

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA**

**MARIA GABRIELLE DE LIMA ROCHA**

**DETECÇÃO CITOPATOLÓGICA E MOLECULAR DA INFECÇÃO POR  
PAPILOMAVIRUS HUMANO E SUA TIPAGEM EM AMOSTRAS  
PENIANAS DE PACIENTES ATENDIDOS EM SERVIÇO PÚBLICO DE  
ATENÇÃO À SAÚDE DE BELO HORIZONTE – MG**

**Belo Horizonte  
2008**

**MARIA GABRIELLE DE LIMA ROCHA**

**DETECÇÃO CITOPATOLÓGICA E MOLECULAR DA INFECÇÃO POR  
PAPILOMAVIRUS HUMANO E SUA TIPAGEM EM AMOSTRAS  
PENIANAS DE PACIENTES ATENDIDOS EM SERVIÇO PÚBLICO DE  
ATENÇÃO À SAÚDE DE BELO HORIZONTE – MG**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Dra. Ana Paula Salles Moura  
Fernandes

Co-orientadora: Dra. Paula Ávila Fernandes

**Belo Horizonte  
2008**


## FOLHA DE APROVAÇÃO


**"Detecção citopatológica e molecular da infecção por Papilomavirus Humano e sua tipagem em amostras penianas de pacientes atendidos em serviço público de atenção à saúde de Belo Horizonte - MG".**

**Maria Gabrielle de Lima Rocha**

Dissertação aprovada em 30/04/2008 pela Comissão Examinadora constituída pelos seguintes membros:

  
**Profa. Dra. Cláudia Martins Carneiro**  
Departamento de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da UFOP

  
**Dra. Jaqueline Germano de Oliveira**  
Pesquisadora do Laboratório de Vírus do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

  
**Profa. Dra. Paula Ávila Fernandes (Co-orientadora)**  
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG

  
**Profa. Dra. Ana Paula Salles Moura Fernandes (Orientadora)**  
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFM

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho à minha família, minha mãe Francisca, meu pai Gabriel, meu namorado Vitor, minha irmã Grazielle e meu cunhado Renan.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, a Osùn, aos meus mestres e guias;

A minha orientadora Prof<sup>a</sup> Ana Paula Salles Moura Fernandes e minha co-orientadora Prof<sup>a</sup> Paula Ávila Fernandes pelo apoio e conhecimento compartilhado, pela paciência e dedicação, por me ensinarem o caminho a trilhar. Vocês foram muito importantes no desenvolvimento e conclusão deste trabalho;

Aos bolsistas Fábio e Lucas que muito me ajudaram a superar a rotina árdua de um laboratório. Vocês foram minhas outras quatro mãos;

Aos amigos do laboratório de Biologia Molecular: Jarbas, Daniela, Karina, Fátima, Taíse e Mateus pelo companheirismo e apoio;

Ao Adriano pela amizade e pela ajuda na análise estatística;

À amiga e colega de pós-graduação Sabrina, pelo apoio, amizade e por estar ao meu lado nos momentos difíceis;

Aos médicos da Policlínica Centro-Sul: Dr. Paulo César Gomes Guerra, Dr. Antônio Eduardo P. Fonseca, Dr. Pedro Lúcio Saraiva e Dr. Virgílio Vieira Neto, pela colaboração e atenção. Por me ajudarem com carinho a obter os participantes deste trabalho. Ao Dr. Virgílio pelos seus ensinamentos, artigos e “aulas” que contribuíram, e muito, para meu amadurecimento como profissional sendo um exemplo a ser seguido;

À enfermeira Leonor Gonçalves que sempre me apoiou e me incentivou, participando ativamente de muitas etapas desse trabalho;

À coordenadora do Centro de Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis Maria do Carmo Moreira de Souza, à gerente Dra. Magda Vieira dos Santos pelo apoio e permissão para a realização deste trabalho;

A todos os funcionários da Policlínica Centro-Sul que me receberam de braços abertos, principalmente à Darc e Cida pela amizade e carinho;

À todos homens e mulheres que voluntariamente participaram desse trabalho;

A todos os professores, colegas e funcionários da Faculdade de Farmácia que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho;

A todos os meus amigos e familiares que sempre me apoiaram me dando forças para concluir essa jornada.

*Não há nada como o sonho para  
criar o futuro. Utopia hoje, carne e  
osso amanhã.*

Victor Hugo

## RESUMO

Foi objetivo desse estudo detectar a infecção por HPV em amostras penianas de 104 pacientes atendidos na Policlínica da região Centro-Sul - Centro de Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis (CTDST) da Prefeitura de Belo Horizonte por meio das técnicas molecular (PCR) e citopatológica (citologia em meio líquido). Foram coletadas ainda 26 amostras cervicais das parceiras de alguns dos homens envolvidos no estudo. A tipagem de HPV foi conduzida também por PCR. A prevalência de infecção por HPV detectada foi de 94,23%. HPV do tipo 16 foi detectado em 46,15% das amostras, HPV-18 em 30,77%, HPV-31 em 19,23%, HPV-33 em 4,81%, HPV-45 em 1,92% e HPV-6/11 em 75% das amostras. Infecções por mais de um tipo viral foram detectadas em 61% dos pacientes. HPVs de alto risco foram detectados em 77% dos pacientes com condiloma acuminado e em 62,8% dos homens parceiros de mulheres com diagnóstico de infecção por HPV. A concordância global entre os tipos virais detectados nos parceiros foi de apenas 3,8%. A idade dos pacientes (OR=4,29; IC<sub>95%</sub>=1,82-10,12; p=0,001) e a existência de parceiros múltiplos (OR=4,43; IC<sub>95%</sub>=1,28-16,28; p=0,01) foram fatores significativamente associados à presença de múltiplas infecções por HPV. A detecção citopatológica da infecção por HPV por meio da técnica da citologia em meio líquido foi baixa (24%), não se constituindo em um método de diagnóstico adequado à detecção da infecção por HPV em amostras penianas. A alta prevalência da infecção por HPVs de alto risco e múltiplas infecções em pacientes jovens e com múltiplos parceiros sexuais indica a necessidade de programas educacionais voltados para a população masculina com o objetivo de reduzir a transmissão da infecção por HPV e, conseqüentemente, o câncer cervical.

**Palavras-chave:** HPV, PCR, citologia em meio líquido, pênis

## ABSTRACT

The aim of this study was to detect the HPV infection in penile samples of 104 patients attending the Policlínica da região Centro-Sul - Centro de Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis (CTDST) of the city of Belo Horizonte by molecular (PCR) and cytopathological methods (Liquid-based Cytology). In addition, 26 cervical samples were obtained from partners of the male patients enrolled in the study. HPV genotyping was also conducted by PCR. The prevalence of HPV detected was 94,23%. HPV-16 was detected in 46,15% of the samples, HPV-18 in 30,77%, HPV-31 in 19,23%, HPV-33 in 4,81%, HPV-45 in 1,92% and HPV-6/11 in 75% of the samples. Infections by more than one viral type were detected in 61% of the patients. High-risk HPVs were detected in 77% of patients presenting genital warts and in 62,8% of the partners of women presenting diagnosis of HPV infection. Concordance of HPV types among couples was only 3,8%. Young age (OR=4,29; IC<sub>95%</sub>=1,82-10,12; p=0,001) and multiple sexual partners (OR=4,43; IC<sub>95%</sub>=1,28-16,28; p=0,01) were significantly associated with HPV multiple infections. HPV infection was detected only in 24% of the samples by liquid-based cytology, indicating that this method is not adequate to detect HPV infection in penile samples. The high prevalence of high-risk and multiple HPV infections observed in young patients with multiple sexual partners indicate the need for educational programs directed to the male population to reduce the HPV transmission and the incidence of cervical cancer.

**Key words:** HPV, PCR, liquid-based cytology, penile



## LISTA DE ABREVIATURAS

**C** – grupo condiloma

**CTDST** – Centro de treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis

**DNA** – ácido desoxirribonucléico

**DNA-HPV** – DNA pertencente ao vírus HPV

**DST** – doença sexualmente transmissível

**E** – genes early

**HIV** - Human immunodeficiency vírus (vírus da imunodeficiência humana)

**HPV** - papilomavirus humano

**IC** – intervalo de confiança

**L** – genes late

**LCR** – long control region

**NIC** – neoplasia intra-epitelial cervical

**NIP** - neoplasia intra-epitelial peniana

**NUPAD** – Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico

**OR** – odds ratio

**P** – grupo parceiros

**PCR** – reação em cadeia de polimerase

**pRb** – gene supressor do tumor retinoblastoma

**RFLP-PCR** – restriction DNA fragment of length polymorphic PCR

**S** – fase de síntese (ciclo celular)

**URR** – upstream regulatory region

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Desenho esquemático do genoma viral do HPV tipo 16.....	<b>20</b>
<b>Figura 2</b>	Amostras de géis de poliacrilamida corados pela prata, apresentando resultados de diferentes PCRs.....	<b>53</b>
<b>Figura 3</b>	Freqüência da concordância de tipos virais nos casais estudados.....	<b>59</b>
<b>Figura 4</b>	Coilócito em esfregaço peniano. Citologia em meio líquido corada pelo método de Papanicolaou.....	<b>61</b>
<b>Figura 5</b>	Sinais citológicos não clássicos da infecção por HPV observados em esfregaço peniano: hiper Cromatismo nuclear (A), clareamento citoplasmático (B), coilocitose leve (C) e disqueratose leve (D). Citologia em meio líquido; coloração de Papanicolaou.....	<b>61</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Seqüência de bases dos oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR.....	<b>44</b>
<b>Tabela 2</b>	Reagentes utilizados no preparo de 10 µL de reação de PCR.....	<b>46</b>
<b>Tabela 3</b>	Condições das reações de PCR.....	<b>47</b>
<b>Tabela 4</b>	Prevalência de HPV por grupo.....	<b>52</b>
<b>Tabela 5</b>	Associação entre o tratamento dos pacientes com condiloma acuminado e a presença de DNA-HPV detectada pelos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+.....	<b>55</b>
<b>Tabela 6</b>	Associação entre o método de coleta e a identificação de DNA-HPV com a utilização dos oligonucleotídeos GP5+/GP6+.....	<b>56</b>
<b>Tabela 7</b>	Prevalência de DNA-HPV detectado por meio de PCR em amostras cervicais e penianas.....	<b>57</b>
<b>Tabela 8</b>	Associação entre os resultados citológicos e moleculares detectados em amostras penianas.....	<b>60</b>
<b>Tabela 9</b>	Freqüência de sinais citológicos não clássicos encontrados em esfregaços penianos.....	<b>60</b>
<b>Tabela 10</b>	Associação entre a presença dos sinais citológicos não clássicos e a detecção de DNA-HPV pela PCR em amostras penianas.....	<b>60</b>
<b>Tabela 11</b>	Freqüência da infecção por HPV em amostras penianas detectada por PCR e dados clínicos-epidemiológicos.....	<b>66</b>

<b>Tabela 12</b>	Associação entre a idade do paciente e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.....	<b>68</b>
<b>Tabela 13</b>	Associação entre a escolaridade do paciente e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.....	<b>68</b>
<b>Tabela 14</b>	Associação entre probabilidade de ocorrer múltiplas infecções em homens que não possuem parceira(o) fixa(o).....	<b>69</b>
<b>Tabela 15</b>	Relação entre o número de parceiros no último ano e a presença de múltiplas infecções.....	<b>69</b>
<b>Tabela 16</b>	Associação entre a idade de início da vida sexual e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.....	<b>69</b>
<b>Tabela 17</b>	Associação entre o uso de preservativo e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.....	<b>70</b>
<b>Tabela 18</b>	Associação entre frequência sexual e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.....	<b>71</b>
<b>Tabela 19</b>	Associação entre intercurso anal e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.....	<b>71</b>
<b>Tabela 20</b>	Associação entre o hábito de fumar e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.....	<b>71</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Resultado das reações de PCR realizadas nas amostras anais e do baixo ventre coletadas em três dos homens que participam deste estudo.....	<b>57</b>
<b>Quadro 2</b>	Concordância entre os tipos de HPV e os parceiros.....	<b>58</b>
<b>Quadro 3</b>	Sinais citológicos clássicos e não clássicos observados em 24 esfregaços e a associação com os tipos virais detectados pela PCR.....	<b>63</b>

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO E RELEVÂNCIA.....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
2.1 Infecção por HPV.....	19
2.2 Infecção por HPV em homens.....	25
2.3 Detecção citopatológica da infecção por HPV em homens.....	33
2.4 Diagnóstico molecular da infecção por HPV.....	37
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>39</b>
3.1 Objetivo Geral.....	40
3.2 Objetivo Específico.....	40
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
4.1 População estudada.....	42
4.2 Coleta de material.....	43
4.3 Análise molecular.....	44
4.4 Análise citopatológica.....	48
4.5 Análise estatística.....	50
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
5.1 Análise molecular.....	52
5.2 Análise citopatológica.....	59
5.3 Dados clínico-epidemiológicos.....	64
5.4 Associação entre os dados clinico-epidemiológicos e a detecção molecular de mais de um tipo de HPV.....	67
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>72</b>

<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>90</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>92</b>
<b>9 APÊNDICES E ANEXOS.....</b>	<b>106</b>
<b>Anexo 1 – Aprovação do Comitê de ética em pesquisa (COEP) da UFMG</b> .....	107
<b>Anexo 2 – Declaração e permissão para a realização da pesquisa na</b> Policlínica Centro-Sul.....	108
<b>Anexo 3 – Aprovação do Comitê de ética em pesquisa da Prefeitura</b> Municipal de Belo Horizonte – MG.....	109
<b>Apêndice 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido.....</b>	110
<b>Apêndice 2 – Protocolo dos dados epidemiológicos, clínicos e</b> peniscópicos.....	112
<b>Apêndice 3 – Protocolo dos dados clínicos e laboratoriais.....</b>	114
<b>Apêndice 4 – Dados individuais.....</b>	115

# **1 INTRODUÇÃO**



A infecção por papilomavirus humano (HPV) é, atualmente, uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns, acometendo cerca de 30% da população sexualmente ativa (TEIXEIRA *et al.*, 2002). A transmissão do HPV ocorre no início da vida sexual, nos adolescentes ou em torno dos 20 anos sendo detectado, mais freqüentemente entre os 25-29 anos (FERENCZY, 1995; HATCH, 1995; WINER & HUGHES, 2003).

