- Nelson H. *et al.* Human papillomavirus in oral premalignant lesions. *J Oral Oncol Eur J Cancer* 1996;32:264-70.
- 45- Kellokoski JK. *et al.* Oral mucosal changes in women with genital HPV infection. *J Oral Pathol Med* 1990;19:142-8.
- 46- Burk RD, Kelly P, Feldman J. *et al.* Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection age as independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996;23:333-41.
- 47- Ho GYF, Bierman R, Beardsley L. *et al.* Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *New Eng J Med* 1998; 338(7):423-428.
- 48- Jacyntho C, Almeida Filho G, Maldonado P. HPV: infecção genital feminina e masculina. Rio de Janeiro: Revinter, 1994; 1-30.
- 49- Hewitt J, Pelisse M, Paniel BJ. Infection and parasitic disease of the vulva in *Disease of the vulva*. McGraw-Hill Book Company, London 1991; 29-62.
- 50- Riethmuller D, School JP, Morigon C. Epidemiology and natural history of genital infection by human papillomavirus. *Ginecol Obst Fert* 2002;30(2):139-146.
- 51- Hatch KD. Vulvovaginal human papillomavirus infections: clinical implications and management. *Am J Obst Gynecol* 1991;165:183-188.
- 52- Carvalho JJM, Oyakawa NI. *Consenso Brasileiro de HPV*. 1 ed., São Paulo: BG Cultural, 2000.
- 53- Leone MP, Sánchez JS, Encalada SOB. *et al.* Correlacion Colpocitologica e Histologica de la Neoplasia Cervical Intraepitelial (NIC) en el ION-SOLCA. 1996;6(2):149-52.
- 54- Burk R D, Ho G, Beardsley L. *et al.* Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Inf Dis* 1996;174:679-89.
- 55- Escudero P: Infeccion genital por papiloma humano. Aspectos em clínica ginecológica. *Já Chil Obstet Ginecol* 1996;61(2):128-31.
- 56- Dores GB, Ribalta JCL, Martins VN. *et al.* Diagnóstico da infecção cérvico-vaginal por papillomavirus humano. *Já P* 1991; 109(3):102-108.
- 57- Socías GM, González RJ. Perfil epidemiológico y clínico de la tipificación del HPV captura hibrida, método DIGENE. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 1997;62(3):167-73.
- 58- Critchlow CW, Koutsky, LA. Epidemiology of human papillomavirus infection. In: Mindel, A. *Genital warts: human papillomavirus infection*. London. Edward Arnold 1995;53-81.

- 59- Gjoen K, Sauer T, Olsen AO. *et al.* Correlation between polymerase chain reaction and cervical cytology for detection of human papillomavirus infection in women with and without dysplasia. *Acta Path Microbiol Immunol Scand* 1995;105:71-75.
- 60- Valdés JJC, Oca RLM, Berumen J. *et al.* Detección citológica de virus del papiloma humano y sua correlacion com PCR. *Já Mex de Pat Clin* 1999; 46(2): 74-78.
- 61- MONOGRAPHS on the Evaluation of Carcinogenic risk to Humans. Human Papillomaviruses. Lyon, Internatinal Agency for Research on Cancer (IARC), 1995;64:82-231.
- 62- Ayre JE. The vaginal smear: "pre-cancer" cell studies using a modified technique. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 1949;53:609-617.
- 63- Papanicolaou GN. Atlas of exfoliative cytology. Cambridge, Havard University Press 1954.
- 64- Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic and pathologic study of Koilocytotic atypia. *Ann N Y Acad Sci* 1956;63:1245-1261.
- 65- Meisels A, Fortin R. Condilomatous lesions of the cerviz and vagina. Citologic patterns. *Acta Cytol* 1976;20:505-509.
- 66- Meisels A, Morin C. The human papillomavirus and cancer of the uterine cervix: cytopathology of the uterus. 2 ed Chicago AJCP Press 1997;185-226.
- 67- Luzzato R, Recktenvald M, Portugal JPL. Multinucleation and abortive cellulas division in human papillomavirus infection. *Acta Cytol* 1990;34:286-287.
- 68- Schneider A, Meinhardt G, de Villiers EM. *et al.* Sensitivity of the cytologic diagnosis of cervical condyloma in comparison with DNA hybridization studies. *Diagn Cythopathol* 1987;3:250-5.
- 69- Yamamoto LSV, Alves VAF. *et al.* Amorphological protocol and guide-list of uterine cervix cytology associated to papillomavirus infection. *Já Inst □ân Trop São Paulo* 2004; 46(4): 189-193.
- 70- Franco EL, Ferenczy A. Assessing gains in diagnostic utility when human papillomavirus testing is used as an adjunct to Papanicolaou smear in the triage of women with cervical cytologic abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:382-386.
- 71- Lo KW-K, Yeing SW, Cheung TH. *et al.* Quantitative analyses of human papillomavirus type 16 in cervical neoplasm: A study in Chinese population. *J Clin Virol* 2005;34:76-80.
- 72- Alani RM, Minger K. Human papillomavirus and associated malignancies. *J Clin Oncol* 1998;16:330-7.

- 73- Woodman CBJ, Collins S, Winter H. *et al.* Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001; 357:1831-6.
- 74- Palesfsky JM. Human papillomavirus infection among HIV-infected individuals. *Hematology/Ocology Clinics of North America* 1991;5 (2).
- 75- Ho GYF, Burk RD, Klein S. *et al.* Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1365-71.
- 76- Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ. *et al.* Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical cancer screening: a prospective study. *Lancet* 1999;354:20-5.
- 77- Schiffman M, Cosette M, Wheeler CM. *et al.* Castle for the Atypical Squamous Cells of Undermined Significance/Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study Group. *J Inf Dis* 2002; 186: 1169-72.
- 78- Kurman RK, Solomon D. *The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: definitions criteria, and exploratory notes for terminology and specimen adequacy.* New York: Springer-Verlag, 1994.
- 79- Solomon D, Schiffman M, Tarone R, ALTS Group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of indetermined sigificance: baseline results from a rondomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:293-9.
- 80- Molano M, van den Brule A, Plummer M. *et al.* Determinants of Clearance of Human Papillomavirus Infections in Colombian Women with Normal Cytology: A Population-based, 5-Year Follow-up Study. *Am J Epidemiol* 2003;158:486-494.
- 81- Mosciki AB, Shiboski S, Broering J. *et al.* The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr* 1998;132:277-84.
- 82- Clifford GM, Smith JS, Plummer M. *et al.* Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003;88:63-73.
- 83- Burger RA, Monk BJ, Kurosaki T. *et al.* Human papillomavirus type 18: association with poor prognosis in early stage cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1361-8.
- 84- Ho GY, Bierman R, Beardsley L. *et al.* Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *New Eng J Med* 1998;338(7):423-428.
- 85- Hildesheim A, Sciffman MH, Gravitt PE. *et al.* Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis* 1994;169:235-40.
- 86- Moreno V, Bosch FX, Munoz N. *et al.* Effect of oral contraceptives on risk cervical cancer in women with human papillomairus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002;359:1085-92.

- 87- Molano M, van den Brule A, Plummer M. *et al.* HPV Study Group. Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based 5-year follow-up study. *Am J Epidemiol* 2003;158(5):486-94.
- 88- Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N. *et al.* Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001;91:412-20.
- 89- Deacon JM, Evans CD, Yule R. *et al.* Sexual Behaviour and smoking as determinants of cervical HPV infection and of CIN3 among those infected: a case-control study nested within the Manchester cohort. *Br. J Cancer* 2000;83:1565-72.
- 90- Bayo S, Bosch FX, de Sanjose S. *et al.* Risk factors of invasive cervical cancer in Mali. *Int J epidemiol* 2002;31:202-209.
- 91- Peyton CL, Gravitt PE, Hunt WC. *et al.* Determinants of genital human papillomavirus detection in a US population. *J Infect Dis* 2001;183:1554-64.
- 92- Hilman RJ, Ryart BK, Botcherby M. *et al.* Changes in HPV infection in patients with anogenital warts and then partners. *Genitour Med* 1993;69:405-456.
- 93- Bosch FX, Manos M, Muñoz N. *et al.* Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. *J. Natl Can Inst* 1995;87(11): 796-802.
- 94- Zur Hausen H. Cervical carcinoma and human papillomavirus: on the road preventing a major human cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 252-253.
- 95- Crum CP. Contemporary theories of cervical carcinogenesis: the virus, the host and the stem cell. *Mod Pathol* 2000 ;13: 243-251.
- 96- Lorincz AT, Reid R, Jenson AB. *et al.* Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992;79:328-337.
- 97- Bollman R, Méhes G, Torka R. *et al.* Determination of features indicating progression in atypical squamous cells with indetermined significance: human papillomavirus typing and DNA ploidy analysis from liquid-based cytologic samples. *Cancer* 2003;99(2):113-7.
- 98- Campos RR. *et al.* Prevalência do papillomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não portadoras do vírus da imunodeficiência humana. *RBGO* 2005;27(5):248-256.
- 99- Janerich DT, Hadjmichael O, Schwartz PE. *et al.* The screening histories of women with invasive cervical Cancer, Connecticut. *Am J Public Health* 1995 Jun;85(6):791-4.
- 100- Souza NST. *et al.* Diagnóstico da infecção pelo HPV em Lesões do Colo do Útero em Mulheres HIV soropositivas: Acuidade da Histopatologia, *RBGO* 2001;23(6):355-364.

- 101- Sambrook J, Russel DW. Molecular Cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press: 2001.
- 102- Jacobs MV, Snijders PJ, van den Brule AJ. *et al.* A general Primer GP5+/GP6(+)-mediated PCR-enzyme immunoassay method for rapid detection of 14 high-risk and 6 low-risk human papillomavirus genotypes in cervical scrapings. *J Clin Microbiol* 1997;35(3):791-5.
- 103- Saiki RK, Scharf S, Faloona F. *et al.* Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985;230:1350-1354.
- 104- Lewi DS, Turcato Jr. G, Castelo Filho A. *et al.* Síndrome da imunodeficiência adquirida. *In: Borges DR, Rothschild HA (eds). Atualização Terapêutica. São Paulo: Artes Médicas; 2003. 288-293.*
- 105- Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico de Aids e DST, do Ministério da Saúde, notificados no SINAN até 30/06/2006, disponíveis em formato eletrônico no endereço <http://www.aids.gov.br>, área técnica.
- 106- Henrard DR, Phillips J, Windsor I. *et al.* Detection of human immunodeficiency virus type 1 p24 antigen and plasma RNA: Relevance to indeterminate serologic tests. *Transfusion* 1994;34:376.
- 107- Lyons F, Prendiville W, Mulcahy F. Cervical disease in HIV-1-positive women: a review. *Intern J STD & AIDS* 2003;15(2):89-93.
- 108- Levi JE, Fernandes S, Tatenó AF. *et al.* Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. *Gynecol Oncol* 2004;92:225-231.
- 109- Maiman M, Frutcher RG, Sedlis A. *et al.* Prevalence risk factors and accuracy of cytologic screening for cervical intraepithelial neoplasia in women with the human immunodeficiency virus. *Gynecol Oncol* 1998; 68:233-239.
- 110- Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ. Human papillomavirus associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst* sep. 2000; 20; 92(18):1500-10.
- 111- Bosch FX, Munoz HM, de Sanjose S. *et al.* Risk factors for cervical cancer in Colombia and Spain. *Int J Cancer* 1992;52:750-8.
- 112- Michelle J.H, Michael W.B.S, Stanley, MD. *et al.* Association of human immunodeficiency virus-induced immunosuppression with human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:352-3.
- 113- Zur Hausen H, De Villiers E. Human papillomavirus *Ann Rev Microbiol* 1994; 48: 427-447.

- 114-Provencher D, Valme B, Averette HE. *et al.* HIV Status and positive Papanicolaou screening: identification of a high-risk population. *Gynecol Oncol* 1988;31:184-188.
- 115-Schafer A, Friedman W, Muelk M. *et al.* The increased frequency of cervical dysplasia-neoplasia in women infected with the human immunodeficiency virus is related to the degree of immunosuppression. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:593-599.
- 116-Laga M, Icenogle JP, Marsella R. *et al.* Genital papillomavirus infection cervical dysplasia- Opportunistic complications of HIV infection. *Int J Cancer* 1992;50:45-48.
- 117-Vermund SH, Kelley KF, Klein RS. *et al.* High risk of human papillomavirus infection and cervical squamous intraepithelial lesions among women with symptomatic human immunodeficiency virus infection. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 329-400.
- 118-Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993;12:186-92.
- 119-Cubie HH, Seagar AL, Beattie GJ. *et al.* A longitudinal study of HPV detection and cervical pathology in HIV infected women. *Sex Trans Infect* 2000;76:257-61.
- 120-Hopman EH, Rozendaal L, Voorhorst FJ. *et al.* High risk human papillomavirus in women with normal cervical cytology prior to the development of abnormal cytology and colposcopy. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:600-4.
- 121-Kjaer SK, van den Brule AJ, Bock JE. *et al.* Human papillomavirus- the most significant risk determinant of cervical neoplasia. *Int J Cancer* 1996;65:601-6.
- 122-Ahdieh L, Klein RS, Burk R. *et al.* Prevalence, incidence, and type-specific persistence of human papillomavirus in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative women. *J Infect Dis* 2001; 184:682-90.
- 123-Ho GY, Burk RD, Fleming I. *et al.* Risk of genital human papillomavirus infection in women with human immunodeficiency virus-induced immunosuppression. *Int J Cancer* 1994; 56:788-792.
- 124-Petry KV, Scheffel D, Bode V. *et al.* Cellular immunodeficiency enhances the progression of human papillomavirus- associated cervical lesions. *Int J Cancer* 1994;57:836-840.
- 125-Tweddell G, Heller P, Cunnane M. *et al.* The correlation between HIV seropositivity cervical dysplasia and HPV subtypes 6/11, 16/18, 31/33/354. *Gynaecol Oncol* 1994;52:161-164.
- 126-Joshi S, Chandorkar A, Krishnan G. *et al.* Cervical intraepithelial changes and HIV infection in women attending STD clinics in Pune, India. *Indian J Med Res* 2001;113:161-169.