Existe grande número de estudos relacionados à infecção por HPV e a população feminina, diferentemente do que se observa em relação à população masculina, o que dificulta a compreensão da epidemiologia da infecção por HPV e suas manifestações clínicas nessa população.

A infecção por HPV comporta-se de maneira distinta entre os sexos, sendo detectada mais freqüentemente nas mulheres e se mostrando, na maioria das vezes, assintomática nos homens. Por apresentar alta prevalência, principalmente nas formas subclínicas e assintomáticas, e elevada infectividade, a disseminação do HPV tende a ser universal entre os indivíduos sexualmente ativos, podendo o homem ser considerado importante propagador da infecção entre as mulheres (DUNNE *et al.*, 2006; PATRIDGE & KOUTSKY, 2006).

Estudos sobre a transmissão do HPV mostram que o início precoce da vida sexual, a promiscuidade e a alta freqüência sexual são fatores de risco para o contágio. Há uma íntima relação entre a condição imunológica e o desenvolvimento da infecção, bem como a possibilidade de recidivas. Além disso, a gravidade das lesões associa-se aos diferentes tipos de HPV (FERENCZY, 1995; HO *et al.*, 1998; TEIXEIRA *et al.*, 2002).

O diagnóstico de HPV no homem é realizado, na maioria das vezes, por meio de biópsia e essa, só é realizada mediante indicações clínicas, tais como: presença

de áreas aceto-brancas sugestivas de lesão e/ou parceira com infecção por HPV diagnosticada. Ou seja, para a maioria dos homens, o diagnóstico da infecção por HPV não é realizado como rotina. Considerando, portanto, a alta prevalência de câncer de colo uterino causado por HPV, existe na literatura uma lacuna sobre o papel masculino na transmissão e manutenção dessa infecção e seu diagnóstico.

Dessa forma, propõe-se neste estudo a obtenção de informações clínico-epidemiológicas sobre a infecção por HPV de pacientes do sexo masculino atendidos em serviço de atenção à saúde da cidade de Belo Horizonte. Pretende-se detectar os tipos virais mais comuns em amostras penianas e verificar a concordância com o tipo viral da parceira. Propõe-se ainda, verificar a aplicação da citologia em meio líquido como possível método alternativo para a detecção da infecção por HPV em homens.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

## 2.1 INFECÇÃO POR HPV

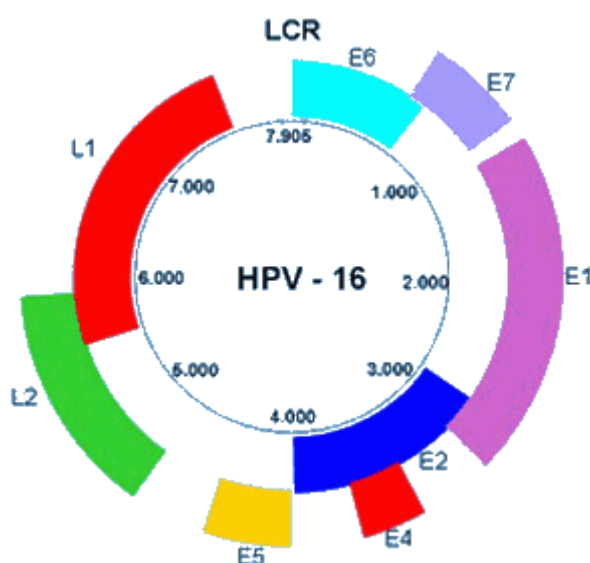
Os HPVs são atualmente classificados pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus como pertencentes à família *Papillomaviridae*. São agrupados em gênero, espécie, tipos, subtipos e variantes de acordo com a homologia entre a seqüência de nucleotídeos na região L1, que consiste na região mais conservada do genoma do HPV. Os gêneros são identificados através de letras do alfabeto grego e possuem menos de 60% de homologia entre os genes. São descritos dezesseis gêneros. O gênero clinicamente mais importante é referido como alfa-papilomavírus. As espécies de HPV possuem entre 60-70% de homologia entre as seqüências, enquanto que os tipos de HPV compartilham entre 71%-89% de seqüência de nucleotídeos idênticos. Tipos de HPV são identificados por números na seqüência histórica de sua descrição, por exemplo, HPV-1, HPV-2. Subtipos de HPV diferem entre 2% a 10% e as variantes de HPV diferem em menos de 2% da seqüência gênica (de VILLIERS *et al.*, 2004).

Existem 118 tipos diferentes de HPV completamente descritos genomicamente (de VILLIERS *et al.*, 2004) havendo dados que suportam a existência de mais de 200 tipos (BERNARD, 2005) sendo que cerca de 30 tipos pode causar infecções ano-genitais, dos quais aproximadamente quinze são oncogênicos (SCHIFMAN & CASTLE, 2003). Estes vírus estão associados a diferentes doenças na espécie humana, incluindo verrugas comuns e genitais, carcinoma esofagiano, laríngeo e cervical, carcinoma de cabeça e pescoço (HUBBARD, 2003; RIVOIRE *et al.*, 2001). A infecção por HPV também pode causar condilomas anais, constituindo um fator de risco para o aparecimento de displasias, podendo evoluir para o câncer. A incidência de carcinoma na região anal em pacientes com condiloma anal é de 3-4%, aumentando bastante em pacientes HIV positivos (PAPACONSTANTINO *et al.*,

2005). As lesões malignas da região anogenital possuem etiologias similares, incluindo infecções virais (HPV), hábitos sexuais e fatores educacionais e sociais (WYSOCKI *et al.*, 2004). Evidências mostram uma resistência relativa da mucosa peniana à ação oncogênica provocada pelo HPV e ao surgimento do carcinoma invasivo sendo necessária a associação de outros fatores para que este venha a ocorrer (AYALA *et al.*, 2005).

Os HPVs podem ser classificados em grupos de alto risco (HPVs 16, 18, 26, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82,) e baixo risco (HPVs 3, 6, 7, 10, 11, 13, 28, 29, 32, 40, 42, 43, 44, 61, 72, 74, 54, 71, 78, 81, 83, 84, 94) de acordo com a possibilidade de induzir o desenvolvimento de lesões malignas (de VILLIERS *et al.*, 2004).

O HPV é um vírus com DNA de dupla fita, com aproximadamente 8000 pares de base que codificam todas as funções virais. Seus genes podem ser divididos em três grupos funcionais: a região conhecida como *long control region* (LCR), os genes *early* (E) e os genes *late* (L) (Fig. 1).



**Figura 1** – Desenho esquemático do genoma viral do HPV tipo 16.

A região E codifica seis proteínas relacionadas com a regulação e replicação do DNA e com a proliferação celular. E1 é uma DNA helicase e está envolvida na manutenção genômica e replicação. E2 é a principal proteína que afeta a transcrição e a replicação do DNA viral. Além disso, em HPV de alto risco, E2 age como repressor da transcrição gênica de E6 e E7. Acredita-se que E1 e E2 atuam em conjunto para manter o genoma na sua forma epissomal dentro das células. A proteína E4 é expressa em altos níveis em células escamosas diferenciadas. Ela é capaz de interromper a citoceratina citoplasmática, causando condensação de tonofilamentos na periferia das células e clareamento citoplasmático perinuclear, resultando na aparência de coilócitos. As oncoproteínas E5, E6 e E7 estão envolvidas na transformação celular. E5 é uma proteína pequena que se liga a uma variedade de proteínas de membrana do hospedeiro e à receptores de fatores de crescimento. As oncoproteínas E6 e E7 estimulam a progressão do ciclo celular, induzindo a proliferação das células basais infectadas, facilitando a replicação do genoma viral. E7 também estimula a divisão celular através da ligação às proteínas da família da pRb (gene supressor do tumor retinoblastoma). pRb normalmente impede a progressão para a fase S (síntese) através da associação com os fatores de transcrição E2F. A oncoproteína E7, ao se ligar com pRb, libera E2F, levando à expressão de proteínas necessárias para a replicação de DNA.

Quanto aos genes L, existem dois tipos: L1 e L2, ambos codificadores de proteínas do capsídeo sendo a proteína codificada por L1 maior e altamente conservada entre os diferentes tipos virais (de VILLIERS *et al.*, 2004; DOOBAR, 2005; RICHART *et al.*, 1998; THOMISON *et al.*; 2008; WILSON *et al.*; 2002).

O DNA viral pode se apresentar livre no núcleo, não integrado ao genoma celular (forma epissomal), ou integrar-se ao cromossomo da célula hospedeira. A

integração geralmente é observada nos HPVs de alto risco, enquanto que os HPVs de baixo risco permanecem de forma episomal (FERENCZY & FRANCO, 2002; RIVOIRE *et al.*, 2001).

A infecção genital por HPV pode se apresentar nas formas clínica, subclínica ou latente. A forma clínica é facilmente detectada e tem como principal característica a presença de condiloma acuminado. Na forma subclínica, não existe lesão visível macroscopicamente. Pode ser identificada através de diferentes métodos diagnósticos complementares, como a colposcopia/ peniscopia, a análise citológica (empregada em mulheres e raramente nos homens) e a biópsia (GROSS & PFISTER, 2004). Na forma latente, o HPV somente pode ser identificado por técnicas de biologia molecular (WEAVER *et al.*, 2004).

Pequeno número de indivíduos desenvolve infecção persistente, especialmente aqueles portadores de HPV de alto risco associado à alta carga viral – esses fatores são determinantes para o desenvolvimento de lesões neoplásicas intra-epiteliais e invasivas (FERENCZY, 1995). Ho *et al.* (1998) avaliaram amostras de 175 mulheres com idade entre 20 e 23 anos que foram coletadas durante três anos em intervalos semestrais, com o objetivo de se estudar a persistência e a duração da infecção por HPV. As análises foram feitas através da técnica de PCR e a identificação do tipo viral pelo método de hibridização por Southern blot. Nesse trabalho, a infecção por HPV durou em média 8 meses (IC 95% 7-10 meses). Após 12 meses, 70% das mulheres mostraram pesquisa negativa de DNA-HPV. Com 24 meses, apenas 9% das mulheres continuavam infectadas. Os tipos virais freqüentemente encontrados nas infecções persistentes foram HPV AE7, 16, 18, 61 e 73. O fumo favoreceu a persistência da infecção. Tanto a persistência da infecção como a presença de vários tipos virais em uma mesma paciente sugere uma deficiência da resposta

imune (HO *et al.*, 1998). A probabilidade de se eliminar a infecção pelo HPV diminui com o passar do tempo. Nos seis primeiros meses, a probabilidade de se acabar com a infecção foi de 31%; se a infecção não se resolve nos 12 primeiros meses, as chances de cura caem para 11% (HO *et al.*, 1998). Em outro estudo, Cavalcanti *et al.* (2000) acompanharam 280 mulheres, sem nenhum tipo de tratamento, durante 8 anos. 27,1% delas tiveram regressão espontânea de lesões induzidas por HPV, enquanto que em 43,6% houve persistência e em 29,3% houve progressão para carcinoma. Os HPVs de alto risco estavam presentes em 80,5% das lesões que progrediram. Os tipos virais de baixo risco (6/11) estavam presentes em 64,4% das lesões que regrediram espontaneamente.

Os mecanismos pelo quais o HPV promove o surgimento do câncer não estão totalmente esclarecidos. Sabe-se que seu ciclo de vida está intimamente relacionado ao processo de diferenciação celular e que a infecção se dá pelo acesso do vírus à camada de células basais, sendo a região de junção escamo-colunar alvo para esses vírus (DOOBAR, 2005).

Não se conhece ainda o receptor responsável pelo reconhecimento e internalização do vírus HPV. Trabalhos relatam ser esse um processo lento onde ocorre endocitose de vesículas cobertas por clatrina. Após internalização, ocorre a perda do capsídeo provocada pela quebra de pontes de dissulfeto que unem as proteínas L1 e L2, sendo o DNA livre transportado até o núcleo (LI *et al.*, 1998). Esse é então mantido na forma episomal e em pequeno número de cópias (10-200 cópias por célula) por influencia de E1 e E2, facilitando assim a correta segregação do genoma viral durante o processo de divisão celular (WILSON *et al.*, 2002; YOU *et al.*, 2004). Se por algum motivo a expressão de E1 for reduzida, ocorre a integração do DNA viral ao DNA do hospedeiro, havendo perda de genes ou fragmentos,



especialmente de E4, E5 e porções de E2. A perda de função de E2 causa o aumento da expressão de E6 e E7, evento que parece ser chave para a progressão de uma lesão produtiva (baixo grau) para uma lesão de alto grau (von KNEBEL DOEBERITZ, 2002). Em infecções produtivas, a expressão gênica é rigorosamente controlada e ocorre em células que já iniciaram o processo de diferenciação ou perderam a capacidade proliferativa, resultando assim em lesões de baixo grau. Por outro lado, nas lesões de alto grau não ocorre mais a replicação viral, não havendo sinais da atividade viral (STOLER, 2003).