- 127-Joshi S, Gopalkrishna V, Kumar KB. *et al.* Cervical Squamous Intra-Epithelial Changes and Human Papillomavirus Infection in Women Infected With Human Immunodeficiency Virus in Pune, India . J Med Virol 2005;76:470-475.
- 128- Capiello G, Sarbuglia AR, Salvi R. *et al.* HIV infection increases the risk of squamous intraepithelial lesions in women with HPV infection: An analysis of HPV genotypes. Int J Cancer 1997; 72:982-986.
- 129-Klein RS, Ho GYF, Vermund SH. *et al.* Risk for squamous intraepithelial lesions on Pap-smears in women at risk for human – immunodeficiency virus infection. J Infect Dis 1994;170:1404-1409.
- 130-Feingold AR, Vermund SH, Burk RD. *et al.* Cervical cytologic abnormalities and Papillomavirus in women infected with human immunodeficiency virus. J Acq Imm Def Synd 1990;3:896-903.
- 131-B Siné, Bosch FX, Sanjosé S. *et al.* Risk factors of invasive cervical cancer in Mali. Intern J Epid 2002;31:202-209.
- 132-Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM. *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999;189: 12-19.
- 133-Carson LF, Twiggs LB, Fukushima M. *et al.* Human genital papilloma infections an evaluation of immunologic competence in genital neoplasia-papilloma syndrome. Am J Obstet Gynecol 1986;155:784-9.
- 134-Schrager LK, Fridland GH, Maude D. *et al.* Cervical and vaginal squamous abnormalities in women infected with human immunodeficiency virus. J Acq Immun Def Synd 1989;2:570-5.
- 135-Johnson JC, Burnett AF, Willet GD. *et al.* High frequency of latent and clinical human papillomavirus cervical infections in immunocompromised human immunodeficiency virus-infected women. Obstet Gynecol 1992;79:321-327.
- 136-Maiman M, Frutcher RG, Serur E. *et al.* Human immunodeficiency virus infection and cervical neoplasia. Gynecol Oncol 1990;38:377-382.
- 137- Brain L. Role of Human Immunodeficiency Virus Infection in the Pathogenesis of Human Papillomavirus-Associated cervical Neoplasia. Am J Pathol 1994;144(2).
- 138-Matorras R, Ariceta JM, Reementeria A. *et al.* Human immunodeficiency virus induced immunosuppression: A risk factor for human papillomavirus infection. Am J Obstet Gynecol 1991;164:42-44.
- 139-Penn I. Cancers of the anogenital tract region in renal transplant recipients. Câncer 1986;58:611-620.
- 140-Spinillo A, Tenti P, Zappatore R. *et al.* Langerhans cells conts and cervical intraepithelial neoplasia in women with human immunodeficiency virus infection. Gynecol Oncol 1993;48:210-213.

- 141-Evander M, Edlund K, Gustafsson A. *et al.* Human papillomavirus infection is transient in young women: a population-based cohort study. *J Infect Dis* 1995;171: 1026-30.
- 142-Brisson J, Bairati I, Morin C. *et al.* Determinants of persistent detection of human papillomavirus DNA in the uterine cervix. *J Infect Dis* 1996; 173:794-9.
- 143-Bosch FX , Manos MM, Munoz N. *et al.* Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspectiva: Internacional Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995;87: 796-802.
- 144-Maiman M, Fruchter RG. Cervical neoplasia and the human immunodeficiency virus. In: Rubin SC, Hoskins WJ, eds. *Cervical cancer and preinvasive neoplasia*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996:405-16.
- 145-Sun XW, Kuhn L, Ellerbrock TV. *et al.* Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1997;337:1343-9.
- 146-Williams AB, Darragh TM, Vranizan K. *et al.* Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet Gynecol* 1994;83:205-11.
- 147-Schiffman MH. New epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1345-7.
- 148-Carvalho G. *Citologia Oncológica*. Rio de Janeiro: Atheneu; 1993.
- 149-Bonfiglio T, Erozan YS. *Gynecology cytopathology*. Philadelphia: Lippincott Raven, 1997, 51-72.
- 150-Cavaliere MC. *et al.* Papillomavirus em saúde pública: Importância da aplicação de novos critérios morfológicos para sua detecção em trato genital feminino. *Bol Inform Union* 1990; 15: 50-60.
- 151-Loreto CD. *et al.* Papillomavirus em saúde pública: importância da aplicação de novos critérios morfológicos para sua detecção em trato genital feminino. *Bol Inform Union* 1992; 15(59/60): 2439.
- 152-Vince A, Joanisevic M, Harni V. *et al.* Molecular detection of human papillomavirus in women with minor grade cervical cytology abnormalities. *J Clin Virol* 2001; 20: 91-94.
- 153-Collaço LM, Pinto AP. Aspectos citológicos na coloração de Papanicolaou da associação de HPV com displasia e carcinoma de colo uterino. *J Brás Ginec* 1994;104(11/12)419-21.
- 154-Jordão AV, Ruggeri LS, Chiucheta GIR. *et al.* Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico de papillomavirus humano. *J Patol Méd Lab* 2003;39(1).

- 155-Purola E, Savia E. Cytology of gynecologic condyloma acuminatum. *Acta Cytol* 1977;1:26-31.
- 156- Scheneider ML, Scheneider V. *Citologia ginecológica*. Rio de Janeiro: revinter,1998, 59-61.
- 157- Nuovo GJ. Human papillomavirus DNA. *In: genital tract lesions histologically negative for condylomata*. *Am J Surg Pathol*1990;14: 643-51.
- 158-De Borges RJ. *et al.* Cytologic and ultrastructural findings of a peculiar alteration in cervical cells from patients with human papillomavirus infections. *Acta Cytol* 1989;33(3): 314-8.
- 159-Meisels A. *et al.* Condyloma of the uterine cervix. *In: Compendium on diagnostic cytology*. 6. ed. Chicago: Illinois, 1988, p. 63-8.
- 160-Kern SB. Significance of anucleated squames in Papanicolaou stained cervicovaginal smears. *Acta Cytol* 1991;53(1).
- 161-Shroyer KR. *et al.* Cytologic diagnosis of human papillomavirus infection: spindled nuclei. *Diag Cytopathol* 1990;6(3): 178-3.
- 162-Gompel C, Koss L. *Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas*. 1ª ed São Paulo: Manole, 1997, 79-105.
- 163-Kochel HG. *et al.* Occurrence of human papillomavirus DNA types 16 and 18 (HPV-16/18) in cervical smears as compared to cytological findings. *Int J Gynecol* 1990;31:145-52..
- 164-Suzuki LE. Eficiência da técnica de Papanicolaou na detecção do papillomavirus humano. Dissertação (mestrado)—curso de Saúde Pública \_ Universidade estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2000.
- 165-Azocar J. *et al.* Prevalence of cervical dysplasia and HPV infection according to sexual behavior. *Int J Cancer* 1990;45:622-5.
- 166-Yoshinouchi M. *et al.* Analysis by multiplex PCR of the physical status of human papillomavirus type 16 DNA in cervical cancers. *J. Clin. Microb.* 1999; 37(11):3514-7.
- 167-Brown DR, Fife KH. Human papillomavirus infections of the genital tract. *Med Clin North Am* 1990;74:1455-85.
- 168-Korobowicz E. *et al.* The diagnostic value of cytomorphological traits in low and high risk type HPV infections. *J. Pathol.* 1997; 48(2): 107-12.
- 169-Morse AR, Wickenden C, Robinson DT. *et al.* DNA hybridisation of cervical scrapes: comparison with cytological findings in Papanicolaou smears. *J Clin Patol* 1998;41:296-299.

- 170-Levi JE. HPV: por que e quando diagnosticar. *News Lab* 1996;14: 66-72.
- 171-Poljak M. *et al.* Comparative evaluation of first second generation digene hybrid capture assays of detection of human papillomavirus associated with high or intermediate risk for cervical cancer. *J Clin Microb* 1999;37(3): 796-7.
- 172-Shih LWS. *et al.* Papillomavirus na área metropolitana de São Paulo: aspectos citológicos e imunocitoquímicos. *Acta Oncol Brás* 1988;8(2): 59-64.
- 173-Utagawa ML. *et al.* Papillomavirus humano em esfregaços citológicos de mulheres acima de 50 anos: estudo morfológico e de hibridização in situ nas respectivas biópsias. *J Brás gin* 1997;107(4);83-7.
- 174-Meisels A, Morin C. Human papillomavirus and cancer of the human cervix. *Gynecol Oncol* 1981;12:11-123.
- 175-Schneider A, Meinhardt G, de Villiers EM. *et al.* Papillomavirus infection of the lower genital tract of viral DNA in gynecological swabs. *Int J Cancer* 1985;35:443-8.
- 176-Checcini S, Confortini M, Bonardi M. *et al.* Non-classic cytologic signs of cervical condyloma. *Acta Cytol* 1990;6:781-784.
- 177-Bollman M, Bankfohvi, Tosic A. *et al.* Can we detect cervical human papillomavirus (HPV) infection by cytomorphology alone? Diagnostic value on non-classic cytological segres of HPV effect in minimally abnormal Pap tests. *Cytopathology* 2005;16:13.
- 178-Landis SH, Murray T, Bolen S. *et al.* Cancer statistics, 1999. *CA Cancer J Clin.* 1999; 49:8-31.
- 179-Cuzick J, Meijer CJLM, Walboomers JMM. Screening for cervical cancer. *Lancet* 1998;351:1439-40.
- 180-Cuzick J, Szarewski A, Terry G. *et al.* Human papillomavirus testing in primary cervical screening. *Lancet* 1995;345:1533-6.
- 181-Hakana M, Chamberlain J, Day NE. *et al.* Evaluation of screening programs for gynecological cancer. *Br J Cancer* 1985;52:669-73.
- 182-Agorastos T, Dinas K, Lloveras B. *et al.* Human papillomavirus testing for primary screening in women at low risk of developing cervical câncer. The Greek experience. *Gynecol Oncol* 2005;96(3):714-20.
- 183-Walboomers JMM, Husman AM, Snijders PJ. *et al.* Human papillomavirus in false negative archival cervical smears: implications for screening for cervical cancer. *J Clin Pathol* 1995; 48(8): 728-732.
- 184-Bosch FX, Lorincz A, Munõz N. *et al.* The causal relation between human papillomavirus and cervical câncer. *J Clin Pathol* 2002;55(4):244-65.

- 185-Franco EL, Schlecht NF, Saslow D. The epidemiology of cervical cancer. *Cancer J* 2003;9(5):348-59.
- 186-Figge DC, Bennington JL, Scweid AI. Cervical cancer after initial negative and atypical vaginal cytology. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 108:422-8.
- 187-Van der Graaf Y, Vooijs GP, Gaillard HL. *et al.* Screening erros in cervical cytology screening. *Acta Cyt* 1987;31:434-8.
- 188-Ivonne GA, Gloria CA, Rodolfo VP. *et al.* ADN del PVH detectado em células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) empleando la PCR: Reporte de dos casos. *Acta Cancerologica* 2000;30(2).
- 189-Mandelblatt J. Cervical cancer screening in primary care: Issues and recommendations, *Primary Care* 1989;16:133-155.
- 190-Naud P, Buseti MC, Lima GB. *et al.* Análise dos achados citológicos, histológicos e polimerase chain reaction (PCR) em mulheres com diagnóstico de infecção do trato genital por papillomavirus humano (HPV). *Revista HCPA* 1996;16:227-9.
- 191-Di Benito L, Falonieri G, Tomasic G. *et al.* Cervical cytopathology an evolution its accuracy basrad on cytohistologic comparison. *Cancer* 1993; 72: 3002-6.
- 192-Nanda K, McCrory D, Evan M. *et al.* Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytology abnormalities: A systematic review. *Ann Int Med* 2000;132(10):810-819.
- 193-Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW. *et al.* Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J Clin Pathol* 2004;57(1):68-72.
- 194-Hudelist G, Manavi M, Pischinger Ki. *et al.* Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. *Gynecol Oncol* 2004;92(3):873-80.
- 195-Castle PE, Warholder S, Sherman ME. *et al.* Absolute risk of a subsequent abnormal pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. *Cancer* 2002;95(10):2145-51.
- 196-Lawley TB, Lee RB, Kopela R. The significance of moderate and severe inflammation on Class I Papanicolaou smear *Obstet Gynaecol* 1990;76(6):997-9.
- 197-Arora R, Kumar A, Prusty B. *et al.* Prevalence of high-risk papillomavirus (HR-HPV) types 16 and 18 in healthy women with cytologically negative Pap smear. *Eur. J. Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 121(1):104-109.
- 198-Husain OAN, Butler EB, Evans DMD. *et al.* Quality contro in cervical cytology. *J Clin Pathol* 1974; 27: 935-944.

- 199-Gay JD, Donaldson LD, Gollner JR. False-negative results in cervical cytologic studies. *Acta Cyt* 1985;29: 1043-6.
- 200-Berkowitz RS, Ehrman RL, Lavizzo-Mourey R. *et al.* Invasive cervical carcinoma in young women. *Gynecol Oncol* 1997; 8: 311-6.
- 201-Fahey MT, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol* 1995; 141:680.
- 202-Abulafia O, Sherer DM. Automated cervical cytology: meta-analyses of the performance of the AutoPap 300 QC System. *Obstet Gynecol Surv.* 1999;54:469-76.
- 203-Hutchinson ML, Zahniser DJ, Sherman ME. *et al.* Utility of liquid-based cytology for cervical carcinoma screening: results of a population-based study conducted in a region of Costa Rica with a high incidence of cervical carcinoma. *Cancer.* 1999;87:48-55.
- 204- Soost HJ, Lange HJ, Lehmacer W. *et al.* The validation of cervical cytology: Sensitivity, specificity, and predictive values. *Acta Cytol* 1991;35: 8-14.
- 205- Gad C, Koch F. The limitation of screening effect: A review of cervical disorders in previously screened women. *Acta Cytolo* 1977; 21: 719-722.
- 206- Galen RS, Gambino SR. *Beyond Normality: The prective value and efficiency of medical diagnosis*> Ney York, John Wiley % Sons, 1975.
- 207- Fleiss J. *Statistical Methods for Rates and Proportions.* Second edition. New York, John Wiley & Sons, 1981.
- 208- Morell ND, Taylor JR, Snyder RN. *et al.* False-negative citology rates in patients in whom invasive cervical cancer subsequently developed. *Obstet Gynecol* 1982;60:41-45.
- 209- Coppelson LW, Brown B. Estimation of the screening error rate from the observed detection rates in repeated cervical cytology. *Am J Obstet Gynecol* 1974;119:953-958.
- 210-Tuncer M, Graham R, Graham J. Diagnostic efficiency in invasive cervical cancer. *NY State J Med* 1967;67:2317-2319.
- 211- Richard R. Screening, The Next Century. *Cancer* 1995;76(suppl):1919-1927.
- 212- Rubio CA. False negative in cervical cytology: Can they be avoided? *Acta Cytol* 1981;25: 199-202.
- 213- Melamed MR, Inhorn SL, Kachenmeister LA. *et al.* Cytology. In *Quality Assurance Pratices for Health Laboratories* . Edited by SL Inhorn . Washington, DC, American Public Health Association,1978,509-544.

- 214- Gondos B, Marshall D, Ostergard DR. Endocervical cells in cervical smears. *Am J Obstet Gynecol* 1972;114: 833-834.
- 215- Vooijs PG, Elias A, van der Graf Y, Veling S: Relationship between the diagnosis of epithelial abnormalities and the composition of cervical smears. *Acta Cytol* 1985;29: 323-328.
- 216- Koss LG, Hicklin MD. Standards of adequacy of cytologic examination of the female genital tract: Conclusions of study group on cytology. *Obstet Gynecol* 1974; 43: 792-793.
- 217- Foltz A-M, Kelsey LJ. The annual Pap test: A dubious policy success. *Milbank Mem Fun Q* 1978 ; 56:426-462.
- 218- Evans DMD, Shelley G, Cleary B. *et al.* Observer variation and quality control of cytodiagnosis. *J Clin Pathol* 1974; 27: 945-950.
- 219- Robertson JH, Woodend B. Negative cytology preceding cervical cancer: causes and prevention. *J Clin Pathol* 1993;46: 700-2.
- 220- Rylander E. Negative smears in women developing invasive cervical cancer. *Acta Obstet Gynaecol* 1977;56:115-8.
- 221- Gilbert FE, Hicklin Inhorn SL. *et al.* Standards of adequacy of citologic examination of the female genital tract. *Am J Clin Pathol* 1974;61; 285-6.
- 222- Elias A, Linthorst G, Bekker B. *et al.* The significance of endocervical cells in diagnosis of cervical epithelial changes. *Acta Cytol* 1983; 27:225-9.
- 223- Ronco G, Montanari G, Aimone F. *et al.* Estimating the sensitivity of cervical cytology: erros of interpretation and test limitations. *Cytopathology* 1996; 7:151-158.
- 224- Greening SE. The adequate Papanicolaou smear revisited. *Diag Cytopathol* 1985;155-8.
- 225- Detweiler RE, Castilleja RM, Sneige N. Endocervical columnar cells and adequacy of cervical samples: Analisis of 43 discordant smears and cervical biopsies. *Acta Cytol* 1989; 33: 730-1.
- 226- Mitchell H, Medley G, Drake M. Quality contro for cervical cytology laboratories. *Acta Cytol* 1988; 32: 288-92.
- 227- British Society for Clinical Cytology: recommended code of pratice for laboratories providing a cytopathology service, 1986.
- 228- Lynge E, Arffman E, Poll P. *et al.* Smear miscassification in a cervical cancer screening programme. *Br J Cancer* 1993;68:368-73.
- 229- Kobayashi TK, Ueda M, Nishino T. *et al.* Cytology fo high-grade squamous intraepithelial lesion in Japanese-Brazilian women with HIV infection with

- polymerase chain reaction-assisted human papillomavirus detection. *Diagn Cytopathol* 2002;26(4): 268-71.
- 230- Marte C, Kelly P, Coehn M. *et al.* Pap smear abnormalities in ambulatory care sites for women infected with the immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1232-1237.
- 231- Crocchiolo P, Luzioli A, Goisis F. *et al.* Cervical dysplasia and HIV infection (letter). *Lancet* 1998;1:238-9.
- 232- Henry MJ, Stanley MW, Cruikshank S. *et al.* Association of human immunodeficiency virus-induced immunosuppression with human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:352-3.
- 233- Tay SK, Jenkins D, Maddox P *et al.* Lymphocyte phenotypes in cervical intraepithelial neoplasia and human papillomavirus infection. *Br J Obstet Gynecol* 1987;94:16-21.
- 234- CDC: 1993. Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *JAMA* 1993; 269: 729-30.
- 235- Bartlett JG. Medical management of HIV infection. Baltimore. Port City Press, 1998.
- 236- Nuovo GJ, Darfler MM, Impraim CC *et al.* Occurrence of multiple types of human papillomavirus in genital tract lesions. *Am J Pathol* 1991;38:53-8.
- 237- Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP. *et al.* Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk for cervical cancer. *J Infect Dis* 1999;180:1415-23.
- 238- Syrjanen SM. Basic concepts and practical applications of recombinant DNA techniques in detection of human papillomavirus (HPV) infections. *APMIS*. 1990;98:95-110.
- 239- Smith JR, Kitchen VS, Botcherby M. *et al.* Is HIV infection associated with an increased prevalence of cervical neoplasia? *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100: 149-53.
- 240- Mandelblatt JS, Fahs M, Garibaldi K. *et al.* Association between HIV infection and cervical neoplasia implications for clinical care women at risk for both conditions. *AIDS* 1992;6:173
- 241- Maiman M, Frutcher R, Guy L. *et al.* HIV infections and invasive cervical carcinoma. *Cancer* 1993;71:402-406.
- 242- Heard I, Bergeron C, Jeannel. D. *et al.* Papanicolaou smears in human immunodeficiency virus-seropositive women during follow-up. *Obstet & Gynecol* 1995;86(5):749-753.

- 243- Fink MJ, Frutcher RG, Maiman M. *et al.* The adequacy cytology and colposcopy in diagnosing cervical neoplasia in HIV-seropositive women. *Gynecol Oncol* 1994; 5: 133-137.
- 244- Korn AP, Autry M, DeRemer PA. *et al.* Sensitivity of the Papanicolaou smear in human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet Gynecol* 1994;83:401-404.
- 245- Chipangwi J, Dallabaetta G, Miotti P. *et al.* HPV expression persists longer in HIV-1 infected women. Abstract presented at the 9<sup>th</sup> International Conference on AIDS/4<sup>th</sup> STD World Congress, Berlin, 1993, June 6-11.
- 246- Co-Uvin S, Eastman-Abaya R, Nitta K. *et al.* Cervical dysplasia and infection among incarcerated women: a comparison of HIV+ and HIV- inmates. Abstract presented at the 9<sup>th</sup> International Conference on AISA/4<sup>th</sup> STD World Congress, Berlin 1993, June, 6-11.
- 247- Wright TC, Sun XW, Ellerbrock T. *et al.* HPV infections in HIV+ and HIV- women: prevalence, association with CIN and impact on CD4+ count. Abstract presented at the 9<sup>th</sup> International Conference on AIDS/4<sup>th</sup> STD World Congress, Berlin, 1993; June 6-11.
- 248- Williams A, Darragh T, Osmond D. *et al.* Anal/cervical HPV infection and risk of anal/cervical dysplasia associated with HIV-1 Abstract presented at the 9<sup>th</sup> International Conference on AIDA/4<sup>th</sup> STD World Congress Berlin;1993, June, 6-11.
- 249- Boccalon M, Tirelli U, Sopracordevole F. *et al.* Intraepithelial and invasive cervical neoplasia during HIV infection. *Eur J Cancer* 1996;32A(13):2212-2217.
- 250- Del Priore G, Lurain J. The ability of Papanicolaou smears and colposcopy to predict the results of cervical biopsy in women infected with the human immunodeficiency virus (HIV). *Gynecol Oncol* 1993; 49: 139.
- 251- Maggawa BN, Hunter DJ, Mbugua S. *et al.* Relationship between HIV infection and cervical intraepithelial neoplasia among women attending two family planning clinics in Nairobi, Kenya. *AIDA* 1993; 7:733-738.
- 252- Maiman M, Frutcher R, Serur E. *et al.* Recurrent cervical intraepithelial neoplasia in human immunodeficiency virus- seropositive women. *Obstet Gynecol* 1993;82: 170-174.
- 253- Fialho SCAV, Filho GLA, Passos MRL. *et al.* Anormalidades citológicas e acurácia da citopatologia como método de rastreio nas mulheres HIV soro-positivas/AIDS. *J Bras Doenças Sex Trans* 2002;14(1):16-19.
- 254- Trofatter KF. Diagnosis of human papillomavirus genital tract infection. *Am J Med* 1997;102(5A):21-27.
- 255- Fonseca ASK, Lunge VR, Ikuta N. Detecção e tipagem molecular de papillomavirus humano (HPV) em amostras de cérvix uterino. *Laes e Haes*, 1998;114:148-154.

- 256- Ikuta N, Nonnenmacher B, Villa LL. *et al.* Detecção e tipagem molecular de Papillomavirus Humano (HPV) em 460 amostras de colo uterino: estudo comparativo com exames citopatológico e colposcópico. *Revist nc. Anal Clin* 1997;39( 2): 203-204.
- 257- Bringhenti, MEZ, Gonçalves, TL, Rodrigues, YB. HPV na gnese de lesões cérvico-uterinas – Métodos diagnósticos (Citopatologia – Tipagem viral). *Rev Bras Anal Clin* 2001; 33(3):117-120.
- 258- Lytwyn A, Mahony JB. *et al.* Comparison of human papillomavirus DNA testing and tepeat Papanicolaou test in women with low-grade cervical abnormalities: a randomized trial.*Can Med Assoc* 2000; 163: 701-7.y
- 259- Rozendal L, Walboomers JM, van der Linden JC. *et al.* PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objetive assessment for women with cytomorphologically normal cervical smears. *Int J Cancer* 1996; 68: 766-9.
- 260- Flanelly G., Anderson D, Kitchener HC. The management of women with mild and moderate cervical dyskariosis. *Br. Med. J.* 1994; 308:1399-1403.
- 261- Richart RM, Wright T.C, Controversies in the management of low-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Cancer* 1993: 71:1413-1421.
- 262- Jacobs MV, Walboomers JMM, Snijders PJF. *et al.* Distribution of 37 mucosotropic HPV types in women with cytologically normal cervical smears: the age-related pattern for high-risk and low-risk types. *Int J cancer* 2000;87: 221-7.
- 263- Mosciki AB, Hills N, Shiboski S. *et al.* Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesions development in young female4s. *JAMA* 2001; 285: 2995-3002.
- 264- Coutle F, Provencer D, Gauthier J. Is there a clinical utility for HPV detection test for screening preinvasive and invasive diseases of uterine cervix? *Germs Ideas* 1997;2:40-44.
- 265- Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997;102:3-8.
- 266- Gomez MA, Abba MC, Golijow CD. Detection and genotyping of human papillomavirus (HPV) using PCR-LIS-SSCP.*Rev Argent Microbiol* 2001;33(1):22-7.
- 267- Shoell WM, Janicek MF, Mirhashemi R. Epidemiology and biology of cervical cancer. *Semin Surg Oncol* 1999; 16: 203-11.
- 268- Zehbe I, Wilander E. Human papillomavirus infection and invasive cervical neoplasia: A study of prevalence and morphology. *J Pathol* 1997; 181: 270-275.
- 269- Zur Hausen H. Papillomaviruses in human cancers. *Proc Assoc Am Physicians* 1999;111: 581-587.

- 270- Liaw K, Shiffman MH, Cope JU *et al.* Update on recent clinical studies using HPV testing for screening and diagnosis of cervical neoplasia. *CME J Gynecol Oncol* 2000; 5: 41-44.
- 271- Yarkin F, M.D., Chauvin S, M.D., Konomi N, M.D., Ph.D. *et al.* Detection of HPV DNA in Cervical Specimens Collected in Cytologic Solution by Ligation-Dependent PCR. *Acta Cytologica* 2003;47(3):450-456.
- 272- Munoz N, Bosch FX, de San Jose E. *et al.* The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a case-control study in Colombia and Spain. *Int J Cancer* 1992 ; 52; 743-9.
- 273- Kaufman RH, Adam E. Is papillomavirus testing of value in clinical practice? *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1049-53.
- 274- Herrington CS, Evans MF, Hallan NF. *et al.* Human papillomavirus status in the prediction of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in patient low-grade cervical abnormalities. *Br J Cancer* 1995;71:206-9.
- 275- Kuhn L, Denny L, Pollack A. *et al.* Human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in low-resource settings. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 818-25.
- 276- Goodman A. Role of routine human papillomavirus subtyping in cervical screening. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002; 12: 11-14.
- 277- Zazove P, Reed BD, Gregoire L. *et al.* Low false-negative rate of PCR analysis for detecting human papillomavirus-related cervical lesions. *J Clin Microbiol* 1998;36:2708-2713.
- 278- Harnisch DG, Belland LM, Sxheid EE. *et al.* Evaluation of human papillomavirus-consensus primers for HPV detection by the polymerase chain reaction. *Mol Cell Probes* 1999;13:9-21.
- 279- Lorincz AT, Richart RM,. Human papillomavirus testing as an adjunct to cytology in cervical screening programs. *Arch Pathol Lab C&M* 2003;127: 959-68.
- 280- Evangelos P, Vailiki MM, George K. *et al.* Expanded cytological referral criteria for colposcopy in cervical screening: comparison with human papillomavirus testing. *Gynecol Oncol* 2001; 82: 355-9.
- 281- Oh YL, Shin KJ, Han J. *et al.* Significance of high risk human papillomavirus detection by polymerase chain reaction in primary cervical cancer screening. *Cytopathology* 2001;12(1):75-83.
- 282- Jenkins D, Sherlaw-Johnson C, Gallivan S. Assessing the role of HPV testing in cervical cancer screening. *Papillomavirus Rep* 1998;4: 89-101.
- 283- Chan R, Khoo L, Hong HT. *et al.* A comparative study of cervical cytology, colposcopy and PCR for HPV in female sex workers in Singapore. *Int J of STD & AIDS* 2001;12: 159-163.