As proteínas E7 dos vírus HPV-6 e 11 têm de 5 a 20 vezes menos afinidade ao pRb que, respectivamente, as proteínas E7 do HPV-18 e 16 (WERNESS *et al.*, 1990). Sabe-se também que a expressão de E7 do HPV-16 causa anormalidades centroméricas que podem levar à ocorrência de aneuploidias (DUENSING *et al.*, 2001; DUENSING & MUNGER, 2003; SOUTHERN *et al.*, 2004). A E6 do HPV-16 tem sido considerada indutora prematura da segregação cromossômica e precipitadora da anáfase (DUENSING & MUNGER, 2002; PLUG-DEMAGGIO & MCDOUGALL, 2002). Portanto, a expressão de E6 e E7 não só inicia o processo de transformação celular como também favorece que ela ocorra.

Estudos sugerem que a taxa de progressão de lesões escamosas intra-epiteliais de alto grau a carcinoma invasivo em mulheres seja de 12%, enquanto que a progressão de lesões de baixo grau seja de apenas de 1% (DUGGAN *et al.*, 1998; OSTOR, 1993; SYRJANEN, 1996). Estes índices são esperados já que a coexistência de lesões em estágios diferentes se deve a múltiplas infecções e não a uma progressão biológica da lesão (AGORASTOS *et al.*, 2005).

A vacina quadrivalente contra o HPV dos tipos 16, 18, 6 e 11, recentemente lançada para a proteção de mulheres jovens que ainda não iniciaram a vida sexual e

portanto ainda não entraram em contato com o vírus, tem se mostrado 100% efetiva na redução da incidência de infecção por esses tipos virais (GARLAND *et al.*,2007). Entretanto, não é clara a evidência de proteção da doença para as pessoas que apresentam DNA-HPV detectado por PCR ou soropositivas (JOURA *et al.*, 2007). Eventos adversos têm sido relatados pela instituição americana *Food and Drug Administration*. De acordo com o *Center for Disease Control and Prevention* em Atlanta, até Junho de 2007 houve 2.531 relatos de efeitos adversos incluindo 9 mortes. *Health Canadá* recebeu 82 relatos de efeitos adversos. A ligação da vacina com as mortes ainda não foi comprovada, mas os principais efeitos adversos relatados são: dor no local da administração, dor generalizada, náuseas, vertigens e desmaios (EGGERTSON, 2007).

## **2.2 INFECÇÃO POR HPV EM HOMENS**

Nos homens, a prevalência do HPV varia de 5,5 a 76%, sendo de 28-76% em homens com idade acima dos 30 anos, com número elevado de parceiros sexuais. Em homens com idade entre 18 e 23 anos a prevalência é em torno de 30%, e de 23% entre aqueles com 14 a 20 anos de idade (BALDWIN *et al.*, 2003). Gross & Pfister (2004) verificaram que cerca de 15% dos homens entre 15 e 49 anos apresentaram lesões visíveis e subclínicas, sendo que 50 a 75% desses apresentaram infecção por HPV de alto risco. DNA-HPV também pôde ser detectado em amostras colhidas sob as unhas da mão de homens (PARTRIDGE *et al.*, 2007). Em um estudo desenvolvido na Argentina em homens com lesões penianas (balanites, uretrites, condilomas, pápulas ou lesões tipo líquen) ou parceiros de mulheres com HPV, os tipos de vírus mais freqüentemente encontrados, detectados

por meio da PCR em amostras de urina foram os tipos 11 (26,7%), seguido pelo tipo 6 (23%), 16 (21,5%), 18 (6%) e 31 (4,4%) (GOLIJOW *et al.*, 2005).

A associação entre HPV e carcinoma peniano é de 30-50% (IKEMBERG *et al.*, 1983). Tumores penianos basalóides e condilomatosos estão fortemente associados ao HPV (80-100%), sendo a presença do HPV tipo 16 detectada em 69,1% das amostras pela técnica de PCR (DALING *et al.*, 2005). Entretanto, apenas uma parte dos carcinomas queratinizantes e verrucosos parece estar relacionado ao HPV (33-35%) (GROSS & PFISTER, 2004).

Em trabalho realizado na Tailândia, a relação entre câncer peniano e a prevalência de HPV foi estudada (SENBA *et al.*, 2006). Foram avaliados 88 espécimes de tecido peniano (65 casos malignos, 1 pré-maligno e 22 benignos). DNA-HPV foi detectado em 81,5% dos casos de câncer peniano pela técnica de PCR. O HPV 16 foi encontrado em apenas um dos casos estudados. O tipo viral mais prevalente foi o HPV 18, encontrado em 55,4% dos casos (32,3% como único tipo viral presente e 23,1% em múltiplas infecções). HPV 6 foi encontrado em 43,1% dos casos (24,6% como único tipo viral presente e 18,5% em múltiplas infecções) (SENBA *et al.*, 2006).

Os fatores de risco para a infecção por HPV no homem não estão bem esclarecidos. A circuncisão pode reduzir o risco de infecção por HPV e o desenvolvimento de câncer peniano (DALING *et al.*, 2005). Em um trabalho realizado com 1000 homens que eram parceiros de mulheres portadoras de condiloma acuminado ou neoplasia intra-epitelial cervical, 92 apresentaram lesões sugestivas de infecção por HPV utilizando-se a biópsia como método de diagnóstico. Destes, 93% mostraram neoplasia intra-epitelial peniana (NIP). Em 75% dos pacientes com NIP I, 93% dos pacientes com NIP II e em todos com NIP III foram

encontrados DNA-HPV do tipo alto risco detectados por hibridização através do método de Southern blot. Homens circuncidados e não circuncidados mostraram taxas semelhantes de infecção por HPV associado a lesões (52% vs 45%). Entretanto, os índices de NIP foram significativamente maiores nos homens não circuncidados (10% vs 6%; OR = 1,77; intervalo de confiança de 95%= 1,02-3,07) (AYNAUD *et al.*, 1994). Em estudo realizado no Hospital Universitário da Universidade Federal de São Paulo com 50 homens parceiros de mulheres infectadas por HPV utilizando-se o método de captura híbrida II, detectou-se 32% de infecção por HPV de alto risco, 14% de baixo risco e 24% de infecção por HPVs de alto e baixo risco (NICOLAU *et al.*, 2005). Nesse estudo, a detecção do HPV variou de acordo com o sítio anatômico, apresentando índice de 24% na glândula, 30% na uretra distal, 44% na superfície interna do prepúcio e 24% na superfície externa, 12% no escroto e 8% no ânus.

O uso regular de preservativo é também tido como um fator que reduz o risco de infecção por HPV (WINER *et al.*, 2006), entretanto, segundo alguns autores, o preservativo pode não ser completamente eficaz contra a infecção, pois o vírus pode ser encontrado em outras regiões anatômicas não protegidas por ele (BALDWIN *et al.*, 2004; TEIXEIRA *et al.*, 2002). Em trabalho realizado por Bleeker *et al.* (2005a), o uso de preservativo auxiliou na regressão de lesões penianas planas somente quando o casal estava infectado pelo mesmo tipo de vírus. Casais que não usaram camisinha e que possuíam o mesmo tipo viral tiveram falha da cura da lesão o que se deve, provavelmente, a uma reinfecção (BLEEKER *et al.*, 2005a).

Tem sido também relatado que o hábito de fumar associa-se a um aumento de 4 a 5 vezes no risco de desenvolver carcinoma peniano (DALING *et al.*, 2005).

Outras doenças sexualmente transmissíveis (DST) como sífilis, herpes simples, gonorréia, clamídia e HIV podem contribuir para a evolução das lesões por HPV. Essas infecções poderiam atuar como co-fatores na ativação de mecanismos de transformação celular ou deprimindo a imunidade local do trato genital (CAVALCANTI *et al.*, 2000). Pacientes HIV positivos possuem maior prevalência de infecção por HPV e maior susceptibilidade em desenvolver lesões de alto grau (HO *et al.*, 1994).

Os aspectos que dificultam o diagnóstico da infecção por HPV no homem incluem a coleção insuficiente de células para detecção do DNA viral, a baixa especificidade da peniscopia, a baixa sensibilidade da biópsia e o desconforto de alguns pacientes durante a peniscopia com a realização de biópsia (WEAVER *et al.*, 2004). Além disso, a higiene do pênis imediatamente antes da consulta pode levar ao decréscimo do número de células infectadas (ANTUNES *et al.*, 2004). Coletas consecutivas, em dias diferentes, por um curto período de tempo podem resultar em um aumento de três vezes na detecção do HPV (WIKSTRÖM *et al.*, 2000).

Existe uma forte associação entre o tipo de HPV detectado e a presença de lesões cervicais. No entanto, para as lesões penianas isso é um pouco controverso. Lesões penianas planas, identificadas por peniscopia, são freqüentemente encontradas nos parceiros de mulheres com lesões escamosas intra-epiteliais cervicais e essas lesões são maiores nessa população (BLEEKER *et al.*, 2005). Estes autores analisaram as lesões existentes não associadas à DSTs em 118 homens e em 238 homens parceiros de mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical e correlacionou-as com a carga viral quando o vírus presente era o HPV 16. Lesões planas, papulares, condiloma acuminado e pápulas penianas peroladas foram identificadas por peniscopia e a presença de HPV pelo método imunoensaio

enzimático-PCR (PCR-enzyme immunoassay method). Sondas específicas foram utilizadas para a identificação dos tipos virais 16, 18, 31, 33, 6 e 11. As amostras positivas para HPV 16 foram submetidas a um teste de quantificação da carga viral (LightCycler baseado no método real-time PCR). Nos homens cujas lesões não estavam associadas à DSTs, 14% possuíam lesões planas e 25% possuíam infecção por HPV. No outro grupo (parceiros de mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical), 60% dos pacientes apresentavam essas mesmas lesões e 59% estavam infectados com o HPV. Altas cargas virais foram associadas à presença de lesão plana.

Em estudo realizado em biópsias de pacientes dos Estados Unidos e do Paraguai, Rubin *et al.* (2001) observaram por meio de PCR que o HPV estava presente em 42% das amostras com carcinoma peniano, em 90% dos casos de displasia e em 100% das amostras com condiloma. A maioria dos casos de condiloma estava relacionada com a presença de HPV de baixo risco, sendo o tipo 6 o mais freqüente. Entretanto, nas amostras com displasia, houve associação com HPVs de alto risco, com prevalência de 81,5%, sendo o HPV 16 o tipo mais comum. Nos casos de câncer peniano, o HPV 16 foi o mais freqüente, sendo identificado em 48,3% dos tumores como o único vírus presente e em 11% dos tumores causados por múltipla infecção. Múltiplas infecções foram detectadas em 16,6% dos tumores HPV-positivos.

Infecções causadas por mais de um tipo viral de HPV são achados freqüentes em populações de risco (BALDWIN *et al.*, 2003; HO *et al.*, 1998). Existem vários relatos de infecções múltiplas com a presença de HPVs de alto risco em lesões condilomatosas (KATELARIS *et al.*, 1988; LÖWHAGEN *et al.*, 1993; SKERLEV, 2002). Em estudo realizado na Croácia (SKERLEV, 2002), com 100 homens com

lesões provocadas pelo HPV (condiloma acuminado, condiloma plano, Buschke-löwenstein), utilizando-se PCR, encontraram uma prevalência de 21% de vírus alto risco e 79% de vírus baixo risco, sendo dos tipos 6 ou 11. A prevalência para os tipos 16, 18, 31 e 33 foi, respectivamente, de 12%, 7%, 1% e 1%. 20% dos pacientes apresentavam co-infecção de HPVs de alto risco (principalmente 16 e 18) com HPVs de baixo risco (6/11). Löwhagen *et al.* (1993) em trabalho realizado com 94 homens apresentando sinais de infecção por HPV (condiloma acuminado, papular e/ou macular), encontraram, pela técnica de hibridização por dot-blot e Southern blot, uma prevalência de 68% para o tipo viral 6; 8% para o tipo 11; 15% para o 16; 2% para o 18; 7% para o 31; 1% para os tipos 33 e 35. Agrupando em grupos de alto e baixo risco foi encontrada, respectivamente, uma prevalência de 27% e 76%. Co-infecção foi encontrada em 8% das amostras testadas. Potocnik *et al.* (2007) em trabalho realizado com 55 homens que possuíam verrugas genitais, utilizando PCR, encontrou uma prevalência de 76,7% para o tipo viral 6; 18,6% para o tipo 11, somando 96,4% das amostras. Múltiplas infecções foram encontradas em 21,8% das amostras testadas. Katelaris *et al.* (1988) acompanharam 52 homens durante um período de 8 meses e coletaram amostras para testes com hibridização por Southern blot. Esses homens foram divididos em 2 grupos, aqueles com lesões penianas visíveis e aqueles com lesões subclínicas. A prevalência de infecção por HPV encontrada para o primeiro grupo foi de 87% e de 55% para o segundo. Foi encontrada uma freqüência de 52% de HPV 16/18 em condiloma acuminado e de 29% em lesões subclínicas.