- 284- Tanaka H, Sato H, Takahashi O, Ota H, Hirano H, Tanaka T. Adding HPV 16 testing to abnormal cervical smear detection is useful for predicting CIN3 : a prospective study. *Acta Gynecol Scand* 2004; 83(5):497-500.
- 285- Wright TC, Cox JT, Massad LS. *et al.* 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287:2120-9.
- 286- Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR. *et al.* Baseline cytology human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *J Natl cancer Inst* 2003; 95: 46-52.
- 287- Wright TC, Schiffman M. Adding a test for human papillomavirus DNA to cervical cancer screening. *New Eng J Med* 2003;348(6): 489-490.
- 288- Cuzick J, Terry G, Ho L. *et al.* Type-specific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of highgrade cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 1994; 69(1):167-71.
- 289- Meijer CJ, Rosendaal L, Voorhost FJ. *et al.* Human papillomavirus and screening for cervical cancer: state art prospect. *Ned Tijdschr Geneesk* 2000;144(35):1675-9.
- 290- Cuzick J, Clavel C, Petry KU. *et al.* Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006;119:1095-101.
- 291- Cuzick J, Szarewski A, Cubie H. *et al.* Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet* 2003;362:1871-6.
- 292- IARC. Handbooks of cancer prevention. Cervix cancer screening. Lyon:IARC Press; 2005.
- 293- Walker JL, Wang SS, Chiffman MH. *et al.* ASCUS LSIL. Triage Study(ALTS) Group. Predicting absolute risk of CIN3 during post-colposcopic follow-up: results from the ASCUS\_LSIL. Triage Study (ALTS) 2006 (in press).
- 294- Castle PE, Solomon D, Schiffman M. *et al.* Human papillomavirus type infections and 2-year absolute risk of cervical precancer in women equivocal or mild cytologic abnormalities. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1066-71.
- 295- Goldie SJ, Gaffikin L, Golhaber-Fiebert JD. *et al.* Cost-effectiveness of cervical-cancer screening in five developing countries. *N Engl J Med* 2005;353(20):2158-68.
- 296- Kim JJ, Wright TC, Goldie SJ. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing in the United Kingdom, The Netherlands, France and Italy. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(12):888-95.
- 297- Cox T, Cuzick J. HPV DNA testing in cervical cancer screenig: From evidence to policies. *Gynecol Oncol* 2006;103:8-11.

- 298- Bulkman NWJ, Rozendaal I, Voorhorst FJ. *et al.* POBASCAM, a population-based randomised controlled trial for implementation of high-risk HPV testing in a cervical screening. *Int J Cancer* 2004;110:94-110.
- 299- Kotaniemi-Talonen I, Nieminen P, Anttila A. *et al.* Routine cervical with primary HPV testing and cytology triage protocol in a randomised setting. *Br J Cancer* 2005;93:862-7.
- 300- Arbyn M, Buntinx F, Van Ranst M. *et al.* Virologic versus cytologic triage of women with equivocal Pap smears: a meta-analysis of the accuracy to detect high-grade intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:280-93.
- 301- Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJLM. *et al.* Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analysis. 2006. *Vaccine* (in press).
- 302- Gross GE, Barrasso R. Atlas do papilomavírus humano. 2ª Edição. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda; 1999.p.431.
- 303- Richart RM, Wright TC. CIN: a review. *In* Sommers SC, ed. *Pathology Annuals* 1973. New York, Appleton Century-Crafts, 1973; 301-328.
- 304- McKee GT. *Citopatologia*. São Paulo: Artes Médicas; 1997.
- 305- Ribeiro ER. *Biologia e Patologia do Colo Uterino*. Rio de Janeiro: Revinter; 1994.
- 306- Bancroft JD. *Theory and practice of histological techniques*. Churchill Livingstone 1977 1ª edition.
- 307- Wright TC Jr, Richart RM. Role of papillomavirus in the pathogenesis of genital tract warts and cancer. *Gynecol Oncol* 1990;37:151-64.
- 308- França, Júnia Lessa *et al.* Manual para normalização de publicações técnico-científicas. Belo Horizonte, ed. UFMG, 7ed, 2004. 241p.
- 309- Pereira EAG, Guerra DMM, Villa LL. Papilomavírus humanos. *In*: Veronesi R, Focaccia R. *Tratado de Infectologia*. São Paulo:Atheneu, 1996 v.1, cap.30,p.457-463.
- 310- Murta EFC, Franca HG, Carneiro MC. *et al.* Câncer do colo uterino: Correlação com o início da atividade sexual e paridade. *RBGO* 1999;21(9):555-559.
- 311- Murta EFC, Sousa MAD, Lombardi W. *et al.* Aspectos epidemiológicos da infecção pelo papilomavírus humano. *J. Brás. Ginecol.*1997;107:95-99.
- 312- La Ruche G, You B, Mensah-Abdo I. *et al.* Human Papillomavirus and human immunodeficiency virus infection: relation with cervical dysplasia-neoplasia in Africa women. *Int. J. Cancer*,1998;76:480-486.

- 313- Frankel RE, Selwyn PA, Mezger J. *et al.* High prevalence of gynecologic disease among hospitalized women with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect. Dis.* 1997;25:706-712.
- 314- Minkoff, H, Ehrlich, I, Feldman, J. Reproductive health hospitalization among women immunodeficiency virus infections. *Am.J. Obstet. Gynecol.* 1998;178:166-170.
- 315- Wright TC, Moscarelli RD, Dole P. *et al.* Clinical significance of mild cytologic atypia on Papanicolaou smears from women infected with human immunodeficiency virus. *Obstet. Gynecol.* 1996;87:515.
- 316- Chang DY, Chen RJ, Lee SC. *et al.* Prevalence of single and multiple infection with the papillomavirus in various grades of cervical neoplasia. *J. Med. Microbiol.* 1997;46:4-60.
- 317- Dores BG, Ribalta Las CCJ, Martins VN *et al.* Aspectos epidemiológicos da infecção cérvico-vaginal pelo papilomavirus humano. *J Bras Ginecol* 1991;101;360-375.
- 318- Nicolau SM, Dores GB, Mattins NV *et al.* Study of asymptomatic sexual partners of women with cervicovaginal infection due to Human papillomavirus. 8<sup>th</sup> World Congress of Cervical Pathology and Colposcopy. [Abstract] *Anais* 1993;110.
- 319- Beuret TH, Sadoul G, Fari A. *et al.* Étude épidémiologique comparative entre 120 patientes atteintes de lésion condylomateuse et 120 patientes témoins. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1987; 16:555-564.
- 320- Sellors JW, Mahony JB, Kaczorowski J. *et al.* Prevalence and predictors of Human Papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. *CMAJ* 2000; 163: 503-508.
- 321- Santos FLA, Derchain MFS, Calvert BE. *et al.* Desempenho do exame colposcópico com revisão por diferentes observadores e da captura híbrida no diagnóstico da neoplasia intra-epitelial cervical graus 2 e 3. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro 2003;19(4):1029-1037.
- 322- Greenberg RS, Daniels SR, Flanders WD, Eley JW, Boring III JR. *Epidemiologia Clínica*. 3<sup>a</sup>. Edição. Porto Alegre: Artmed, 2005; p.108-109.
- 323- De Palo G. *Colposcopia e patologia do trato genital inferior*. 2<sup>a</sup>. Edição. Rio de Janeiro: Medsi, 1996; p.491.

*Site:*

<http://www.aids.gov.br>

## ANEXOS E APÊNDICES

### Anexo A – Parecer ético



Universidade Federal de Minas Gerais  
Comitê de ética em pesquisa da UFMG - COEP

### Parecer n.º 085/02

**Interessado: Prof. Victor Hugo de Melo**  
**Depto de Ginecologia e Obstetrícia - FM/UFMG**

### Voto:

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou no dia 19 de junho de 2002 o projeto de pesquisa intitulado « **Programa multicêntrico para controle e prevenção das lesões cervicais de alto grau e do câncer cérvico-uterino em mulheres portadoras do HIV** » com a recomendação de que o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido seja sintetizado de forma mais simples, evitando dificultar o entendimento dos sujeitos da pesquisa. O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.



**Prof. Dr. Dirceu Bartolomeu Greco**  
**Presidente do COEP/UFMG**

**Anexo B - Nomenclatura proposta pelo Comitê da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia (Roma, Itália, maio de 1990)**

**A) Achados colposcópicos normais**

Epitélio pavimentoso original

Epitélio cilíndrico

Zona de transformação normal

**B) Achados colposcópicos anormais**

1) Dentro da zona de transformação

Epitélio branco\*

- Plano
- Micropapilar ou microconvoluto

Pontilhado\*

Mosaico\*

Leucoplasia\*

Área iodonegativa

Vasos atípicos\*

2) Fora da zona de transformação

(ectocérvice, vagina)

Epitélio branco\*

- Plano
- Micropapilar ou microconvoluto

Pontilhado\*

Mosaico\*

Leucoplasia\*

Área iodonegativa

Vasos atípicos\*

**C) Suspeita de carcinoma invasor**

**D) Colposcopia insatisfatória**

Junção escamocolumnar não-visualizada

Inflamação grave ou atrofia grave

Colo não-visualizável

**E) Miscelânea**

Micropapilas não acetorreatoras

Condiloma exofítico

Inflamação

Atrofia

Ulceração

Outros

(\*) Especificar o grau

Grau 1

Epitélio acetobranco fino

Mosaico regular

Pontilhado regular

Leucoplasia fina

Vasos atípicos

Grau 2

Epitélio acetobranco espessado

**Anexo C - Terminologia para a descrição histopatológica das lesões precursoras do câncer cervical, segundo a orientação de Wright *et al.* (1994), baseada na classificação proposta por Richart (1973)**

WHO/ISGYP* classificação	Terminologia do Sistema de Bethesda
Displasia leve (NIC 1)	Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (SIL de baixo grau = LSIL)
Displasia moderada (NIC 2)	Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (SIL de alto grau = HSIL)
Displasia grave/Carcinoma <i>in situ</i> (NIC 3)	

\*World Health Organization and International Society of Gynecological Pathologists.

Fonte: Wright *et al.* (2002, p. 256)<sup>285</sup>.

**Anexo D - Descrição histopatológica baseada na classificação de Richart (1973)**

---

<b>Grau da neoplasia intra-epitelial cervical (NIC)</b>	<b>Características da histopatologia</b>
NIC 1	Lesões que apresentam o terço basal do epitélio acometido por células com distúrbio de polarização e maturação.
NIC 2	Lesões que apresentam dois terços basais do epitélio acometido por células com pleomorfismo moderado, aumento da relação núcleo/citoplasma e cromatina granular.
NIC 3	Lesões que apresentam mais de dois terços do epitélio acometido por células com pleomorfismo acentuado, cromatina granulosa e nucleomegalia acentuada. Neste grupo são incluídas as lesões que acometem todo o epitélio, porém, sem sinais de invasão.

---

Fonte: Wright *et al.* (2002)<sup>285</sup>.

**Anexo E - Diagnóstico citológico cervicovaginal segundo o sistema de Bethesda (1989 e revisado em 1991)**

- Qualidade do esfregaço
  - ( ) Satisfatória;
  - ( ) Satisfatória, porém com reservas (propõem-se as explicações listadas abaixo);
  - ( ) Não satisfatórias (propõem-se as seguintes explicações):
    - esfregaço pobre em células;
    - fixação defeituosa;
    - presença de material estranho (lubrificante e outros);
    - inflamatório mascarando parcial ou totalmente as células;
    - hemácias/menstruação mascarando parcial ou totalmente as células;
    - ausência de células endocervicais;
    - esfregaço não representativo do local da colheita;
    - história clínica insuficiente;
    - outras razões.
  
- Diagnóstico geral
  - esfregaços nos limites da normalidade;
  - modificações celulares benignas (ver diagnóstico descritivo);
  - células epiteliais anormais (ver diagnóstico descritivo).
  
- Diagnóstico descritivo
  - \* Modificações celulares benignas
  - Infecções
    - *Trichomonas vaginalis*;
    - microrganismos fúngicos compatíveis morfológicamente com o gênero *Cândida*;
    - predomínio de cocobacilos compatíveis com uma modificação de flora vaginal;
    - bactérias compatíveis morfológicamente com os actinomicetos;
    - modificações celulares associadas com o herpes;
    - outras.
  - \* Alterações reacionais
    - modificações celulares associadas com a inflamação (inclusive fenômenos de reparação);
    - atrofia acompanhada de inflamação (vaginite atrófica);
    - radiações;
    - dispositivo intra-uterino (DIU);
    - outras causas.
  - \* Anomalias das células epiteliais
  - Células escamosas
    - células escamosas atípicas de significado indeterminado;
    - lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau (NIC I, displasia leve, inclusive as lesões devidas a HPV);
    - lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau (NIC II e III, displasia moderada, acentuada e carcinoma *in situ*);
    - carcinoma escamoso invasor.

### Células Glandulares

- células endometriais, citologicamente benignas, em mulher menopausada;
- células glandulares atípicas de significado indeterminado;
- \* Outros tumores malignos
  - adenocarcinoma endocervical;
  - adenocarcinoma endometrial;
  - adenocarcinoma extra-uterino;
  - adenocarcinoma sem outra precisão.
- \* Avaliação hormonal (somente para o esfregaço vaginal)
  - aspecto hormonal compatível com a idade e a história clínica;
  - aspecto hormonal incompatível com a idade e a história clínica;
  - avaliação hormonal impossível.

## Anexo F - Técnica de citometria de fluxo para a contagem de linfócitos T CD4

O aparelho, citômetro de fluxo, utilizado neste estudo para a contagem dos linfócitos T CD4 foi o FACSCount® que segundo o fabricante, trata-se de um contador de células de dimensões compactas, computadorizado (BECTON DICKINSON, 1995).

O sistema FACSCount® fornece o número absoluto de linfócitos T auxiliares (CD3/CD4) e de linfócitos T supressores/citotóxicos (CD3/CD8) a partir de emissão de luz, utilizando dois ou mais complexos combinados “anticorpo-substância fluorescente” (fluorocromos) (BECTON DICKINSON, 1995).

Em cada tubo de amostra, existe um número conhecido de partículas de referência conjugadas com substâncias fluorescentes. Como o aparelho lê a intensidade de fluorescência tanto das partículas de referência quanto das células, conhecendo a quantidade de partículas, ele pode calcular o número de células. As células e as partículas de referência são separadas com base na fluorescência e depois contadas (BECTON DICKINSON, 1995).

Segundo o fabricante, BECTON DICKINSON (1995), a amostra de cada paciente deve ser preparada, devendo-se executar os seguintes passos:

- 1) O par de reagentes CD3/CD4 e CD3/CD8 deve ser rotulado, escrevendo em cada um deles o número do paciente;
- 2) O par de tubos de reação é agitado em um aparelho chamado vórtex;
- 3) Estes tubos de reação são abertos em um outro aparelho chamado “Coring-Station”, colocados em uma estante de trabalho e protegidos contra a luz;
- 4) A amostra de sangue do paciente é homogeneizada, invertendo o tubo delicadamente e adicionado 50 µl em cada um dos tubos de reagentes CD3/CD4 e CD3/CD8;
- 5) Novamente os tubos são agitados no vórtex e após incubados por 60 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz na estante de trabalho;
- 6) Adiciona-se 50 µl de solução fixadora nos tubos e de novo são agitados no vórtex;
- 7) É feita a corrida para a leitura da amostra no FACSCount® dentro de no máximo 2 horas após a preparação.