Alguns estudos mostram ser de pouca importância a participação do parceiro na recorrência freqüente e na persistência da infecção na mulher (HO *et al.*, 1998). O tratamento de lesões subclínicas no parceiro não reduziria as taxas de recorrência

de condiloma anal e vulvar (FERENCZY, 1995; TEIXEIRA *et al.*, 2002) uma vez que, após o contágio, o surgimento de uma lesão e sua evolução estaria diretamente ligado ao confronto entre vírus e hospedeiro, tendo o sistema imune um importante papel (HO *et al.*, 1998). Algumas observações sugerem que a recorrência depois do tratamento efetivo de casais monogâmicos ocorre devido a uma reativação da infecção latente na mulher e conseqüente retransmissão ao parceiro (STANLEY *et al.*, 1995). Trabalhos também relatam que a exposição a uma nova carga viral, do mesmo tipo de HPV adquirido por relação sexual de parceiro com lesão genital, parece não influenciar nas recidivas ou progressão das lesões, a não ser pela possibilidade de tratar-se de um contato sexual com um tipo de HPV diferente daquele já adquirido pela paciente, possibilitando o surgimento, não de recidivas, mas de novas lesões (KREBS & HELMKAMP, 1991). As recidivas são mais freqüentes quando o parceiro também tem HPV e quando o tempo de estabilidade conjugal é pequeno (TEIXEIRA *et al.*, 2002).

Outro ponto polêmico seria a não concordância dos tipos virais de HPV entre casais, fato relatado por diversos trabalhos (FRANCESCHI *et al.*, 2002; NICLOLAU *et al.*, 2005; ROSENBLATT *et al.*, 2004) sendo que os valores de prevalência encontrados na literatura podem variar de 6 a 55% (FRANCESCHI *et al.*, 2002; GIOVANNELLI *et al.*, 2007; NICOLAU *et al.*, 2005; ROSENBLATT *et al.*, 2004).

A carga viral feminina não aumenta a probabilidade do mesmo grupo de HPV ser detectado no parceiro (NICOLAU *et al.*, 2005), podendo estar associada com a extensão da lesão e não com transmissão (ROSENBLATT *et al.*, 2004).

Em estudo desenvolvido por Rosenblatt *et al.* (2004), 30 mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical e 60 mulheres sem nenhum tipo de lesão foram avaliadas quanto aos resultados de citologia e captura híbrida II. Seus respectivos



parceiros também foram submetidos ao teste de captura híbrida II. Todos os casais incluídos no estudo possuíam, pelo menos, 2 anos de relacionamento. A incidência de DNA-HPV em mulheres com lesão foi de 76%, enquanto que naquelas sem lesão foi de 15%. Nos parceiros, a incidência de DNA-HPV foi de 23% para os homens cujas parceiras possuíam lesão e 11% para os parceiros de mulheres sem lesão. A incidência de infecção por vírus de baixo risco, alto risco e de ambos foi, respectivamente de 20%, 73% e 16% nas mulheres com lesão, e 1,6%, 13% e 0% para as mulheres sem lesão. Nos parceiros de mulheres com lesão, a incidência de HPV de alto risco foi de 10% e para os vírus de baixo risco foi de 13%. Nos parceiros de mulheres sem lesão, a incidência de infecção por HPV foi de 5% para o de baixo risco e de 8% para o de alto risco. No grupo das mulheres com lesão, 23 dos 30 casais possuíam HPV, mas apenas 3 casais (13%) apresentaram o mesmo tipo viral. No grupo das mulheres sem lesão, 16 casais estavam infectados pelo HPV, mas apenas 1 deles (6%) possuía o mesmo tipo viral. Os autores concluem que a presença de DNA-HPV nos parceiros não implica, necessariamente, na presença de HPV ou de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) na parceira. A concordância viral entre parceiros é baixa, sendo maior quando a mulheres apresentam lesão (ROSENBLATT et al., 2004).

Em estudo realizado na Holanda, comparando homens parceiros de mulheres saudáveis - população A - e homens parceiros de mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical - população B - verificou-se que 19% dos homens da população A e 46,5% dos homens da população B possuíam HPV 16. HPV de baixo risco foi encontrado em 47,6% na população A e em 31,7% na população B, não havendo diferença estatística entre elas. Nesse estudo, a detecção do vírus foi realizada pelo método

de PCR e sua tipagem pelo método de imunoenensaio enzimático (BLEEKER *et al.*, 2005).

### **2.3 DETECÇÃO CITOPATOLÓGICA DA INFECÇÃO POR HPV EM HOMENS**

As alterações citopatológicas indicativas de infecção por HPV no homem são as mesmas daquelas vistas em mulheres, como a coilocitose, a disqueratose e alterações nucleares como o aumento de volume, do número e a hiperqueratose. No entanto, estudos têm mostrado uma baixa frequência de coilócitos, sinal citológico clássico da infecção por HPV, o qual tem sido detectado em 4 a 5% das amostras penianas (BOON *et al.*, 1988; FERENCZY, 1995; NICOLAU *et al.*, 1997; TIBÚRCIO, 1999), o que dificulta, e muito, o diagnóstico da doença pelo método citológico. Em estudo realizado por Nicolau (1997) o exame citológico revelou que apenas 4,7% das amostras uretrais analisadas e 1,6% das amostras da glande e prepúcio distal apresentaram coilocitose. Contrariamente, em biópsia peniana, os coilócitos foram detectados em 51,05% das amostras.

Outro aspecto que dificulta a análise citopatológica de amostras penianas é o pequeno número de células no esfregaço devido à pequena adesividade celular à lâmina. Além disso, o fundo do esfregaço é mais limpo, as células inflamatórias são mais raras e as atipias mais discretas (BIBBO & MORAES FILHO, 1998).

Em trabalho realizado por Boon *et al.* (1988), 20 parceiros de mulheres infectadas pelo HPV foram examinados por peniscopia e tiveram amostras coletadas para análise citológica, histológica e por método imunocitoquímico. De acordo com a peniscopia, 17 homens possuíam anormalidades no tecido peniano. O material encaminhado para estudo citológico foi coletado da uretra e a presença de escamas córneas foi um achado comum na citologia, estando presente em todos os casos. A

coilocitose foi encontrada em apenas uma das amostras. Pelo método histológico foram observadas a presença de hiperkeratose, disqueratose e maturação nuclear anormal. Todas as amostras foram positivas para a infecção por HPV pelo método imunocitoquímico.

Aynaud (2003) analisou 110 amostras uretrais pelos métodos de citologia convencional e PCR, de 89 homens que foram previamente avaliados por peniscopia quanto à existência de lesões. A citologia uretral mostrou alterações sugestivas de infecção por HPV em 81% dos homens que possuíam lesões uretrais e penianas detectadas pela peniscopia das quais 76% foram DNA-HPV positivas. 15% dos homens que não apresentavam lesões mostraram alterações citológicas sugestivas de HPV e 3% foram positivas para DNA-HPV. Dentre os que apresentaram lesões penianas detectadas à peniscopia, 18% foram positivos na citologia e 15% positivos para DNA-HPV. As modificações citológicas consideradas indicativas de infecção por HPV neste trabalho foram aumento do tamanho nuclear, aumento de espessura da membrana nuclear, irregularidades no contorno nuclear, irregularidade na distribuição da cromatina, hiperkeratose nuclear e bi ou multinucleação. A PCR detectou DNA-HPV do tipo viral 16 em 3% dos homens sem lesão clinicamente detectável.

Teixeira *et al.* (1999) em estudo clínico, avaliaram cito e histologicamente amostras uretrais de 337 homens, todos parceiros, por pelo menos seis meses, de mulheres com neoplasia intra-epitelial do trato genital inferior associada a sinais citológicos ou histológicos de infecção por HPV. O diagnóstico de lesão induzida por HPV foi condicionada à presença de atipias coilocitóticas. A citologia uretral apresentou alteração sugestiva de infecção por HPV em 4,2% dos pacientes, todos sem lesões visíveis na uretra ao colposcópio. Foi encontrado nesse trabalho 68,6%

de alterações histológicas sugestivas de infecção pelo HPV em biópsias de pacientes com lesões subclínicas. O achado histopatológico mais freqüente nas biópsias negativas foi a presença de hiperqueratose. Uma hipótese para a presença freqüente de hiperqueratose é de que elas poderiam indicar uma ação viral prévia sem atividade atual (BARRASSO, 1992; BOON *et al.*, 1988; DIAS *et al.*, 1997) podendo ser considerada como uma 'cicatriz', não havendo nenhuma alteração citopática causada pela ação do HPV.

Em trabalho realizado em mulheres e publicado por Schneider *et al.* (1987), observou-se que a freqüência do diagnóstico citológico para a infecção por HPV em amostras cervicais poderia ser aumentada quando fosse considerada a presença de sinais citológicos não clássicos da infecção por HPV. Foram descritos 9 sinais não clássicos: coilocitose leve, disqueratose leve, clareamento citoplasmático, presença de grânulos de ceratohialina, condensação de filamentos no citoplasma, células fusiformes, hiperchromatismo nuclear, presença de halo perinuclear e bi ou multinucleação. Detectou-se um aumento de 15% nos casos DNA-HPV positivos (com a utilização apenas dos sinais clássicos - coilocitose e disqueratose) para 84% destes casos quando levados em consideração a presença nos esfregaços de 5 ou mais sinais não clássicos da infecção.

Até o momento, não há relatos na literatura acerca da pesquisa destes sinais em amostras citológicas penianas.

A citologia anorretal, devido à sua acurácia e baixo custo, tem sido cada vez mais utilizada como método de rastreamento para lesões escamosas principalmente em pacientes homossexuais e HIV positivos (FRIEDLANDER *et al.*, 2004). Mas, também como na análise de células penianas, requer cautela e atenção no reconhecimento dos sinais, pois erros de interpretação podem causar erros no

diagnóstico. Segundo Friedlander (2004), células escamosas ceratinizadas atípicas são um achado comum em esfregaços anorretais e devem ser avaliadas com cuidado. Células ceratinizadas atípicas são frequentemente associadas a lesões de alto grau e até mesmo ao carcinoma de células escamosas em amostras cérvico-vaginais, o que poderia levar a uma supervalorização do diagnóstico quando o mesmo padrão for considerado para as amostras anorretais.

Wilkin *et al.* (2004) estudaram amostras com neoplasia intra-epitelial anal de homens HIV-positivos, hetero e homossexuais, que possuíam acesso à terapia antiviral. A citologia convencional, a citologia em meio líquido e a colposcopia anal foram utilizadas para a detecção de neoplasia intra-epitelial anal. O teste de citologia em meio líquido foi escolhido por possibilitar melhor interpretação dos resultados que a citologia convencional. Nesse estudo, as lesões foram classificadas conforme o sistema Bethesda. Dentre os homens que participaram do estudo, 61% apresentavam infecção por HPV de alto risco e 47% apresentaram anormalidades citológicas: 18% células escamosas atípicas de significado indeterminado, 24% apresentavam lesão escamosa intra-epitelial de baixo grau e 6% lesão de alto grau. A maioria dos homens com anormalidades citológicas e HPV de alto risco informava hábito de relação anal. A baixa contagem de células CD 4+ e a interrupção do tratamento antiviral associaram-se com neoplasias intra-epiteliais anais, mas não com a detecção da infecção por HPV (WILKIN *et al.*, 2004).

Em resumo, nota-se que são escassos os artigos que utilizaram a citologia peniana como método diagnóstico da infecção por HPV, não havendo, até o momento, estudos sobre a aplicação da citologia em meio líquido em amostras penianas para definição do diagnóstico desta infecção viral.

## 2.4 DIAGNÓSTICO MOLECULAR DA INFECÇÃO POR HPV

A utilização de testes de biologia molecular tem se tornado cada vez mais necessária porque a citologia convencional cervical, apesar de ser um método muito específico, é pouco sensível, com valor estimado em 51% (RUNOWICZ, 2007), sendo por isso necessária à realização de novos testes em intervalos regulares. Cerca de 10% das mulheres com diagnóstico negativo de infecção por HPV na citologia possuem infecção pelos vírus 16/18 detectados na PCR (ARORA *et al.*, 2005). Além disso, os membros da família do HPV não se desenvolvem em cultura de células; sendo assim, a tipagem do HPV depende estritamente de análises moleculares da seqüência do seu DNA.

A amplificação de ácidos nucléicos alvo através da reação em cadeia da polimerase (PCR), é a técnica mais sensível e pode ser usada para a detecção, quantificação de carga viral, seqüenciamento do DNA e análise de mutação. A tipagem do vírus pode ser feita através de PCR acompanhada de vários métodos, incluindo a técnica de RFLP-PCR (Restriction DNA Fragment of Length Polymorphic – PCR), hibridização reversa e seqüenciamento. Outra alternativa para a tipagem é a realização da PCR utilizando sondas específicas para determinado tipo de HPV (HUBBARD, 2003).

A PCR tem-se mostrado uma técnica bastante sensível na detecção do DNA viral, podendo ser utilizada em pacientes com lesões neoplásicas ou pré-malignas e em pacientes assintomáticos ou com infecção subclínica. É inclusive indicada para a confirmação de resultados conflitantes entre a colposcopia e a citologia (GOMES *et al.*, 2002).

Trabalhos publicados recentemente (KOLIOPOULOS *et al.*, 2007; MAYRAND *et al.*, 2007; RUNOWICZ, 2007) questionam a utilização da PCR como teste de rotina para o rastreamento e prevenção de câncer uterino. Os argumentos favoráveis são baseados na redução de 42% na incidência de neoplasias intra-epiteliais cervicais de grau II e grau III e câncer invasor quando a PCR encontra-se associada à citologia como método de rastreamento (NAUCLER *et al.*, 2007) e na possibilidade de aumento dos intervalos para a realização de novo exame de Papanicolaou para os casos negativos. No entanto, o aumento da sensibilidade tem como consequência o maior número de pacientes encaminhadas a colposcopia e, portanto, um aumento de demanda de recursos da saúde. Além disso, grande parte dessas pacientes pode apresentar infecções na forma latente ou até mesmo subclínica as quais possivelmente regrediriam espontaneamente (RUNOWICZ, 2007).

**3 OBJETIVOS**



### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Detectar a infecção por HPV em amostras penianas de homens atendidos na Policlínica de Atendimento Médico da região Centro-Sul - Centro de Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis (CTDST) da Prefeitura de Belo Horizonte por meio das técnicas molecular e citopatológica.

### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar a frequência da infecção por HPV e o tipo de vírus mais comum nas amostras estudadas;
2. Avaliar a aplicação da citologia em meio líquido no diagnóstico da infecção por HPV em amostras penianas, comparando-a com o método molecular;
3. Correlacionar os tipos virais detectados com as possíveis alterações citopatológicas;
4. Correlacionar os dados clínico-epidemiológicos com a frequência da infecção por HPV;
5. Correlacionar os tipos virais detectados entre os parceiros, através de comparação dos testes de PCR realizados também nas parceiras.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### 4.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

Participam deste estudo 104 pacientes do sexo masculino que procuraram a Policlínica de Atendimento Médico da região Centro-Sul - Centro de Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis (CTDST) da Prefeitura de Belo Horizonte, situada à Rua Carijós 528, Centro, no período de Março a Abril, Outubro a Dezembro de 2006 e Janeiro, Março a Maio de 2007. Esses pacientes foram submetidos à exame clínico e encaminhados para o estudo pelos médicos Dr. Antônio Eduardo P. Fonseca, Dr. Paulo César Gomes Guerra e Dr. Virgílio Vieira Neto. Todos os pacientes foram esclarecidos sobre a participação na pesquisa (Apêndice 1) e submetidos a um questionário para a identificação de dados clínico-epidemiológicos (Apêndice 2 e 3). Todo o trabalho de coleta e entrevista foi acompanhado pela enfermeira-chefe do setor, Leonor Gonçalves, tendo autorização da coordenadora do CTDST, a farmacêutica Maria do Carmo Moreira de Souza e da gerente da policlínica Centro-Sul Dra. Magda Vieira dos Santos. Os pacientes foram divididos em dois grupos:

- **Grupo C (n= 61):** homens que procuraram o serviço para diagnóstico e tratamento de condiloma acuminado.
- **Grupo P (n= 43):** homens cujas parceiras apresentaram infecção por HPV e que foram encaminhados ao serviço para avaliação diagnóstica ou simplesmente acompanhavam a parceira em seu tratamento para a infecção por HPV.

Foram coletadas ainda 26 amostras cervicais procedentes de mulheres cujo parceiro apresentava condiloma (n= 3) e de mulheres que possuíam resultado positivo para infecção por HPV detectada por biópsia e/ou citologia e cujos parceiros eram assintomáticos (n= 23).

## 4.2 COLETA DO MATERIAL

A coleta das amostras nos pacientes do sexo masculino foi realizada com uma escova (*cytobrush*) inicialmente nas regiões glândula, meato uretral externo e prepúcio (paredes interna e externa e sulco coronal). Posteriormente, devido a problemas detectados na realização da técnica de citologia em meio líquido, tais como o excesso de escamas córneas e escassez de células, coletou-se separadamente material do prepúcio externo das demais regiões. Dos 104 pacientes do sexo masculino estudados, coletou-se 153 amostras, a saber:

- 2 amostras coletadas da região anal/ perianal, separadamente, em 2 pacientes que apresentavam lesões nesta região.
- 1 amostra coletada na região do baixo ventre próxima à região pubiana, onde um paciente apresentou condiloma.
- 58 amostras contendo células da glândula, meato uretral externo e prepúcio (paredes interna e externa e sulco coronal) em pacientes de ambos os grupos.
- 92 amostras coletadas em 46 homens, onde, para cada homem, tem-se uma amostra contendo células da glândula, meato externo e prepúcio interno e outra amostra contendo apenas células do prepúcio externo. Essa alteração no método de coleta foi proposta devido a problemas na realização da citologia em meio líquido das 58 amostras acima citadas, as quais apresentaram muitas escamas córneas o que dificultou a análise citológica.

A escova contendo o material foi colocada em um tubo contendo solução de preservação das células (DIGENE), possibilitando tanto o estudo molecular como a preparação dos esfregaços. Essa coleta foi realizada pela mestranda, auxiliada pelo aluno de iniciação científica, Fábio Lopes Faria. A coleta das amostras nos pacientes do sexo feminino foi realizada nas regiões do ectocérvice, endocérvice e junção escamo-colunar pelo médico ginecologista do CTDST, Dr. Pedro Lúcio Saraiva.

### 4.3 ANÁLISE MOLECULAR

A análise molecular foi realizada a partir de uma alíquota retirada da amostra coletada em meio líquido onde foi extraído o DNA. Inicialmente realizou-se a PCR para amplificação de fragmento do gene da  $\beta$ -globina humana, que funciona como controle interno da reação, verificando a integridade do DNA extraído. Nessa PCR, foram utilizados os oligonucleotídeos PC03 e PC04 (SAIKI, 1988). Posteriormente foram feitas a pesquisa de HPV (de ROCHA HUSMAN, 1995) e a identificação dos HPVs tipos 6/11, 16, 18, 31, 33 e 45, utilizando-se oligonucleotídeos específicos para estes vírus (GRCE, 1997; HUANG, 2004) (TAB.1).

**Tabela 1-** Seqüência de bases dos oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR

Produto (pb)	Oligonucleotídeos	Seqüência
$\beta$ - globina (100)	PC03	5'ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC3'
	PC04	5'CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC3'
HPV (150) <b>região L1</b>	GP5+	5'TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC3'
	GP6+	5'GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C3'
HPV 6/11 (301)		5'TAC ACT GCT GGA CAA CAT GC3'
		5'GTG CGC AGA TGG GAC ACA C3'
HPV 16 (152)		5'TGC TAG TGC TTA TGC AGC AA3'
		5'ATT TAC TGC AAC ATT GGT AC3'
HPV 18 (216)		5'AAG GAT GCT GCA CCG GCT GA3'
		5'CAC GCA CAC GCT TGG CAG GT3'
HPV 31 (514)		5'ATG GTG ATG TAC ACA ACA CC3'
		5'GTA GTT GCA GGA CAA CTG AC3'
HPV 33 (455)		5'ATG ATA GAT GAT GTA ACG CC3'
		5'GCA CAC TCC ATG CGT ATC AG3'
HPV 45 (296)		5'TTT GTT GGC ATA ATC AGT TGT TTG3'
		5'CAA AAC GAT ATG TAT CCA CCA AAC T3'

Para a realização da extração, as células contidas nos tubos de coleta foram homogeneizadas e uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  para as amostras cervicais e 400  $\mu\text{L}$  para as amostras penianas foi transferida para tubos eppendorf. Essa alíquota foi centrifugada (centrífuga micromax, modelo OM 3590) a 850 g, durante 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e as células re-suspendidas em 400  $\mu\text{L}$  de solução de lise de hemácias (tris 17 mM, Cloreto de amônio 144 mM, pH = 7,3). Os tubos foram novamente centrifugados a 9300 g durante 5 minutos para remover os restos celulares. O sobrenadante foi desprezado com uma pipeta. O sedimento foi re-suspendido em 300  $\mu\text{L}$  de tampão de lise de leucócitos (NaOH 0,2 M, SDS 1%) acrescido de 0,3  $\mu\text{L}$  de proteinase K 50 mg/ mL e colocado em banho maria a 56° overnight. Posteriormente, a enzima proteinase K foi inativada em banho maria a 95°C durante 10 minutos. Foram adicionados 150  $\mu\text{L}$  de acetato de amônio 7,5 mM e os tubos centrifugados a 9300 g por 15 minutos para a precipitação de proteínas. O sobrenadante foi transferido para outro tubo eppendorf e o precipitado desprezado. Posteriormente foram adicionados 370  $\mu\text{L}$  de isopropanol gelado. Inverteu-se o tubo várias vezes e centrifugou-se a 9300 g durante 15 minutos a 4°C. O sobrenadante foi desprezado e 1 mL de etanol gelado 95% adicionado, seguido de várias inversões. Os tubos foram centrifugados a 18300 g durante 10 minutos a 4°C; o sedimento das amostras cervicais e penianas foram solubilizados, respectivamente, em 100  $\mu\text{L}$  e 50  $\mu\text{L}$  de TE (LOW) (Tris 10 Mm e EDTA 1 mM, pH = 8) e levados à refrigeração.

Foram padronizadas as PCR aplicadas às amostras penianas referentes à pesquisa de HPV (GP5+ e GP6+), HPV 18, 31, 33, 45 e 6/11. A PCR para HPV 16 foi realizada de forma semelhante à aplicada em amostras cervicais, anteriormente padronizada no laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Análises

Clínicas e Toxicológicas da Faculdade Farmácia - UFMG. As quantidades dos reagentes padronizados variaram de PCR para PCR e estão descritas na TAB. 2 para um volume de reação de 10  $\mu$ L.

**Tabela 2 – Reagentes utilizados no preparo de 10  $\mu$ L de reação de PCR .**

Reagentes (concentração)	PCR						
	HPV $\mu$ L	HPV 16 $\mu$ L	HPV 18 $\mu$ L	HPV 31 $\mu$ L	HPV 33 $\mu$ L	HPV 45 $\mu$ L	HPV 6/11 $\mu$ L
Tampão I B (10 x)	1	1	1	1	1	1	1
DNTPs (2 mM) <sup>1</sup>	1	1	1	1	1	1	1
Primer Reverse 100 pmol/ $\mu$ L	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
Primer Forward 100 pmol/ $\mu$ L	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
Taq 5 UI/ $\mu$ L	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
DNA	1	1	1	1	1	1	1
<b>H2O qsp 10 <math>\mu</math>L</b>	5,8	5,8	5,9	5,9	5,9	5,8	6,4

<sup>1</sup> Concentração da solução estoque de cada nucleotídeo (adenina, guanina, citosina e timina) misturados em uma mesma solução.

Para padronização das reações de PCR, foi necessário alterar a quantidade de DNA. Em geral os testes eram iniciados com a quantidade de 1  $\mu$ L. Caso fosse negativo, a quantidade de DNA era reduzida ou aumentada. Para as amostras cervicais foram testados alíquotas de 2  $\mu$ L do DNA extraído e 1  $\mu$ L de uma diluição de 1:20. Nos homens, por apresentarem uma amostra escassa, com menos células, foram testados os volumes de 3  $\mu$ L do DNA extraído e 2  $\mu$ L de uma diluição de 1:10. Não havendo positividade na reação nessas três tentativas, a amostra era considerada negativa.

As reações de PCR foram realizadas em termocicladores e suas etapas estão descritas na TAB. 3.

**Tabela 3 – Condições das reações de PCR**

Etapas da reação de PCR				
Oligonucleotídeos	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Nº. de ciclos
PC03/ PC04	94°C 1 minuto	55°C 1 minuto	72°C 1 minuto	35
GP5+/ GP6+	95°C 1 minuto	45°C 1 minuto	72°C 1 minuto	05
	95°C 1 minuto	42°C 1 minuto	72°C 1 minuto	35
HPV 16	94°C 30 segundos	57°C 30 segundos	72°C 1 minuto	40
HPV 18	94°C 30 segundos	65°C 30 segundos	72°C 1 minuto	40
HPV 31	94°C 30 segundos	54°C 30 segundos	72°C 1 minuto	40
HPV 33	94°C 30 segundos	57°C 30 segundos	72°C 1 minuto	05
	94°C 30 segundos	55°C 30 segundos	72°C 1 minuto	35
HPV 45	94°C 30 segundos	59°C 30 segundos	72°C 1 minuto	40
HPV 6/11	94°C 30 segundos	68°C 30 segundos	72°C 1 minuto	05
	94°C 30 segundos	64°C 30 segundos	72°C 1 minuto	35



As etapas de extração do DNA, preparo da solução com os reagentes para a reação de PCR, adição do DNA à solução de reagentes e eletroforese dos produtos de PCR foram realizadas em ambientes diferentes para evitar contaminação. Em todas as reações de PCR foram incluídos controles positivo (amostras sabidamente positivas obtidas no próprio laboratório por testes aleatórios ou de laboratórios que trabalham com o diagnóstico de HPV – Núcleo de ações e pesquisa em apoio diagnóstico - NUPAD) e branco, o qual contém todos os reagentes, exceto o DNA. Os produtos da PCR, juntamente com o padrão de peso molecular, foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% e corados pela prata.