Quando a leitura da amostra do paciente é finalizada, o resultado do teste é impresso com as contagens absolutas de células CD4 e CD8 e a relação CD4/CD8, CD4/CD3 e CD8/CD3.

Para a emissão do laudo, é opcional calcular o valor percentual dos linfócitos T CD4 e T CD8 em relação à contagem total de linfócitos.

O cálculo do valor percentual dos linfócitos T CD4 e T CD8 em relação à contagem total de linfócitos é feito por meio das seguintes fórmulas:

### **FÓRMULA 1- Cálculo do valor percentual dos linfócitos T CD4**

$$\% \text{ de linfócitos T CD4} = \frac{\text{Número absoluto de linfócitos T CD4} \times 100}{\text{Número de linfócitos totais}}$$

### **FÓRMULA 2 – Cálculo do valor percentual dos linfócitos T CD8**

$$\% \text{ de linfócitos T CD8} = \frac{\text{Número absoluto de linfócitos T CD8} \times 100}{\text{Número de linfócitos totais}}$$

O número absoluto de linfócitos T CD4 e CD8 são fornecidos pelo FACSCount®.

Para a obtenção do número de linfócitos totais é preciso realizar um hemograma com a mesma amostra de sangue analisada no citômetro ou com outra amostra colhida no mesmo momento e fazer o cálculo por meio da seguinte fórmula:

### **FÓRMULA 3- Para o cálculo do número absoluto de linfócitos totais**

$$\text{Nº absoluto de linfócitos totais} = \frac{\text{Nº leucócitos totais} \times \% \text{ linfócitos totais}}{100}$$

## Anexo G - Técnicas de quantificação da carga viral do HIV-1

### A- Teste NASBA HIV-1 RNA QT

A quantificação pelo teste de NASBA HIV-1 RNA QT baseia-se na amplificação do RNA de HIV-1 da amostra, juntamente com padrões internos (VAN GEMEN et al, 1994). A quantidade de RNA amplificado é medida por meio da eletroquimioluminescência (BLACKBURN et al, 1991).

Segundo o fabricante (ORGANON TEKNIKA, 1997), a metodologia NASBA QR é um ensaio de amplificação de ácido nucléico para a determinação qualitativa e quantitativa de RNA, desde o isolamento até a detecção do RNA amplificado. O software do leitor NASBA QR calcula automaticamente o número de cópias de RNA de HIV-1 do tipo selvagem no volume de plasma ou soro. Os resultados apresentados pelo software no intervalo de 100 – 400 cópias de RNA devem ser interpretados como menos de 400 cópias (neste caso, a sensibilidade de detecção do teste é de 400 cópias). Com a evolução do software a sensibilidade de detecção passou para 80 cópias.

A sensibilidade de detecção deste teste pode chegar ao limite mais baixo de 40 HIV-RNA cópias/ml, sendo que isto é determinado pela informação contida no computador e transmitida para o processador (RICHMAN et al., 1999).

O teste é composto de quatro estágios distintos:

#### 1º ESTÁGIO: Liberação do ácido nucléico

À amostra, acrescenta-se o tampão de lise que contém tiocianato de guanidina e Triton X-100. As partículas virais e células presentes na amostra são desintegradas e as Rnases e Dnases presentes na amostra são inativadas. O ácido nucléico é liberado (FIGURA 1A).

#### 2º ESTÁGIO: Isolamento do ácido nucléico

Sob alta concentração de sal, todos os ácidos nucléicos no tampão de lise, incluindo os três RNA sintéticos adicionados necessário para o teste (utilizados como controle interno), ligam-se às partículas de sílica. Estas partículas, agindo como fase sólida, são lavadas várias vezes. Finalmente, os ácidos nucléicos são eluídos da fase sólida (FIGURA 1A).

#### 3º ESTÁGIO: Amplificação do ácido nucléico

O RNA de HIV-1 do tipo selvagem, presente no ácido nucléico eluído, é co-amplificado com o RNA obtido do plasma do paciente. A amplificação baseia-se na extensão dos primers. O RNA da amostra e os controles adicionado servem como molde para a extensão do primer 1 (contendo o sítio de reconhecimento da T7 RNA polimerase) pela transcriptase reversa do vírus da mieloblastose aviária (AMV-RT). A extensão é seguida pela degradação da fita de RNA pela RNase H, síntese da segunda fita de DNA pela extensão do primer 2 pela AMV-RT e síntese de RNA pela T7 RNA polimerase. Com a síntese de RNA, o sistema entra na fase de amplificação isotérmica, resultando no acúmulo de RNA amplificados (FIGURAS 2A e 3A).

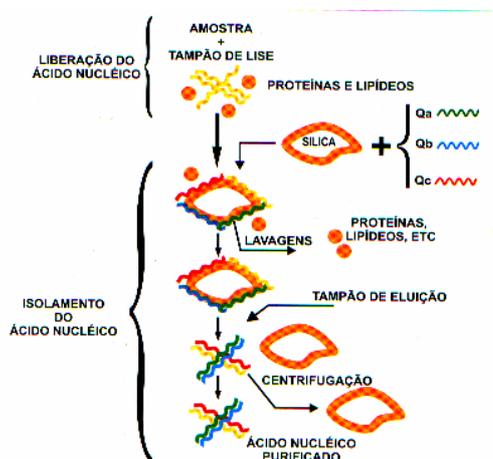


FIGURA 1A – Representação da fase de liberação e isolamento do ácido nucléico.

FONTE: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS, 1999, p.21.

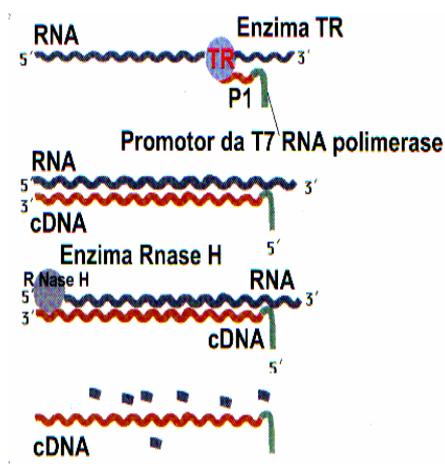


FIGURA 2A – Representação da síntese da primeira fita de cDNA.  
 FONTE: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS, 1999, p.22.

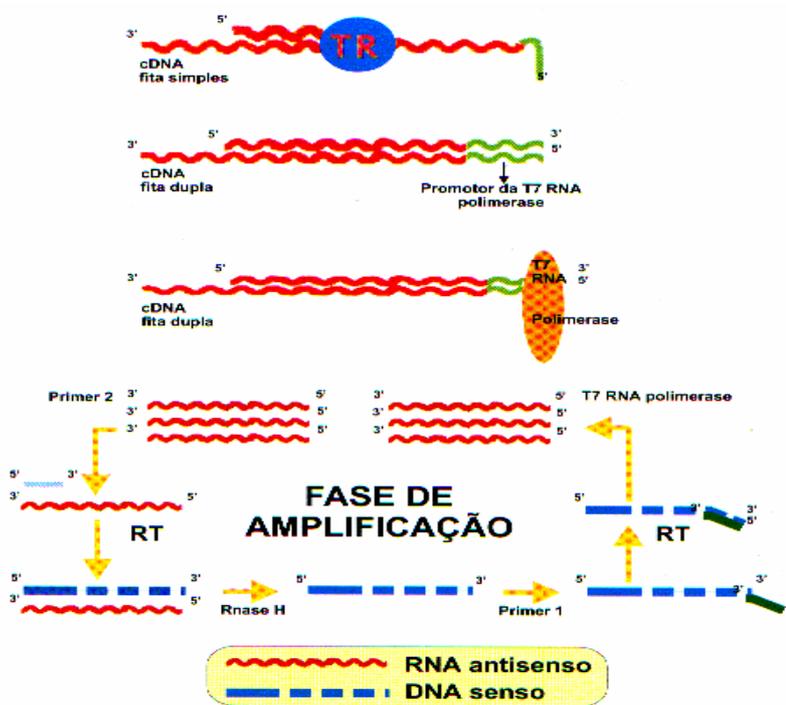


FIGURA 3A – Representação da síntese da segunda fita de DNA e ciclo da amplificação isotérmica.

FONTE: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS, 1999, p.23.

#### 4º ESTÁGIO: Detecção do ácido nucléico

A detecção do RNA de HIV-1 em uma amostra baseia-se no princípio de eletroquimioluminescência (ECL). A detecção do RNA na amostra é feita por uma reação sanduíche entre micropérolas magnéticas marcadas com estreptoavidina, ligadas à biotina-oligo e uma sonda marcada com rutênio, as pérolas magnéticas carregando o complexo amplificado-hibridizado/sonda são capturados na superfície de um eletrodo por meio de um ímã. A tensão aplicada a este eletrodo dispara a reação de eletroquimioluminescência. A luz emitida pelas sondas marcadas com rutênio é proporcional à quantidade de amostra amplificada. O cálculo baseado nas quantidades relativas das amostras amplificadas revela a quantidade original de RNA de HIV-1 do tipo selvagem na amostra (FIGURA 4A).

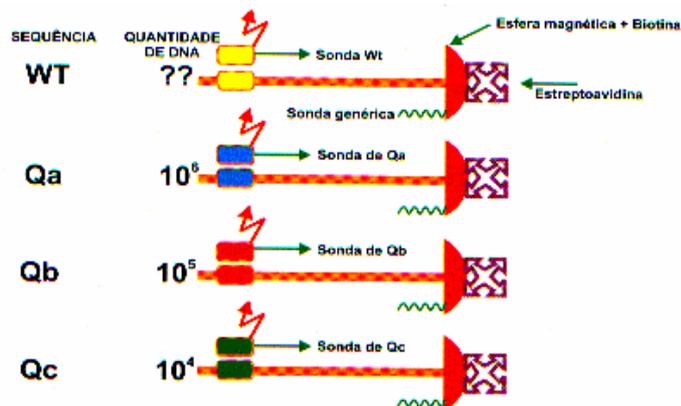


FIGURA 4A – Hibridização da amostra amplificada com sondas específicas e genéricas.  
 FONTE: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS, 1999, p.24.

### B- Teste Quantiplex HIV-1 RNA 3.0 (bDNA)

Segundo o fabricante (BAYER, 2000) a tecnologia do bDNA, é um ensaio de hibridização solução-sanduíche de ácidos nucleicos usando moléculas de DNA ramificadas (bDNA), amplificando o sinal de um alvo de RNA. O que é lido pelo software do System 340 é o nível de sinal emitido pela reação, gerando todas as análises de dados. Os resultados são gerados em cópias/ml ou IU/ml.

O limite de detecção para este teste foi definido como a concentração na qual 95% dos resultados são positivos (ERICE et al., 2000).

A amostra é tratada com reagente de lise e o material nucleico do vírus liberado é então hibridado em solução usando dois conjuntos de sondas oligonucleotídicas.

Uma das sondas serve como sonda de captura (localizada na superfície dos poços da placa) que hibrida especificamente com o RNA do HIV e faz com que o RNA do HIV fique ligada à placa.

A segunda sonda serve como sonda que se liga ao RNA do HIV preso na placa e também serve para hibridar com um outro conjunto de sondas: pré-amplificadora e amplificadora (bDNA), a essa última se atribui a função de aumentar o nível de sinal da hibridização.

As moléculas de bDNA atuam como amplificadoras por se ligar com uma sonda marcada com fosfatase alcalina. Desta maneira, o sinal gerado pelo complexo HIV RNA-sonda é amplificado para detecção e quantificação do RNA viral.

Finalmente, a adição de um substrato quimioluminescente reage com a última sonda e o sinal emitido é lido em um luminômetro. A unidade relativa de luz (RLU) gerada é proporcionalmente correlacionada com a quantidade de RNA do HIV na amostra.

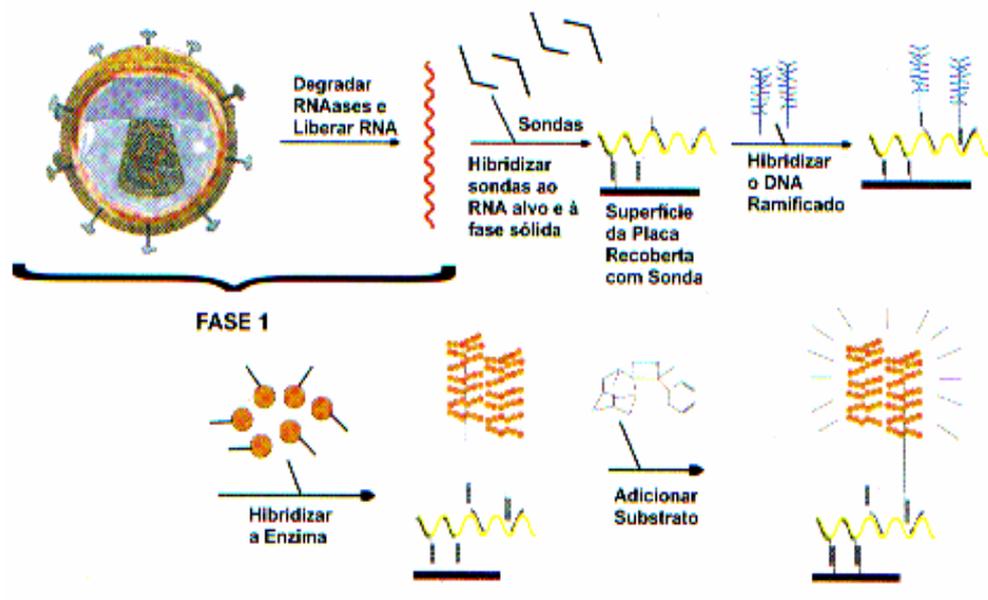


FIGURA 5A- Diagrama esquemático das etapas do teste de quantificação da carga viral do HIV pela técnica bDNA.

Fonte: Bayer (2000).

O valor da carga viral do HIV em logaritmo pelos dois métodos descritos acima é calculado pela expressão  $\log_{10}$  do valor em cópias/ml.

## Apêndice A – Termo de Consentimento livre e esclarecido

Título do projeto: “PROGRAMA MULTICÊNTRICO PARA CONTROLE E PREVENÇÃO DAS LESÕES CERVICAIS DE ALTO RISCO E DO CÂNCER CERVICO-UTERINO EM MULHERES PORTADORAS DO HIV.”

Está sendo feito um estudo no estado de Minas Gerais com as mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV) para detectar lesões que levam ao câncer no colo uterino dessas mulheres.

Este estudo está sendo patrocinado pelo Ministério da Saúde – Secretaria de Políticas de Saúde – Coordenação Nacional de DST/AIDS. O Dr. Victor Hugo de Melo é o coordenador desta pesquisa na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e no Estado de Minas Gerais.