#### **4.4 ANÁLISE CITOPATOLÓGICA**

A partir das amostras coletadas, confeccionaram-se esfregaços por meio da técnica de citologia em meio líquido, utilizando-se o sistema DNA Citoliq (DIGENE). Esse sistema é constituído por Lamigene - suporte de lâminas com adaptação para 12 lâminas citológicas de vidro; Filtrogene - suporte de filtros cuja base é fabricada em poliestireno de alta densidade à qual se agrega tira de material absorvente e 12 membranas de policarbonato de 25 mm de diâmetro com 5 µL de porosidade; e o Prepgene - equipamento de alumínio que funciona como prensa, comprimindo o filtro contendo as células às lâminas, semelhante a um carimbo. As amostras devem estar à temperatura ambiente para serem aplicadas sobre os filtros, caso estejam refrigeradas deve-se retirá-las da geladeira e deixar à temperatura ambiente por 30 minutos.

Os tubos foram homogeneizados individualmente no vortex em alta velocidade por 15 segundos com o objetivo de soltar as células contidas nas cerdas

da escova citológica. A seguir, retirou-se a escova de dentro do tubo. Antes de pipetar a amostra, homogeneizou-se o tubo no vortex por mais 5 segundos. Pipetou-se 200  $\mu$ L da amostra e dispensou-se o volume sobre o filtro de forma circular, no sentido de fora para dentro. A seguir, fechou-se a tampa do prepgene, travaram-se as laterais, mantendo-se a pressão por 10 segundos. Nesta fase ocorre a transferência das células que estão sobre o filtro para a lâmina de citologia. Ao abrir o Prepgene, retirou-se as lâminas, as quais foram fixadas em álcool etílico e posteriormente submetidas à coloração pelo método de Papanicolaou.

Os esfregaços foram analisados aleatoriamente, sem o conhecimento do resultado molecular. Foram pesquisados os sinais citológicos clássicos da infecção por HPV (coilocitose/disceratose) e os sinais não clássicos, descritos por SCHNEIDER *et al.* (1987) em amostras cervicais, a saber: coilocitose leve, disceratose leve, clareamento do citoplasma, grânulos de ceratohialina, condensação de filamentos citoplasmáticos, células fusiformes, hipercromasia nuclear, bi ou multinucleação e halo perinuclear.

Coilocitose leve é distinguida da coilocitose típica pela ausência de atipias nucleares e por apresentar um limite pouco definido entre a cavidade central e a borda citoplasmática. Disceratose leve é diferenciada da disceratose clássica pelo tamanho e forma do núcleo. O arranjo tridimensional e a coloração orangeofílica do citoplasma são fatores adicionais deste sinal citológico. O clareamento citoplasmático consiste em um espaço pouco corado entre o núcleo e a borda celular. A identificação deste sinal somente pode ser feito na ausência de bacilos Doederlein, os quais podem causar fenômeno semelhante. Grânulos de ceratohialina são grânulos de coloração basofílica ou eosinofílica, de aspecto condensado e de tamanhos variados (1 a 10  $\mu$ m). Frequentemente o núcleo está

ausente nas células. Ocasionalmente entra material citoplasmático para dentro dos grânulos deixando espaços aparentemente vazios (measle cells). A condensação de filamentos é identificada como fissuras no citoplasma e com pouca afinidade pela coloração. As células fusiformes possuem formato alongado e são diferenciadas de células similares encontradas em carcinoma escamoso ceratinizado por possuírem cromatina regular. O hipercromatismo nuclear consiste no aumento da coloração nuclear sem alterações na cromatina e na membrana nuclear. A bi ou multinucleação consiste na existência de dois ou mais núcleos na mesma célula. Os halos perinucleares são caracterizados pela existência de uma fina camada pouco corada envolta do núcleo dando o aspecto de halo.

#### **4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram analisados usando-se o programa Epi Info versão 6.04 (DEAN *et al.*, 1997). Foram calculados valores de odds ratio, com intervalo de 95% de confiança. Os níveis de significância foram verificados pelo teste qui-quadrado. Para os dados no qual a freqüência esperada foi menor que 5% foi utilizado o teste exato de Fisher. Diferenças significativas foram consideradas quando  $p < 0,05$ .

## **5 RESULTADOS**

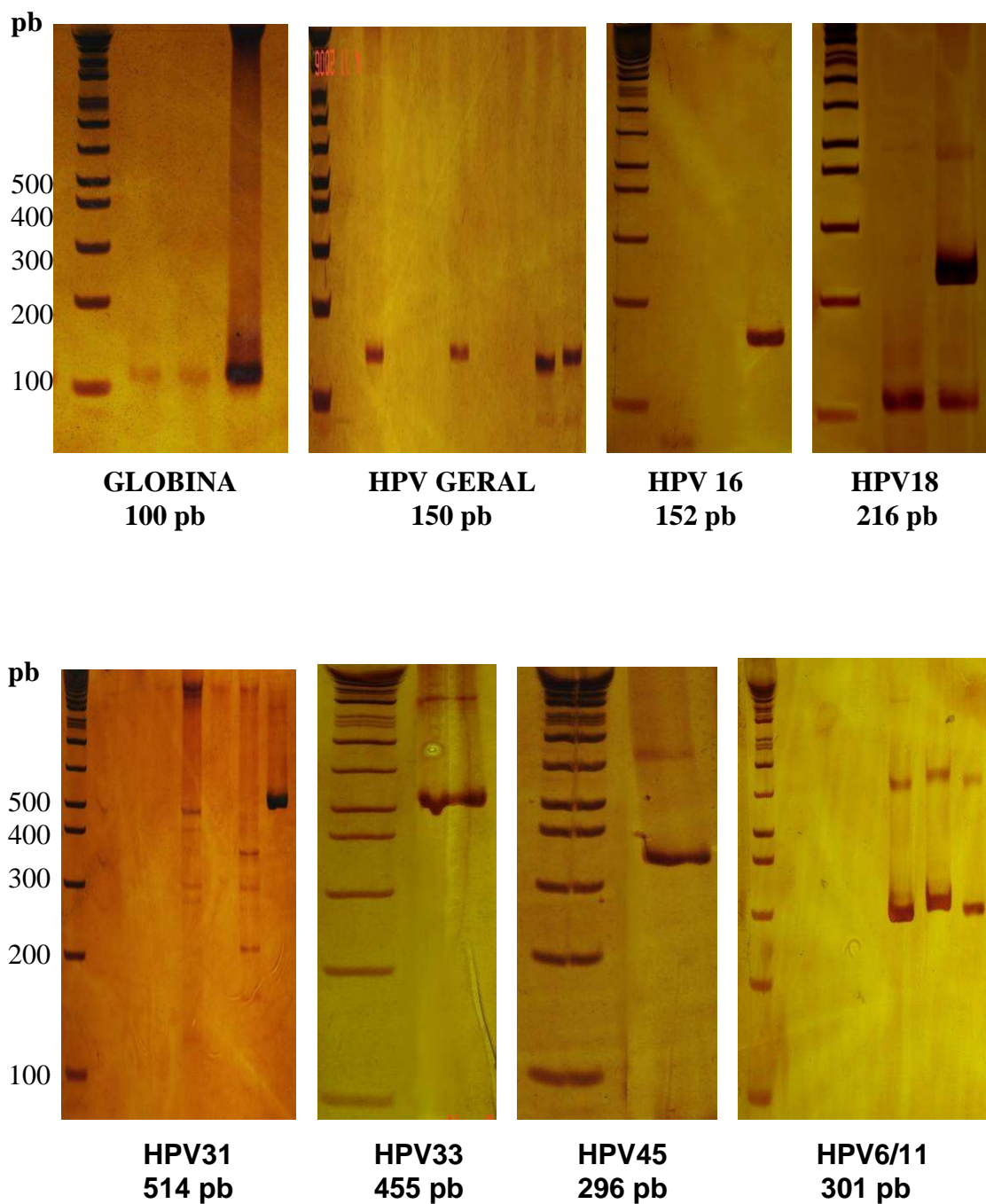
## 5.1 ANÁLISE MOLECULAR

Entre os 104 homens que participaram da pesquisa, 98 apresentaram positividade para algum tipo de HPV nas amostras penianas (94,23%). Considerou-se paciente portador de DNA-HPV aquele que apresentasse pelo menos uma das amostras coletadas positiva na PCR. A TAB. 4 mostra a prevalência da infecção por HPV nos dois grupos analisados: condiloma (C) e parceiros (P). Apenas 6 homens apresentaram resultado negativo para infecção por HPV em todas as reações de PCR. Dentre os 98 homens que apresentaram amostras penianas positivas para DNA-HPV, 48 (46,15%) apresentaram DNA-HPV do tipo 16, 32 (30,77%) apresentaram DNA-HPV-18, 20 (19,23%) DNA-HPV-31, 5 (4,81%) DNA-HPV -33, 2 (1,92%) DNA-HPV-45 e 78 (75%) DNA-HPV-6/11. Em 2 pacientes, detectou-se DNA-HPV mediante a pesquisa com os oligonucleotídeos GP5+/GP6+, no entanto, não foram detectados nenhum dos tipos de HPV pesquisados. A FIG. 1 é uma amostra dos géis obtidos neste trabalho.

**Tabela 4** – Prevalência de HPV por grupo.

<b>Tipos virais</b>	<b>C (condiloma)</b> 61 pacientes (%)	<b>P (parceiros)</b> 43 pacientes (%)	<b>Total</b> (%)
HPV *	52 (85,25)	22 (51,16)	74 (71,15)
HPV 6/11	57 (93,44)	21 (48,84)	78 (75)
HPV 16	33 (54,1)	15 (34,88)	48 (46,15)
HPV 18	23 (37,7)	09 (20,93)	32 (30,77)
HPV 31	08 (13,11)	12 (27,91)	20 (19,23)
HPV 33	03 (4,92)	02 (4,65)	05 (4,81)
HPV 45	01 (1,64)	01 (2,32)	02 (1,92)

\* HPV: PCR empregando os oligonucleotídeos GP5+/GP6+, que teoricamente amplificam DNA de todos os tipos virais de HPV



**Figura 2** – Eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% corado pelo nitrato de prata, apresentando os resultados de diferentes PCRs. A primeira canaleta de todos os géis corresponde ao padrão de peso molecular (1 Kb plus DNA LADDER – GIBCO BRL® – São Paulo, SP). Todos os géis possuíam amostras, controle positivo e controle negativo (não mostrado).

Todos os pacientes do grupo C (n= 61) foram positivos para algum tipo de HPV. Por outro lado, quando a pesquisa de DNA-HPV foi feita empregando o oligonucleotídeo GP5+/GP6+, a presença de DNA-HPV foi detectada em 52 (85,25%) pacientes. No grupo P, em 6 pacientes não foi detectada a presença de DNA-HPV em todas as análises realizadas. O restante (37 pacientes – 86,05%) apresentou algum tipo de HPV, embora somente em 22 destes pacientes (59,5%) a presença de DNA-HPV foi detectada por meio do oligonucleotídeo GP5+/GP6+.

A ausência de detecção de DNA-HPV nas amostras penianas de 9 pacientes do grupo C e em 15 do grupo P por meio do oligonucleotídeo GP5+/GP6+ levantou a suspeita de uma possível interferência do tratamento dos pacientes na sensibilidade do teste. Sendo assim, a interferência do tratamento na positividade dos pacientes do grupo C da PCR foi avaliada comparando-se os resultados de pacientes com e sem tratamento. Dentre os 61 pacientes do Grupo C, 30 não estavam em tratamento e 31 já haviam sido submetidos a alguma intervenção médica, seja aplicação de podofilina e/ou eletrocauterização. De acordo com a fase de tratamento que se encontravam, os pacientes foram então divididos em dois grupos:

- **Sem tratamento:** 30 pacientes sem nenhuma intervenção médica, sendo a coleta realizada em sua primeira visita ao CTDST, ou pacientes com um ano ou mais de intervalo entre a última intervenção médica (podofilina ou eletrocauterização) e a coleta.
- **Com tratamento:** 31 pacientes, cuja coleta foi realizada no momento de seu retorno, ou seja, com intervalo de 7 a 14 dias após a aplicação de podofilina (n= 17) ou homens que se submeteram a algum tipo de intervenção, receberam alta, mas que retornaram ao CTDST por apresentarem novamente as lesões sendo o intervalo máximo entre coleta e intervenção inferior a um ano (n= 14).

De acordo com os dados apresentados na TAB. 5, a associação entre o tratamento e a detecção de DNA-HPV na PCR com a utilização dos oligonucleotídeos GP5+/GP6+ foi avaliada, não sendo constatada interferência do tratamento na detecção molecular do HPV.

**Tabela 5** – Associação entre o tratamento dos pacientes com condiloma acuminado e a presença de DNA-HPV detectada pelos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+.

Tratamento	Detecção de DNA-HPV pelos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+		Total	Valor p
	Positivo	Negativo		
Com	27 (87,1%)	4 (12,9%)	31 (50,82%)	0,48
Sem	25 (83,33%)	5 (16,67%)	30 (49,18%)	
Total	52 (85,25%)	9 (14,75%)	61 (100%)	

Conforme relatado no item 2 da seção de materiais e métodos, no decorrer do trabalho a forma de coleta das amostras penianas foi modificada, uma vez que os esfregaços citológicos confeccionados apresentaram grande número de escamas córneas, prejudicando a análise citopatológica. Além disso, a presença desse material em excesso consiste em outra variável que poderia influenciar a detecção de DNA-HPV por meio dos oligonucleotídeos GP5+/GP6+. Assim, alguns pacientes (n= 58) tiveram as amostras da glândula, meato uretral externo e prepúcio (paredes interna e externa e sulco coronal) coletadas e esgotadas em um mesmo tubo contendo solução para a preservação das células. Diferentemente, 46 pacientes que tiveram as amostras de prepúcio externo separadas das demais - 46 amostras da glândula, meato uretral externo, prepúcio interno e sulco coronal e 46 amostras prepúcio externo. A associação entre estas duas formas de coleta e a detecção de DNA-HPV com a utilização dos oligonucleotídeos GP5+/GP6+ foi verificada, não



sendo observada diferença significativa e, portanto, interferência dos dois procedimentos de coleta na positividade para DNA-HPV (TAB. 6).

**Tabela 6** – Associação entre o método de coleta e a identificação de DNA-HPV com a utilização dos oligonucleotídeos GP5+/GP6+.

Coleta	Detecção de DNA-HPV (GP5+ e GP6+)		Total	Valor p
	Positivo	Negativo		
Amostras em tubo único	41 (74,54%)	14 (25,45%)	55 (56,12%)	0,99
Amostras Separadas	33 (76,74%)	10 (23,26%)	43 (43,88%)	
<b>Total</b>	<b>74 (75,51%)</b>	<b>24 (24,49%)</b>	<b>98* (100%)</b>	

\* Não foram consideradas as amostras cujas reações foram todas negativas.

Das 98 amostras em que se detectou algum tipo de HPV, 60 (61%) apresentaram mais de um tipo viral. Desses, 39 (65%) pacientes possuíam associação de 2 tipos virais, 15 (25%) possuíam 3 tipos, 4 (6,7%) possuíam 4 tipos e 2 (3,4%) possuíam associação de 5 tipos virais. Os tipos de HPV de alto risco encontrados em lesões penianas (condiloma acuminado) foram o HPV-16 (69,77% - 30 pacientes), HPV-18 (58,14% - 25 pacientes), HPV-31 (18,6% - 8 pacientes), HPV-33 (6,98% - 3 pacientes) e HPV-45 (2,32% - 1 paciente). Além das amostras penianas, foram coletadas também duas amostras anais e uma do baixo ventre de 3 homens que participaram da pesquisa. Os tipos virais encontrados nessas amostras estão relacionados no Quadro 1.

**Quadro 1** – Resultado das reações de PCR realizadas nas amostras anais e do baixo ventre coletadas em três dos homens que participam deste estudo.

Amostras	HPV	HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 33	HPV 45	HPV 6/11
Anal	+	-	+	-	-	-	+
Anal	+	+	+	-	-	-	+
Baixo ventre	-	-	+	-	-	-	+

Foram coletadas também amostras cervicais e penianas de 26 casais, que foram submetidas à pesquisa de DNA-HPV pela PCR. A prevalência dos tipos virais encontrados nestas amostras está descrita na TAB. 7.

**Tabela 7** – Prevalência de DNA-HPV detectado por meio de PCR em amostras cervicais e penianas.

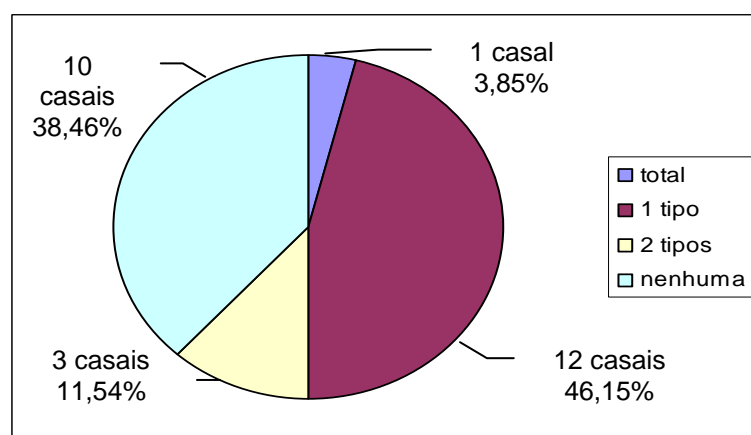
Tipos virais	Relação amostra cervical positiva/ total amostras	Porcentagem Mulheres (%)	Porcentagem Homens (%)
HPV (GP5+/GP6+)	25/26	96,15	71,15
HPV 16	15/26	57,69	46,15
HPV 18	12/26	46,15	30,77
HPV 31	4/26	15,38	19,23
HPV 33	3/26	11,53	4,81
HPV 45	1/26	3,84	1,92
HPV 6/11	14/26	53,84	75

O resultado da tipagem viral nas 26 amostras cervicais foi confrontado com o resultado das 26 amostras penianas e a concordância entre os casais avaliada (Quadro 2).

**Quadro 2 – Concordância entre os tipos de HPV e os parceiros.**

Parceiros		Concordância de tipos virais			
		Total	Parcial		Não concordante
Homem (grupo)	Mulher		Apenas 1 tipo	Apenas 2 tipos	
16 e <b>6/11</b> (C)	33 e <b>6/11</b>		X		
Negativo (P)	16 e 6/11				X
<b>6/11</b> (C)	31 e <b>6/11</b>		X		
<b>16, 18 e 6/11</b> (C)	<b>16 e 6/11</b>			X	
<b>16 e 6/11</b> (P)	<b>16, 18 e 6/11</b>			X	
16 (P)	45 e 6/11				X
16 (P)	18				X
<b>31 e 33</b> (P)	18, <b>31 e 6/11</b>		X		
<b>6/11</b> (P)	18 e <b>6/11</b>		X		
<b>16</b> (P)	<b>16</b>	X			
<b>18</b> (P)	<b>18, 31 e 6/11</b>		X		
<b>16 e 31</b> (P)	<b>16 e 18</b>		X		
<b>16</b> (P)	<b>16 e 31</b>		X		
HPV + (P)	6/11				X
16, 18 e 31 (P)	6/11				X
<b>16,18,31,45,6/11</b> (P)	<b>16</b>		X		
31 e 6/11 (P)	16 e 18				X
HPV + (P)	16 e 6/11				X
6/11 (P)	16				X
Negativo (P)	16				X
<b>16, 31, 33 e 6/11</b> (P)	<b>16, 18 e 6/11</b>			X	
16 e <b>6/11</b> (P)	18 e <b>6/11</b>		X		
<b>16, 31 e 6/11</b> (P)	<b>16</b>		X		
<b>18 e 31</b> (P)	16, <b>18 e 33</b>		X		
<b>16</b> (P)	<b>16, 18 e 33</b>		X		
Negativo (P)	18				X

Dos 26 casais analisados, em apenas 1 (3,85%) houve concordância total entre os tipos virais detectados. Em 10 (38,46%) casais não houve nenhuma concordância. Os demais concordaram em 1 (12 casais – 46,15%) ou 2 (3 casais – 11,54%) tipos virais (Fig. 2). Dos 12 casais que concordaram em apenas um tipo viral, 4 concordaram em relação ao HPV 6/11, 6 concordaram em relação ao HPV 16, 2 com o HPV 18 e 1 com o HPV 31. Nos 3 casais que concordaram em dois tipos virais, sempre um era de alto risco (HPV 16) e outro de baixo risco (HPV 6/11). Apenas 3 homens apresentavam condiloma acuminado, o restante (23 homens – 88,46%) eram pacientes assintomáticos. Nos casais onde o parceiro apresentava condiloma acuminado, ambos estavam infectados por HPV do tipo 6/11. Nos casais onde os homens eram assintomáticos, a prevalência da infecção em ambos pelo HPV-6/11 foi de 17,4% e para tipos oncogênicos foi de 47,83%.



**Figura 3** – Frequência da concordância de tipos virais nos casais estudados.

## 5.2 ANÁLISE CITOPATOLÓGICA

Foram analisados 99 esfregaços citológicos obtidos de amostras penianas dos pacientes dos grupos C e P, dos quais apenas 1 mostrou alteração citológica patognomônica compatível com a infecção pelo HPV, representada pela presença

de coilocitos (FIG 3). A associação entre a presença de DNA-HPV e os resultados da análise citológica está descrita na TAB. 8.

**Tabela 8** - Associação entre os resultados citológicos e moleculares detectados em amostras penianas.

Citologia	HPV-DNA Positivo n (%)	HPV-DNA Negativo n (%)	<b>Total n (%)</b>
Positiva	1 (1,08)	0	1 (1,01)
Negativa	92 (98,92)	6 (100)	98 (98,99)
Total	93 (93,94)	6 (6,06)	99

Em relação à presença dos sinais citológicos não clássicos pesquisados, 23 (23,23 %) esfregaços apresentaram alguns dos sinais avaliados, sendo freqüente a detecção de mais de um sinal nos esfregaços (FIG. 3). A freqüência desses sinais está descrita na TAB. 9. A associação entre a freqüência dos sinais citológicos não clássicos e a detecção de DNA-HPV pela PCR está descrita na TAB. 10.

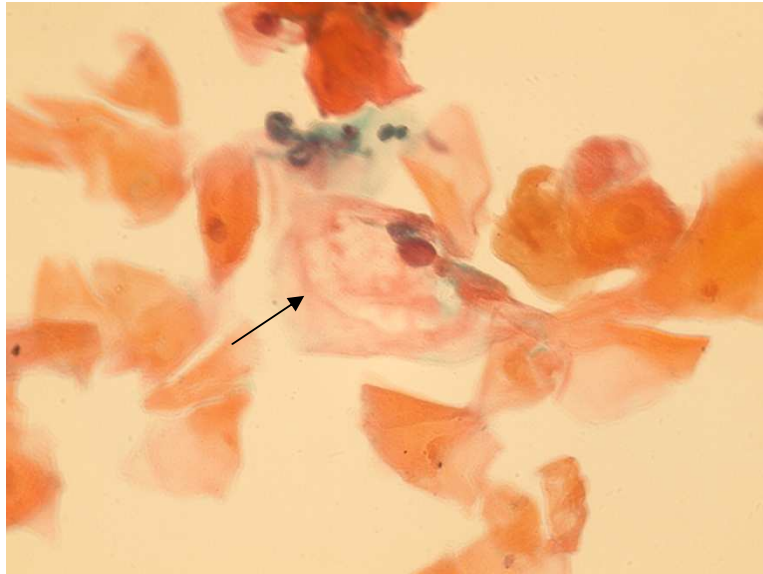
**Tabela 9** – Freqüência de sinais citológicos não clássicos encontrados em esfregaços penianos.

Sinais	Freqüência dos sinais citológicos Número de esfregaços (%)
Coilocitose leve	6 (6,06)
Disceratose leve	6 (6,06)
Grânulos de ceratohialina	3 (3,03)
Hipercromatismo nuclear	3 (3,03)
Bi ou multinucleação	8 (8,08)
Halo perinuclear	5 (5,05)
Clareamento citoplasmático	6 (6,06)
Condensação de filamentos	0
Células fusiformes	0
Esfregaços sem nenhum sinal	75 (75,75)

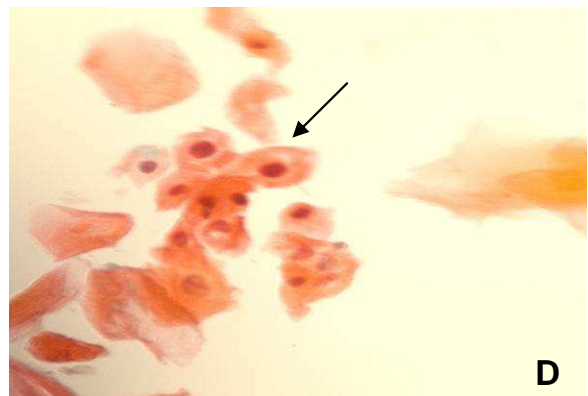
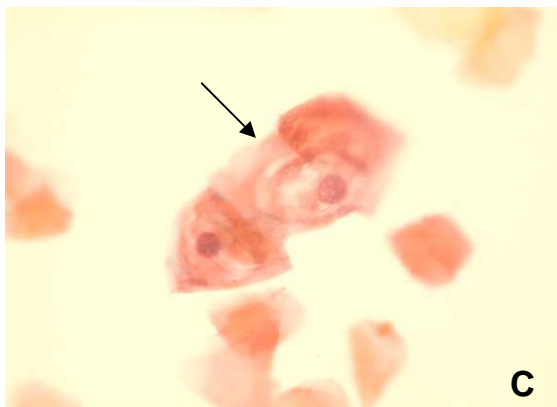
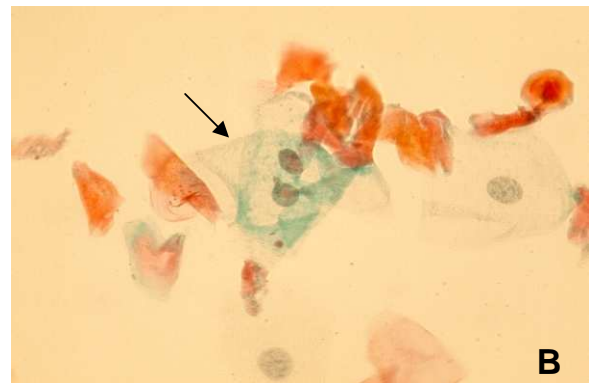
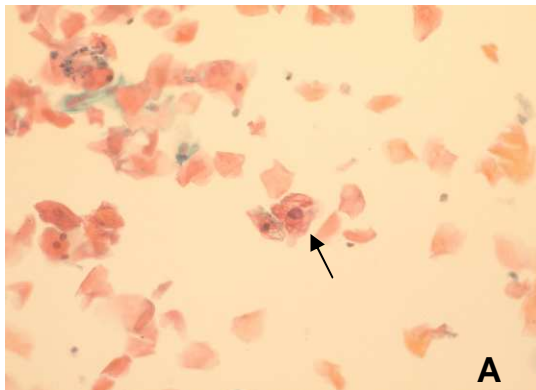
**Tabela 10** - Associação entre a presença dos sinais citológicos não clássicos e a detecção de DNA-HPV pela PCR em amostras penianas.