Você está sendo convidada a participar deste estudo. Antes de decidir pela sua participação queremos informá-lo sobre este estudo através deste termo de consentimento. Você poderá fazer perguntas a qualquer momento. Se você decidir entrar no estudo será solicitado que assine este termo de consentimento.

### ***POR QUE ESTE ESTUDO ESTÁ SENDO REALIZADO?***

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) é uma doença que destrói o sistema imunológico do organismo (defesas do organismo para combater as infecções), deixando uma pessoa incapaz de lutar contra doenças que ameaçam a vida.

Pretendemos com este estudo obter informações sobre a associação que existe entre a diminuição das defesas do organismo a presença do papilomavírus humano (HPV), outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), levando a lesões pré-cancerosas e cancerosas no colo uterino das mulheres portadoras do HIV.

Estas informações serão usadas para melhorar o acompanhamento e tratamento das lesões no colo uterino, prevenindo o câncer, porque a grande maioria das mulheres portadoras do HIV (mais de 80%) são portadoras do HPV (vírus que pode causar o câncer no colo uterino).

Os procedimentos realizados neste estudo são os mesmos que você receberia caso opte por não participar dele.

### ***O QUE EU PRECISO FAZER NAS VISITAS DO ESTUDO?***

Se você decidir participar neste estudo, serão colhidas informações sobre a sua saúde e relacionadas a ela em todas as suas consultas.

### ***QUE EXAMES E ANÁLISES DE LABORATÓRIO SERÃO FEITOS NAS VISITAS DO ESTUDO?***

Será realizado um exame ginecológico completo com coleta de material para citologia oncológica (igual à realizada anualmente para prevenção do câncer do colo uterino em qualquer mulher), coleta de material para PCR para HPV (feita com a mesma espátula usada para colher a citologia oncológica).

Necessitaremos que você faça exames de sangue que ajudarão o seu médico a acompanhar como agem as defesas do seu corpo para auxiliar na resposta ao tratamento ginecológico que se fizer necessário para a sua cura ou um melhor controle da lesão pré-cancerosa.

Para a realização destes procedimentos descritos aqui, poderá ser necessário que você compareça em mais de uma consulta.

### ***QUANTAS MULHERES PARTICIPARÃO DESTE ESTUDO E DURANTE QUANTO TEMPO?***

Estima-se a participação de aproximadamente 550 mulheres de diferentes cidades do Estado de Minas Gerais que farão parte neste estudo.

### ***QUAIS SÃO OS RISCOS DESTE ESTUDO?***

Os riscos são muito pequenos. Não há riscos importantes na coleta do material para prevenção do câncer do colo uterino, apenas um leve desconforto ou uma cólica leve.

Quando houver necessidade de biópsia no colo uterino você poderá sentir um cólica leve, raramente poderá ocorrer sangramento aumentado e/ou desmaio.

Caso necessite de cauterização química ou de eletro-cauterização poderá sentir um pouco de dor em cólicas que será minimizada, dependendo da região a ser tratada, com anestésicos locais.

Como em todo procedimento médico existe a possibilidade de insucesso no diagnóstico e tratamento destas lesões. Sabe-se que nas mulheres portadoras do HIV a porcentagem de recidiva (retorno) das lesões do colo uterino é maior do que nas mulheres não portadoras do HIV. Mas, todos os esforços serão feitos no sentido de minimizar as complicações decorrentes desta condição.

### ***HÁ BENEFÍCIOS PELA PARTICIPAÇÃO NESTE ESTUDO?***

Sim. Para você, de imediato: terá a possibilidade de diagnóstico e tratamento de suas lesões no colo uterino, mas é bom lembrar que é o mesmo que você teria se optasse por não participar do estudo ou se desejar desistir de sua participação neste estudo.

Para os médicos: as informações obtidas neste estudo poderão ajudá-los a descobrir mais sobre as lesões pré-cancerosas no colo uterino das mulheres portadoras do HIV. Pretende-se saber se há associação da carga viral (quantidade do vírus - HIV - no corpo) ou a contagem de linfócitos CD4 (são as células da defesa do corpo) determinando a presença ou gravidade destas lesões no colo uterino e infecções como pelo HPV que levam ao câncer. Espera-se que com estes conhecimentos tenhamos mais facilidades no manejo destas pacientes portadoras do HIV, contribuindo para a redução deste câncer cérvico-uterino e melhora na qualidade da vida sexual destas pacientes.

### ***CONFIDENCIALIDADE***

Serão feitos esforços no sentido de manter os prontuários médicos confidenciais (privados), embora não se possa garantir absoluta confidencialidade. O seu prontuário médico poderá ser aberto, se exigido por lei. Os resultados dos seus exames serão mantidos em sigilo. Entretanto, esses prontuários poderão ser vistos por indivíduos que trabalham neste estudo e os resultados poderão ser publicados em revistas científicas. Você não será pessoalmente identificada em nenhuma publicação resultante da informação obtida neste estudo.

**HÁ ALGUM CUSTO PARA MIM?**

Não há nenhum custo para você relacionado com as visitas clínicas, exames ou testes de laboratório em conexão com o estudo.

**EU RECEBEREI ALGUM PAGAMENTO?**

Você não receberá nenhum tipo de remuneração (pagamento) por estar neste estudo. Da mesma forma, não existe nenhuma remuneração para os pesquisadores.

**O QUE ACONTECERÁ SE EU SOFRER LESÃO?**

Se você sofrer algum tipo de lesão em consequência deste estudo, o ambulatório ao qual você está sendo acompanhada em qualquer uma das diversas cidades de Minas Gerais (unidades clínicas) envolvidas neste estudo dispensará a você o tratamento necessário e imediato da lesão. Será comunicado onde você poderá receber tratamento adicional das lesões se for o caso. Você terá também apoio adicional no Centro de Treinamento e Referências em Doenças Infecciosas e Parasitárias da UFMG/PBH (CTR-DIP). Não existe qualquer programa de pagamento a você, mas você não estará renunciando a nenhum direito legal ao assinar este termo de consentimento.

**QUAIS SÃO OS MEUS DIREITOS POR PARTICIPAR DA PESQUISA?**

Sua participação na pesquisa é completamente voluntária. Você tem o direito de recusar a participar da pesquisa a qualquer momento sem prejuízo do seu tratamento.

**DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO**

Eu li este termo de consentimento (ou alguém o explicou para mim), todas as minhas perguntas foram respondidas e concordo em tomar parte neste estudo. Estou ciente de que eu posso sair a qualquer momento, sem perder o direito de receber cuidados médicos.

\_\_\_\_\_  
Nome da paciente

\_\_\_\_\_  
Assinatura da paciente

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Coordenador do Projeto  
Prof. Dr. Victor Hugo de Melo  
Belo Horizonte  
Fone: (31)9968-2401/(31)3273-5233

\_\_\_\_\_  
Professor / Médico  
Cidade / Telefone  
Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG.  
Telefone: (31)3248-9364

**Apêndice B - Programa multicêntrico para controle e prevenção do câncer cérvico-uterino em minas gerais - Centro de Treinamento e Referência de Doenças Infeciosas e Parasitárias Orestes Diniz**

1. PACIENTE \_\_\_\_\_
2. ORDEM (ORDEM) \_\_\_\_\_ 3. REGISTRO (RG) \_\_\_\_\_
4. DATA DE NASCIMENTO (Dt\_Nasc) (\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_)
5. DATA DA ENTREVISTA (Dt\_Entre) (\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_)
6. IDADE (IDADE) \_\_\_\_\_
7. ESTADO CIVIL (CIVIL) (\_\_\_\_)
8. MOTIVO DA CONSULTA  
MOTIVO1 (\_\_\_\_) MOTIVO2 (\_\_\_\_)
9. USO DE ANTI-RETROVIRAIS (ARV) (\_\_\_\_)
10. TEMPO DE USO DE ANTI-RETROVIRAIS (TMED) (meses) (\_\_\_\_)
11. FORMA DE CONTÁGIO (CONTAGIO) (\_\_\_\_)
12. CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 (CD4) \_\_\_\_\_  
Será registrado (digitado) o menor valor
13. CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD8 (CD8) \_\_\_\_\_  
Será registrado (digitado) o menor valor
14. DATA DA CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 E T CD8 (Dt\_CD) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
*Deverá ser registrado a data da COLETA.*
15. DOENÇA INDICADORA DE AIDS – CATEGORIA C (CATC) (\_\_\_\_)
16. QUAL DOENÇA INDICADORA – CATEGORIA C (QUALC) (\_\_\_\_)
17. CATEGORIA B (CATB) (\_\_\_\_)
18. QUAL DOENÇA DA CATEGORIA B (QUALB) (\_\_\_\_)
19. CATEGORIA A (CATA) (\_\_\_\_)
20. CLASSIFICAÇÃO DO CDC (CDC) (\_\_\_\_)
21. DATA DA CLASSIFICAÇÃO DO CDC (Dt\_CDC) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
É a data correspondente a menor dosagem de linfócitos T CD4 de toda a vida da paciente.
22. CARGA VIRAL DO HIV (CV) \_\_\_\_\_  
Será considerados cinco valores cujos laudos estejam no prontuário da paciente, dosados pelo método NUCLISENS ou bDNA, independentemente da sensibilidade de detecção do método.  
(CV1) \_\_\_\_ (CV2) \_\_\_\_ (CV3) \_\_\_\_ (CV4) \_\_\_\_ (CV5) \_\_\_\_
23. METODO DA CARGA VIRAL DO HIV (METODO) (\_\_\_\_)

24. DATA DA CARGA VIRAL (Dt\_CV) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
*Corresponde a data da dosagem da carga viral mais elevada.*

25. MENARCA (MENARCA) \_\_\_\_\_ANOS

26. COITARCA (COITARCA) \_\_\_\_\_ANOS

27. NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS (NPARC) (\_\_\_\_)

28. TABAGISMO (FUMO) (\_\_\_\_)

29. TEMPO DE TABAGISMO (TFUMO) \_\_\_\_\_MESES

30. TEMPO DE EX-TABAGISMO (TEXFUMO) \_\_\_\_\_MESES

31. USO ATUAL DE DROGAS INJETÁVEIS (INJETA) (\_\_\_\_)

32. TIPO DE TRABALHO (TRABALH) (\_\_\_\_)

33. TEMPO DE ESCOLARIDADE (ESCOLA) \_\_\_\_\_ANOS

34. CONTRACEPÇÃO ATUAL (CONTRAC) (\_\_\_\_)

35. HISTÓRIA OBSTÉTRICA

GESTA (G) \_\_\_\_

PARA (P) \_\_\_\_

ABORTO (A) \_\_\_\_

36. VULVOSCOPIA

VULVA (VULVA1) (\_\_\_\_)

*Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vulva.*

VULVA2 (VULVA2) (\_\_\_\_)

*Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vulva.*

37. BIÓPSIA DE VULVA (BVULVA1) (\_\_\_\_)

(BVULVA2) (\_\_\_\_)

38. DATA DA BIÓPSIA DE VULVA (Dt\_Vulva1) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

(Dt\_Vulva2) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

39. VAGINOSCOPIA (VAGINA)

VAGINA1 (VAG1) (\_\_\_\_)

*Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vagina.*

VAGINA2 (VAG2) (\_\_\_\_)

*Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vagina.*

40. BIÓPSIA DE VAGINA (BVAG1) (\_\_\_\_)

(BVAG2) (\_\_\_\_)

41. DATA DA BIÓPSIA DE VAGINA (Dt\_Vag1) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

(Dt\_Vag2) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

42. COLPOSCOPIA (COLO) (\_\_\_\_)

43. ALTERAÇÃO COLPOSCÓPICA NO COLO UTERINO (ACOLO) (\_\_\_\_)

44. BIÓPSIA DE COLO UTERINO (BCOLO1) (\_\_\_\_) (BCOLO2) (\_\_\_\_)

45. DATA DA BIÓPSIA DE COLO UTERINO (Dt\_Colo1) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
(Dt\_Colo2) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

46. COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA (CITO) (\_\_\_\_)

47. DATA DA CITOLOGIA ONCÓTICA (Dt\_Cito) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

48. RESULTADOS DA PCR PARA HPV

PCR (PCR) (\_\_\_\_)

HPV (HPV) (\_\_\_\_)

HPV6 (HPV6) (\_\_\_\_)

HPV11 (HPV11) (\_\_\_\_)

HPV16 (HPV16) (\_\_\_\_)

HPV18 (HPV18) (\_\_\_\_)

HPV31 (HPV31) (\_\_\_\_)

HPV33 (HPV33) (\_\_\_\_)

HPV35 (HPV35) (\_\_\_\_)

49- DATA DA PCR (Dt\_PCR) \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## Manual de instrução para coleta, revisão e codificação dos dados

### 1- NOME DA PACIENTE (PACIENTE)

Constará no banco de dados o nome completo da paciente, devendo ser padronizada a forma de digitação: todo em letras maiúsculas e sem qualquer tipo de acento.

Tipo de variável: texto

### 2- ORDEM (ORDEM)

A forma como as pacientes serão ordenadas no banco de dados.

*Tipo de variável: numérica*

### 3- REGISTRO (RG)

*É o número do prontuário da paciente.*

*Tipo de variável: numérica*

### 4- DATA DE NASCIMENTO (Dt\_Nasc)

Tipo de variável: data (dd/mm/aaaa)

### 5- DATA DA ENTREVISTA (Dt\_Entre)

*Corresponde a data da primeira consulta da paciente.*

Tipo de variável: data (dd/mm/aaaa)

### 6- IDADE (IDADE)

*Entrarão neste estudo mulheres com idade mínima de 16 anos completos à época da data da entrevista.*

Esta variável não precisará ser digitada, bastando apenas apertar a tecla ENTER duas vezes.

Tipo de variável: numérica

**7- ESTADO CIVIL (CIVIL)**

Deverá constar o estado civil da paciente no momento da primeira consulta.

Codificação:

- 1.....solteira
- 2.....viúva
- 3.....união estável
- 4.....casada
- 5.....separada
- 6.....outros

Tipo de variável: texto

**8- MOTIVO DA CONSULTA (MOTIVO1 e MOTIVO2)**

A paciente poderá ter no momento da primeira consulta 1, 2 ou mais queixas principais. Deverá constar na variável MOTIVO1 a principal queixa e no MOTIVO2 a segunda principal queixa da paciente.

*Quando a paciente apresentar apenas uma única queixa na consulta, esta deverá ser colocada no MOTIVO1 e no MOTIVO2 deverá ser colocado o código 88 (=Não se Aplica).*

**VARIÁVEIS:****MOTIVO1**Codificação:

- 1.....exame de rotina
- 2.....corrimento vaginal
- 3.....sangramento irregular
- 4.....dor pélvica
- 5.....amenorréia
- 6.....prurido
- 7.....lesão vulvar e/ou vaginal
- 8.....massa pélvica
- 9.....outras**

**MOTIVO2**Codificação:

- 1.....exame de rotina
- 2.....corrimento vaginal
- 3.....sangramento irregular
- 4.....dor pélvica
- 5.....amenorréia
- 6.....prurido
- 7.....lesão vulvar e/ou vaginal
- 8.....massa pélvica
- 9 .....outras**
- 88.....NA**

Tipo de variável: texto

**9- USO DE ANTI-RETROVIRAIS (ARV)**

Considere o uso ou não de anti-retrovirais no momento da consulta, independente do número e do tipo de medicamentos em uso.

Poderão entrar neste estudo pacientes em uso ou não de anti-retrovirais.

Codificação:

- 1.....usa anti-retrovirais
- 2.....não usa anti-retrovirais
- 3.....aguardando resultado de exame
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**10- TEMPO DE USO DE ANTI-RETROVIRAIS (TMED)**

Todo o tempo de uso da medicação anti-retroviral deverá ser digitado em **MESES**, independente da adesão ao uso da medicação.

**Caso na variável ARV tenha usado o código 2, 3 ou 9, nesta variável TMED deverá ser colocado o código 9999.**

Tipo de variável: numérica

**11- FORMA DE CONTÁGIO (CONTAGIO)**

É a forma como a paciente se contaminou com o HIV.

Codificação:

- 1.....sexual
- 2.....sangue
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**12- CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 (CD4)**

Serão consideradas as dosagens cujos laudos constarem no prontuário e que tenham sido analisadas pelo método de citometria de fluxo.

Será registrado (digitado) o **menor valor** da contagem de linfócitos T CD4 na data correspondente.

**Nos casos em que se estiver AGUARDANDO RESULTADO do exame utilizar o código 6666.**

**Nos casos que não existirem valores utilizaremos o código 9999 (IGNORADO).**

**VARIÁVEIS: CD4**

Tipo de variável: numérica

**13- CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD8 (CD8)**

Serão consideradas as dosagens cujos laudos constarem no prontuário e que tenham sido analisadas pelo método de citometria de fluxo.

Será registrado (digitado) o **menor valor** da contagem de linfócitos T CD8 na data correspondente.

**Nos casos em que se estiver AGUARDANDO RESULTADO do exame utilizar o código 6666.**

**Nos casos que não existirem valores utilizaremos o código 9999 (IGNORADO).**

**VARIÁVEIS:****CD8**

Tipo de variável: numérica

**14- DATA DA CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 E T CD8 (Dt\_CD)**

*Corresponde à data da menor dosagem de linfócitos T CD4 até o dia da primeira consulta. Deverá ser registrado a data da COLETA.*

Quando a variável **CD4 e CD8** for “6666”, a variável **Dt\_CD** será codificada com a **data da coleta**. Caso a paciente não saiba a data da coleta codificar com **09/09/1909**. Quando a variável **CD4 e CD8** for “9999”, a variável **Dt\_CD** será codificada com **09/09/1909**.

Geralmente temos os resultados simultâneos de CD4 e CD8. No entanto, se uma das variáveis **CD4 ou CD8** for “9999”, a variável **Dt\_CD** deverá ser preenchida com a data da variável CD4 ou CD8 que constar no laudo do laboratório.

Tipo de variável: data da coleta (dd/mm/aaaa)

**15- DOENÇA INDICADORA DE AIDS – CATEGORIA C (CATC)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**Classificação da infecção pelo HIV – CDC, 1992**

<b>Categorias Clínicas</b>			
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>Categorias Laboratoriais/ Linfócitos T CD4</b>	<b>Assintomático, Linfadenopatia Generalizada</b>	<b>Sintomático, não-C</b>	<b>não-A, Condições de AIDS</b>
	<b>Persistente ou Infecção Aguda</b>		<b>Indicadoras</b>
(1) > 500/mm <sup>3</sup>	A1	B1	C1
(2) 200 a 499/mm <sup>3</sup>	A2	B2	C2
(3) < 200/mm <sup>3</sup>	A3	B3	C3

1. Contagem de CD4 < 200/ mm<sup>3</sup> é definidora de AIDS, independente de manifestações clínicas .

2. Categoria clínica B: condições devem ser atribuídas ao HIV ou ter seu curso modificado pela infecção pelo HIV (por exemplo, candidíase oral ou vaginal, dermatite seborreica etc.)

3. Categoria clínica C: condições definidoras de AIDS de acordo com a definição do CDC de 1987, acrescidas de câncer cervical invasivo, pneumonia bacteriana recorrente (+ de dois episódios em um ano) e tuberculose pulmonar.

FONTES: RACHID & SCHECHTER, 2003, p. 215

**16- QUAL DOENÇA INDICADORA – CATEGORIA C (QUALC)**

Se a paciente tem pelo menos uma doença indicadora, registrar uma delas conforme a codificação abaixo. Caso ela não tenha o código será **88 (NA)**.

São doenças indicadoras de casos de AIDS em adultos, segundo a classificação do CDC.

Codificação:

- 1.....Candidíase de esôfago, traquéia, bronquios ou pulmões
- 2.....Câncer cervical invasivo
- 3.....CMV em qualquer órgão exceto fígado, baço, linfonodos, olhos
- 4.....TBC pulmonar e extrapulmonar
- 5.....Pneumonia por Pneumocystis carinii
- 6.....Toxoplasmose de um órgão interno
- 7.....Coccidiodomicose extrapulmonar
- 8.....Criptococose extrapulmonar
- 9.....Criptosporidiose com diarreia > 1 mês
- 10.....Herpes simples com úlcera mucocutânea com > 1 mês ou bronquite, pneumonite, esofagite
- 11.....Histoplasmose extrapulmonar
- 12.....Demência associada ao HIV: disfunção cognitiva incapacitante e/ou outras disfunções interferindo no trabalho ou nas atividades cotidianas
- 13.....Síndrome consuptiva associada ao HIV: perda ponderal involuntária >10% do peso corporal + diarreia crônica (>=2 episódios de fezes amolecidas por dia durante >=30 dias) ou fraqueza crônica e febre de origem obscura documentada por >= 30 dias
- 14.....Isosporíase com diarreia >1 mês
- 15.....Sarcoma de Kaposi (SK) em paciente com menos de 60 anos (ou com mais de 60 anos)
- 16.....Mycobacterium avium disseminado
- 17.....Pneumonia bacteriana recorrente (>= 2 episódios em 12 meses)
- 18.....Leucoencefalopatia multifocal progressiva
- 19.....Septicemia recorrente por Salmonella (não tifóide)
- 88.....NA**
- 99.....Ignorado**

Tipo de variável: texto

**17- CATEGORIA B (CATB)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**18- QUAL DOENÇA DA CATEGORIA B (QUALB)**

Se a paciente tem pelo menos uma doença da categoria B, registrar uma delas conforme a codificação abaixo. Caso ela não tenha o código será **88 (NA)**.

São condições que devem ser atribuídas ao HIV ou ter seu curso modificado pela infecção pelo HIV. Estas são condições não incluídas na Categoria C, porém atribuídas à infecção pelo HIV ou indicativas de deficiência imune celular ou consideradas como tendo um curso clínico/tratamento complicado pela infecção pelo HIV:

Codificação:

- 1.....Candidíase de orofaringe recorrente, persistente ou com baixa resposta terapêutica
- 2.....Candidíase vulvovaginal persistente, freqüente ou respondendo mal ao tratamento
- 3.....Displasia cervical moderada a grave / *Ca in situ*
- 4.....Sintomas constitucionais como febre (38,5° C)
- 5.....Diarréia por mais de 1 mês
- 6.....Leucoplasia pilosa oral
- 7.....Herpes Zooster envolvendo dois episódios ou mais de um dermatomo
- 8.....Púrpura trombocitopênica idiopática (PTI)
- 9.....Listeriose
- 10.....Doença inflamatória pélvica (DIP), especialmente quando complicada por abscesso tubo-ovariano
- 11.....Neuropatia periférica
- 88.....NA**
- 99.....Ignorado**

Tipo de variável: texto

**19- CATEGORIA A (CATA)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**20- CLASSIFICAÇÃO DO CDC (CDC)**

Todas as pacientes nas categorias A3,B3 e C1 a C3 têm AIDS, com base na presença de uma doença definidora de AIDS e/ou contagem de células T CD4 < 200 células/mm<sup>3</sup>.

Codificação:

- 1.....A1
- 2.....A2
- 3.....A3
- 4.....B1
- 5.....B2
- 6.....B3
- 7.....C1
- 8.....C2
- 9.....C3

**99.....Ignorado**

Tipo de variável: texto

**21- DATA DA CLASSIFICAÇÃO DO CDC (Dt\_CDC)**

É a data correspondente a **menor** dosagem de linfócitos T CD4 de toda a vida da paciente. Lembrar que a paciente pode aumentar o número de células CD4 com o uso de ARV. No entanto, se ela atingiu, por exemplo, a classificação 3 (CD4 abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>) mesmo que a contagem de células CD4 aumente para 400 células/mm<sup>3</sup> ela permanecerá na categoria 3.

Quando a variável **CDC** for “**99**”, a variável **Dt\_CDC** será codificada com **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da coleta do menor valor de células CD4 (dd/mm/aaaa)

**22- CARGA VIRAL DO HIV (CV)**

Serão considerados cinco valores da carga viral cujo laudo esteja no prontuário da paciente, dosados pelo método NUCLISENS ou bDNA, independentemente da sensibilidade de detecção do método.

**Codificação:**

- Valores <80 cópias/ml ou abaixo do limite de detecção (NUCLISENS) será codificado com o número **1 (INDETECTAVEL)**.
- Valores <50 cópias/ml ou abaixo do limite de detecção (bDNA) será codificado com o número **1 (INDETECTAVEL)**.
- Valores <400 cópias/ml ou abaixo do limite de detecção (quando o método de quantificação da carga viral do HIV for pelo NUCLISENS – critério antigo) será codificado com o número **1 (INDETECTAVEL)**.
- Nos casos em que o resultado da carga viral estiver acima dos valores indetectáveis deve ser registrado o valor numérico encontrado.

*Quando ocorrer de não existir valores também utilizaremos o código **IGNORADO=9**.*

Tipo de variável: numérica

CV1: a dosagem mais próxima da coleta para PCR até 1 ano antes da data da coleta.

CV2: a dosagem mais antiga ( 1ª que constar no prontuário até 2 anos antes da data da coleta para PCR).

CV3: a dosagem mais recente.

CV4: a dosagem mais alta.

CV5: a dosagem mais baixa.

**23-METODO DA CARGA VIRAL DO HIV (METODO)**

Serão os métodos de quantificação da carga viral do HIV utilizados com seus respectivos valores de sensibilidade de detecção.

**Codificação:**

- 1.....Nuclisens <80
- 2.....Nuclisens <400
- 3.....bDNA <50
- 9.....Ignorado

Tipo de variável: texto

METODO1: corresponde à CV1

METODO2: corresponde à CV2

METODO3: corresponde à CV3

METODO4: corresponde à CV4

METODO5: corresponde à CV5

**24- DATA DA CARGA VIRAL (Dt\_CV)**

*Corresponde a data da dosagem da carga viral.*

Quando a variável CV for “9”, a variável Dt\_CV será codificada com **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da coleta (dd/mm/aaaa)

Dt\_CV1: corresponde à CV1

Dt\_CV2: corresponde à CV2

Dt\_CV3: corresponde à CV3

Dt\_CV4: corresponde à CV4

Dt\_CV5: corresponde à CV5

**25- MENARCA (MENARCA)**

A idade da primeira menstruação deverá ser digitada em ANOS completos.

Tipo de variável: numérica

**26- COITARCA (COITARCA)**

A idade da primeira relação sexual ser digitada em ANOS completos.

Tipo de variável: numérica

**27- NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DURANTE A VIDA (NPARC)**

O número de parceiros sexuais deverá ser digitado no espaço correspondente.

Tipo de variável: numérica

**28- TABAGISMO (FUMO)**

Considerar as pacientes com apenas 01 mês de cessado o uso do cigarro como tabagista (1=sim na codificação).

Considerar a paciente que está iniciando o uso do cigarro a menos de 01 mês como não tabagista (2= não na codificação).

Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 3.....ex-tabagista
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**29- TEMPO DE TABAGISMO (TFUMO)**

Digitar o tempo de uso do cigarro em **MESES**, quando a variável **FUMO=1**.

Quando a variável **FUMO=2** ou **3** ou **9**, usar o código **1**.

Tipo de variável: numérica

**30- TEMPO DE EX-TABAGISMO (TEXFUMO)**

Digitar o tempo que a paciente parou de fumar em **MESES**, quando a variável **FUMO=3**.

Quando a variável **FUMO=1** ou **2** ou **9**, usar o código **1**.

Tipo de variável: numérica

**31- USO ATUAL DE DROGAS INJETÁVEIS (INJETA)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 3.....já usou
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**32- TIPO DE TRABALHO (TRABALH)**Codificação:

- 1.....do lar (independente de ser empregada ou empregadora)
- 2.....fora do lar
- 3.....profissionais do sexo
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**33- TEMPO DE ESCOLARIDADE (ESCOLA)**

O tempo de escolaridade deverá ser digitado em **ANOS** completos.

Quando nunca tiver frequentado a escola ou tiver frequentado menos de 01 ano usar o código **99**.

Tipo de variável: numérica

**34- CONTRACEPÇÃO ATUAL (CONTRAC)**Codificação:

- 1.....condom
- 2.....ACO
- 3.....DIU
- 4.....diafragma
- 5.....injetável
- 6.....STB

- 7.....vasectomia
- 8.....método natural
- 9.....nenhum
- 10.....condom + outro método
- 99.....ignorado**

Tipo de variável: texto

### 35- HISTÓRIA OBSTÉTRICA

#### VARIÁVEIS:

- GESTA (G)**
- PARA (P)**
- ABORTO (A)**

Tipo de variável: numérica (3 variáveis cada uma com 2 dígitos)

### 36- VULVOSCOPIA

Considera-se qualquer alteração no exame da vulva a ectoscopia ou a vulvosopia, segundo a classificação de Coppleson e Pixley (1992).

#### VARIÁVEIS:

**VULVA1 (VULVA1)**

*Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vulva.*

#### Codificação:

- 1.....normal (papilas ou filamentos constitucionais / lentigo simples / melanose)
- 2.....eritema
- 3.....herpes genital
- 4.....acetobranqueamento inespecífico: atrito/infecção
- 5.....condiloma acuminado / HPV na forma clínica
- 6.....cistos
- 7.....nevus
- 8.....alteração da cor (branca, acetobranca, marron ou outra pigmentação)
- 9.....alteração vascular (pontilhado, mosaico, vasos atípicos)
- 10.....hiperceratótica (= leucoplasia)
- 77.....outras alterações**
- 99.....ignorado**

Tipo de variável: texto

**VULVA2 (VULVA2)**

*Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vulva.*

#### Codificação:

- 1.....normal (papilas ou filamentos constitucionais / lentigo simples / melanose)
- 2.....eritema
- 3.....herpes genital
- 4.....acetobranqueamento inespecífico: atrito/infecção
- 5.....condiloma acuminado / HPV na forma clínica
- 6.....cistos
- 7.....nevus
- 8.....alteração da cor (branca, acetobranca, marron ou outra pigmentação)
- 9.....alteração vascular (pontilhado, mosaico, vasos atípicos)
- 10.....hiperceratótica (= leucoplasia)
- 77.....outras alterações**
- 88.....NA**

Tipo de variável: texto

**7- BIÓPSIA DE VULVA (BVULVA1)**

Colocar aqui o resultado histopatológico caso tenha sido realizado a biópsia de vulva.

Codificação:

- 1.....normal
- 2.....líquen escleroso
- 3.....hiperplasia escamosa pura | Alt. epiteliais não neoplásicas
- 4.....alterações epiteliais mistas
- 5.....VIN I
- 6.....VIN II
- 7.....VIN III
- 8.....Doença de Paget || Neoplasia intra-epitelial não pavimentosa
- 9.. .....Melanoma *in situ* ||
- 10.....Neoplasias invasoras
- 11.....Tumores benignos
- 12.....Condiloma acuminado/HPV
- 77.....Outras alterações**
- 66.....aguardando resultado**
- 88.....biópsia não realizada**

Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.

Tipo de variável: texto

**(BVULVA2)**

*Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vulva.*

Codificação:

- 1.....normal (papilas ou filamentos constitucionais / lentigo simples / melanose)
- 2.....eritema
- 3.....herpes genital
- 4.....acetobranqueamento inespecífico: atrito/infecção
- 5.....condiloma acuminado / HPV na forma clínica
- 6.....cistos
- 7.....nevus
- 8.....alteração da cor (branca, acetobranca, marron ou outra pigmentação)
- 9.....alteração vascular (pontilhado, mosaico, vasos atípicos)
- 10.....hiperceratótica (= leucoplasia)
- 77.....outras alterações**
- 88.....NA**

Tipo de variável: texto

**38- DATA DA BIÓPSIA DE VULVA (Dt\_Vulva1)**

*É a data da realização da biópsia de vulva.*

Quando a variável **BVULVA** for “66”, a variável **Dt\_Vulva** será codificada com a data da realização da biópsia.

Quando a variável **BVULVA** for “88”, a variável **Dt\_Vulva** será codificada com **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

**(Dt\_Vulva2)**

Considerar nesta variável data de uma SEGUNDA biópsia caso tenha sido realizada

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

**39- VAGINOSCOPIA (VAGINA)**

Considera-se qualquer alteração no exame da vagina a ectoscopia (ex: condiloma acuminado) ou vaginoscopia.

**VARIÁVEIS:****VAGINA1 (VAG1)**

*Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vagina.*

Codificação:

- 1.....normal
- 2.....superfície acetobranca plana
- 3.....superfície acetobranca com micropapilas
- 4.....lesão com bordos nítidos
- 5.....pontilhado fino
- 6.....mosaico
- 7.....leucoplasia
- 8.....colpite micropapilar difusa e focal
- 9.....condiloma acuminado/HPV
- 77.....outras alterações**
- 99.....ignorado**

*Tipo de variável: texto*

**VAGINA2 (VAG2)**

*Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vagina.*

Codificação:

- 1.....superfície acetobranca plana
- 2.....superfície acetobranca com micropapilas
- 3.....lesão com bordos nítidos
- 4.....pontilhado fino
- 5.....mosaico
- 6.....leucoplasia
- 7.....colpite micropapilar difusa e focal
- 8.....condiloma acuminado/HPV
- 77.....outras alterações**
- 88.....NA**

**40- BIÓPSIA DE VAGINA (BVAG1)**

Colocar aqui o resultado histopatológico caso tenha sido realizado a biópsia de vagina.

Codificação:

- 1.....normal
- 2.....adenose
- 3.....VAIN I
- 4.....VAIN II
- 5.....VAIN III
- 6.....Tumores malignos (carcinoma espinocelular invasivo, adenocarcinoma de células claras, tumores do seio endodérmico, sarcoma botrióide, leiomiossarcoma, melanoma maligno)
- 7.....HPV/ Condiloma acuminado
- 66.....aguardando resultado**
- 88.....biópsia não realizada**

*Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.*

*Tipo de variável: texto*

**(BVAG2)**

*Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração diagnosticada por biópsia.*

Codificação:

- 1.....normal
- 2.....adenose
- 3.....VAIN I

- 4.....VAIN II  
 5.....VAIN III  
 6.....Tumores malignos (carcinoma espinocelular invasivo, adenocarcinoma de células claras, tumores do seio endodérmico, sarcoma botrióide, leiomiossarcoma, melanoma maligno)  
 7.....HPV/ Condiloma acuminado  
**66.....aguardando resultado**  
**88.....biópsia não realizada**

*Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.*

Tipo de variável: texto

#### **41- DATA DA BIÓPSIA DE VAGINA (Dt\_Vag1)**

*É a data da realização da biópsia da vagina.*

Quando a variável **BVAG** for “66”, a variável **Dt\_Vag** será a data da realização da biópsia.

Quando a variável **BVAG** for “88”, a variável **Dt\_Vag** será **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

#### **(Dt\_Vag2)**

É a data da realização da SEGUNDA biópsia caso tenha sido realizada.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

#### **42- COLPOSCOPIA (COLO)**

Define se a avaliação colposcópica foi normal ou alterada.

##### Codificação:

- 1.....normal  
 2.....alterada  
 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

#### **43- TIPO DE ALTERAÇÃO COLPOSCÓPICA NO COLO UTERINO (ACOLO)**

Se a variável **COLO** for “1” a variável **ACOLO** poderá ser “1” ou “8”.

Se a variável **COLO** for “9” a variável **ACOLO** será **9 (=IGNORADO)**

#### **VARIÁVEIS:**

**ACOLO1**

**(ACOLO1)**

*Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada à colposcopia.*

##### Codificação:

1.....**características colposcópicas sugestivas de alterações metaplásicas** (superfície lisa com vasos de calibre uniforme – alterações acetobranças moderadas – iodo negativo ou parcialmente positivo)

2.....**alterações menores** (superfície lisa com uma borda externa irregular – alteração acetobrança leve, que aparece tardiamente e desaparece rapidamente – iodo negatividade moderada, freqüentemente iodo malhado com positividade parcial – pontilhado fino e mosaico regular)

3.....**alterações maiores** (superfície geralmente lisa com borda externa aguda e bem marcada – alteração acetobrança densa, que aparece precocemente e desaparece lentamente; podendo apresentar um branco nacarado que lembra o de ostra – negatividade ao iodo, coloração amarelo-mostarda em epitélio densamente branco previamente existente – pontilhado grosseiro e mosaico de campos irregulares e de tamanhos discrepantes – acetobranqueamento denso no epitélio colunar pode indicar doença glandular)

4.....**características colposcópicas sugestivas de câncer invasivo** (superfície irregular, erosão ou ulceração – acetobranqueamento denso – pontilhado irregular extenso e mosaico grosseiro – vasos atípicos)

**8.....NA**

**9.....ignorado**

Tipo de variável: texto

**ACOLO2 (ACOLO2)**

Considerar nesta variável a **SEGUNDA** principal alteração visualizada à colposcopia.

Codificação:

1.....**características colposcópicas sugestivas de alterações metaplásicas** (superfície lisa com vasos de calibre uniforme – alterações acetobranças moderadas – iodo negativo ou parcialmente positivo)

2.....**alterações menores** (superfície lisa com uma borda externa irregular – alteração acetobrança leve, que aparece tardiamente e desaparece rapidamente – iodo negatividade moderada, frequentemente iodo malhado com positividade parcial – pontilhado fino e mosaico regular)

3.....**alterações maiores** (superfície geralmente lisa com borda externa aguda e bem marcada – alteração acetobrança densa, que aparece precocemente e desaparece lentamente; podendo apresentar um branco nacarado que lembra o de ostra – negatividade ao iodo, coloração amarelo-mostarda em epitélio densamente branco previamente existente – pontilhado grosseiro e mosaico de campos irregulares e de tamanhos discrepantes – acetobranqueamento denso no epitélio colunar pode indicar doença glandular)

4.....**características colposcópicas sugestivas de câncer invasivo** (superfície irregular, erosão ou ulceração – acetobranqueamento denso – pontilhado irregular extenso e mosaico grosseiro – vasos atípicos)

8.....NA

9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**44- BIÓPSIA DE COLO UTERINO (BCOLO1)**

Define se foi realizado biópsia do colo uterino e qual a alteração histopatológica encontrada.

Codificação:

1.....normal (inclui metaplasia)

2.....cervicite (leve, moderada ou acentuada)

3.....HPV

4.....NIC I

5.....NIC II

6..... NIC III/Ca *in situ*

7.....Carcinoma microinvasor

8.....Carcinoma invasor

**66.....aguardando resultado**

**88.....biópsia não realizada**

*Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.*

**Tipo de variável: texto**

**(BCOLO2)**

**Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração alteração diagnosticada por biópsia.**

Codificação:

1.....normal (inclui metaplasia)

2.....cervicite (leve, moderada ou acentuada)

3.....HPV

4.....NIC I

5.....NIC II

6..... NIC III/Ca *in situ*

7.....Carcinoma microinvasor

8.....Carcinoma invasor

**66.....aguardando resultado**

**88.....biópsia não realizada**

*Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.*

**Tipo de variável: texto**

**45- DATA DA BIÓPSIA DE COLO UTERINO (Dt\_Colo1)**

*É a data da realização da biópsia do colo uterino.*

Quando a variável **BCOLO** for “**66**”, a variável **Dt\_Colo** será a data da realização da biópsia.

Quando a variável **BCOLO** for “**88**”, a variável **Dt\_Colo** será **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

**(Dt\_Colo2)**

É a data da realização da SEGUNDA biópsia caso tenha sido realizada.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

**46- COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA (CITO1)**

Para entrar o resultado no banco de dados o material deve ter **adequabilidade satisfatória**. Toda paciente deverá ter pelo menos um resultado de citologia até 6 ( seis ) meses para que se submeta a coleta do material para a PCR.

Codificação:

- 1.....normal (inclui metaplasia escamosa e alterações celulares benignas)
- 2.....alterações inflamatórias (incluindo infecções por bactérias, fungos ou protozoários)
- 3.....HPV (alterações sugestivas, efeito citopático, etc.)
- 4.....NIC I
- 5.....NIC II
- 6..... NIC III/Ca *in situ*
- 7.....Carcinoma microinvasor
- 8.....Carcinoma invasor
- 66.....aguardando resultado**

*No caso de material insatisfatório a citologia deve ser repetida.*

*Quando for utilizada a codificação **66** esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da citologia.*

Tipo de variável: texto

**CITO2 (CITO2)**

Refere-se a um SEGUNDO achado no exame colpocitológico.

Codificação:

- 1.....normal (inclui metaplasia escamosa e alterações celulares benignas)
- 2.....alterações inflamatórias (incluindo infecções por bactérias, fungos ou protozoários)
- 3.....HPV (alterações sugestivas, efeito citopático, etc.)
- 4.....NIC I
- 5.....NIC II
- 6..... NIC III/Ca *in situ*
- 7.....Carcinoma microinvasor
- 8.....Carcinoma invasor
- 66.....aguardando resultado**
- 88.....NA**

**CITO3 (CITO3)**

Refere-se a um TERCEIRO achado no exame colpocitológico.

Codificação:

- 1.....normal (inclui metaplasia escamosa e alterações celulares benignas)
- 2.....alterações inflamatórias (incluindo infecções por bactérias, fungos ou protozoários)
- 3.....HPV (alterações sugestivas, efeito citopático, etc.)

- 4.....NIC I  
 5.....NIC II  
 6..... NIC III/Ca *in situ*  
 7.....Carcinoma microinvasor  
 8.....Carcinoma invasor  
**66.....aguardando resultado**  
**88.....NA**

Terminologia para as lesões precursoras do câncer cervical

<b>WHO/ISGYP* classificação</b>	<b>Terminologia do Sistema de Bethesda</b>
Displasia leve (NIC 1)	Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (SIL de baixo grau = LSIL)
Displasia moderada (NIC 2)	Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (SIL de alto grau = HSIL)
Displasia grave/Carcinoma <i>in situ</i> (NIC 3)	

\*World Health Organization and International Society of Gynecological Pathologists.

FONTE: WRIGHT TC, 2002, p. 256

#### **47- DATA DA COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA (Dt\_Cito)**

*É a data da coleta da colpocitologia oncológica.*

Quando a variável **CITO** for “66”, a variável **Dt\_Cito** será a data da coleta da citologia.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

#### **48- RESULTADOS DA PCR PARA HPV**

##### **VARIÁVEIS:**

**PCR (PCR)**  
Codificação:  
 1.....realizada  
 2.....não realizada  
 9.....ignorado  
 Tipo de variável: texto

**HPV (HPV)**  
Codificação:  
 1.....positivo  
 2.....negativo  
 3.....inibidora  
 4.....material inadequado  
 9.....ignorado

Nos casos da codificação for “3” ou “4” o material deverá ser coletado novamente.

Tipo de variável: texto

**HPV6 (HPV6)**  
Codificação:  
 1.....sim  
 2.....não  
 9.....ignorado  
 Tipo de variável: texto

**HPV11 (HPV11)**  
Codificação:  
 1.....sim  
 2.....não  
 9.....ignorado  
 Tipo de variável: texto

**HPV16 (HPV16)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV18 (HPV18)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV31 (HPV31)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV33 (HPV33)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV35 (HPV35)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**49- DATA DA PCR (Dt\_PCR)**

É a data da coleta da PCR.

Tipo de variável: data da coleta (dd/mm/aaaa)