Sinais Citológicos Não Clássicos	DNA-HPV Positivo n (%)	DNA-HPV Negativo n (%)	<b>Total n (%)</b>
Presente	22 (23,91)	1 (16,67)	23 (23,47)
Ausente	70 (76,09)	5 (83,34)	75 (76,53)
Total	92 (93,88)	6 (6,12)	98*

\* O esfregaço contendo coilocitose, além dos sinais não clássicos, não foi considerada nesta análise.



**Figura 4** – Coilocito em esfregaço peniano. Citologia em meio líquido corada pelo método de Papanicolaou (400x).



**Figura 5** – Sinais citológicos não clássicos da infecção por HPV observados em esfregaço peniano: hiperchromatismo nuclear (A) (150x), clareamento citoplasmático (B), coilocitose leve (C) e disceratose leve (D). Citologia em meio líquido; coloração de Papanicolaou (400x).

Dos 23 esfregaços que apresentavam sinais citológicos não-clássicos apenas 1 mostrou-se DNA-HPV negativo (Quadro 3). A presença dos sinais citológicos não clássicos foi detectada em 23 dos 99 esfregaços analisados, dos quais 22 foram oriundos de amostras contendo DNA-HPV detectado por meio de PCR. O Quadro 3 descreve a presença dos sinais citológicos clássicos e não clássicos observados nos 24 esfregaços e a associação com os tipos virais detectados pela PCR.

Em todas as amostras cujos esfregaços apresentaram disceratose leve (6) foi detectada a presença de DNA-HPV-16 e em cinco delas havia co-infecção por HPV-6/11. Em 5 das 6 amostras penianas cujos esfregaços apresentaram coilocitose leve foi encontrado DNA-HPV-16, havendo co-infecção por HPV-6/11 em 4 amostras.

Todas as amostras cujos esfregaços apresentaram hiper cromatismo nuclear (3) mostraram múltiplas infecções (HPV 16, 18 e 6/11; HPV 16 e 6/11; e HPV 16, 18, 31 e 6/11). Um desses esfregaços apresentava também coilocitose e em outro foram identificados 4 sinais não clássicos adicionais.

Das amostras com esfregaços contendo bi ou multinucleação (8), 7 apresentaram infecção pelo HPV-6/11, das quais 5 mostraram co-infecção com HPV de alto risco. Uma das amostras cujos esfregaços apresentaram clareamento citoplasmático foi negativa para a pesquisa de DNA-HPV.

Foram analisados também dois esfregaços confeccionados a partir de amostra anal. Ambos foram considerados negativos não havendo nenhum dos sinais citológicos clássicos e/ou não clássicos. A distribuição dos sinais não clássicos entre os grupos C e P mostrou-se homogênea. O número de sinais não clássicos observado em cada esfregaço foi variável, não se constatando correlação com a presença de DNA-HPV detectado pela PCR, uma vez que mesmo em amostras contendo apenas 1 sinal não clássico foi detectada a presença de DNA-HPV.

**Quadro 3** – Sinais citológicos clássicos e não clássicos observados em 24 esfregaços e a associação com os tipos virais detectados pela PCR.

Caso (nº lâmina)	Grupo	C	DL	CL	GC	HN	Bi/Mu	HP	CC	CF	CLF	Tipo HPV
1 (51)	C	+				+		+				16,18,6/11
2 (2)	C		+									16,6/11
3 (69)	C		+									16,18,6/11
4 (10)	C		+									16,6/11
5 (88)	P		+		+							16
6 (103)	P		+	+		+			+			16,6/11
7 (3)	C		+				+					16,6/11
8 (22)	C			+			+					16,6/11
9 (20)	P			+			+					31,6/11
10 (71)	C			+		+	+	+	+			16,18,31,6/11
11 (9)	P						+					6/11
12 (8)	C						+					16,6/11
13 (82)	P						+					16
14 (43)	C						+	+				6/11
15 (67)	C							+				16,18,31,33,6/11
16 (91)	P							+				31,6/11
17 (56)	P				+							18
18 (93)	P				+							16
19 (80)	P								+			16,6/11
20 (77)	C								+			16,6/11
21 (68)	C								+			16,18,31,6/11
22 (107)	P								+			-
23 (34)	C			+								16,6/11
24 (17)	C			+								16

Grupo C – condiloma, Grupo P – parceira, C – coilocitose, CL – coilocitose leve, DL – disqueratose leve, GC – grânulos citoplasmáticos, HN – hiper cromatismo nuclear, Bi/Mu – Bi ou Multinucleação, HP – halo perinuclear, CC – clareamento citoplasmático, CF – condensação de filamentos, CLF – células fusiformes.



### 5.3 DADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS

Os dados clínico-epidemiológicos foram registrados a partir da aplicação de questionário e de consulta ao prontuário dos pacientes.

Dos 104 homens, 87 residem em Belo Horizonte, 3 em Contagem, 5 em Santa Luzia, 1 em Ibirité, 2 em Sabará, 1 em Nova Serrana, 1 em Esmeralda, 3 em Sarzedo e 1 em Vespasiano. 68 (65,38%) pacientes possuíam idade entre 18-30 anos, sendo 43 pertencentes ao grupo C e 25 ao grupo P. A faixa etária de 35 pacientes (33,65%) está compreendida entre 30-60 anos, sendo que 17 são do grupo C e 18 do grupo P. Apenas 1 (0,97%) paciente possui mais de 60 anos e pertence ao grupo condiloma. Todos são heterossexuais, exceto um paciente do grupo C que se declarou bissexual.

Quanto à escolaridade, 56,73% (59 pacientes) possuem ensino médio, 37,5% (39 pacientes) ensino fundamental e 5,77% (6 pacientes) ensino superior.

A idade média da primeira relação sexual foi aos 15,6 anos (15,7 anos para o grupo C e 15,5 anos para o grupo P) e o número médio de parceiros sexuais no último ano foi 3,58 (5,74 para o grupo C e 1,43 para o grupo P). Esse número oscilou entre 1 e 50 parceiros no último ano sendo a mediana igual a 1. Do total de 104 homens entrevistados, 82 (78,85%) possuíam parceira(o) fixa(o) (relacionamento estável há mais de seis meses) e 22 (21,15%) estavam solteiros. Dos 55 pacientes que declararam apenas 1 parceiro no último ano, 53 (96,4%) possuíam parceira(o) fixa(o). Dos 15 que declaram 2 parceiros no último ano, 11 (73,3%) possuíam parceira(o) fixa(o).

A maioria dos pacientes (62 pacientes – 59,6%) relatou freqüência sexual de 1-4 vezes por semana, 17,3% (18 pacientes) relataram freqüência sexual de 1 vez por

semana, 12,5% (13 pacientes) possuem de 5-7 vezes e o restante (11 pacientes - 10,6%) uma frequência maior que 7 vezes por semana. Dos 104 homens envolvidos na pesquisa, 36 (34,6%) relataram prática de intercursos anais, sendo que 27 (75%) deles praticam com as parceiras fixas e o restante (9 pacientes - 25%) com parceiras extra conjugais, 68 (65,4%) não praticam sexo anal, 67,3% (70 pacientes) não fumam e a grande maioria (94,2% - 98 pacientes) não possui circuncisão. Apenas 4 pacientes (3,8%) possuíam outra DST concomitante ao HPV.

A maioria dos condilomas acuminados encontrados nos pacientes do grupo C estavam localizados na região do prepúcio (sulco coronal, paredes interna e externa do prepúcio) (60,64% - 37 pacientes), seguidos pelo corpo peniano (8,2% - 5 pacientes) e glândula + prepúcio (6,56% - 4 pacientes) e púbis (6,56% - 4 pacientes). Apenas 2 pacientes (3,28%) não apresentavam lesões macroscopicamente aparentes, pois essas regrediram com o tratamento, mas ambos foram positivos para algum tipo de HPV.

Quando perguntados sobre o uso de preservativo, 43 pacientes (41,35%) responderam que às vezes faziam uso do preservativo, 39 (37,5%) responderam que sempre usam, exceto com a parceira fixa, 13 (12,5%) sempre usam e 9 (8,65%) relataram que nunca usaram camisinha.

A correlação dos resultados clínico-epidemiológicos com a presença ou não da detecção de DNA-HPV, está descrita na TAB. 11.

**Tabela 11** – Frequência da infecção por HPV em amostras penianas detectada por PCR e dados clínicos-epidemiológicos.

Dados clínico-epidemiológicos		Frequência (%)	
		HPV positivo	HPV negativo
Idade (anos)	18-30	66 (67,35)	2 (33,3)
	> 30	32 (32,65)	4 (66,7)
Escolaridade	fundamental	37 (37,76)	2 (33,3)
	médio e superior	61 (62,24)	4 (66,7)
Sexualidade	heterossexual	97 (99)	6 (100)
	homossexual	0	0
	bissexual	1 (1)	0
Parceira fixa (mais de 6 meses)	sim	76 (77,55)	6 (100)
	não	22 (22,45)	0
Número de parceiros no último ano	até 4	82 (83,67)	6 (100)
	> 4	16 (16,33)	0
Idade média da primeira relação sexual (anos)		15,62	14,83
Camisinha	sempre	13 (13,26)	0
	uso variável (nunca ou às vezes)	85 (86,74)	6 (100)
Frequência sexual	1-4 vezes por semana	75 (76,54)	5 (83,3)
	> 4 vezes por semana	23 (23,46)	1 (16,7)
Intercurso anal	sim	36 (36,73)	0
	não	62 (63,27)	6 (100)
Fumante	sim	33 (33,67)	1 (16,7)
	não	65 (66,33)	5 (83,3)
Circuncisão	sim	4 (4,08)	0
	não	94 (95,92)	6 (100)

A maioria dos homens que apresentaram amostras positivas para DNA-HPV (67,35%) possuía idade entre 18-30 anos, enquanto a maioria dos homens negativos para DNA-HPV (66,7%) tinha mais de 30 anos. Em ambos os grupos (HPV negativo e positivo) a maior parte dos pacientes possuem ensino médio ou superior (62,24% HPV positivos vs 66,7% HPV negativos). Todos os homens DNA-HPV negativos possuem parceiras fixas, assim como a maioria dos homens DNA-HPV positivos também (77,55%). Todos os homens negativos para DNA-HPV tiveram até 4 parceiras no ano, assim como 78,85% dos homens infectados por algum tipo de HPV. O uso variável de camisinha (nunca usou ou usa às vezes) e a frequência sexual de 1-4 vezes por semana foram constatados nos dois grupos. Todos os homens com DNA-HPV negativo não praticam intercursos anais e a maioria (83,3%) não é fumante. Todos os homens circuncidados dessa pesquisa foram infectados por HPV.

#### **5.4 ASSOCIAÇÃO ENTRE OS DADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS E A DETECÇÃO MOLECULAR DE MAIS DE UM TIPO DE HPV**

A associação entre a detecção molecular de mais de um tipo de HPV e a idade do paciente, o nível de escolaridade, a presença ou não de parceiras fixas, o número de parceiras, a idade de início da atividade sexual, o uso de preservativos, a frequência de atividade sexual, a realização de intercurso anal e o hábito de fumar estão demonstrados nas TAB 12 a 19, respectivamente.

A maioria dos homens com faixa etária entre 18-30 anos (69,12%) apresentaram múltiplas infecções por HPV em comparação com aqueles com mais de 30 anos (34,28%). Houve diferença significativa entre os grupos, sendo que o

risco de se ter múltiplas infecções por HPV foi maior nos homens com faixa etária entre 18-30 anos (OR = 4,29, IC 95% 1,82-10,12) (TAB. 12).

**Tabela 12** – Associação entre a idade do paciente e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.

Múltiplas Infecções	Idade do Paciente (%)		OR	IC 95%	p
	18-30	> 30			
Sim	47 (69,12)	12 (34,28)	4,29	1,82-10,12	0,001
Não	21 (30,88)	23 (65,72)			
Total	68	35			

Entre os homens com diferentes níveis de escolaridade não foi identificada diferença significativa quanto à probabilidade de se ter múltiplas infecções por HPV (TAB. 13). Todos os indivíduos de nível superior estavam infectados por HPV, mas não possuíam múltiplas infecções (dado não mostrado).

**Tabela 13** – Associação entre a escolaridade do paciente e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.

Múltiplas Infecções	Escolaridade (%)		OR	IC 95%	p
	Fundamental	Médio e Superior			
Sim	23 (60,53)	37(56,92)	1,16	0,48-2,84	0,88
Não	15 (39,47)	28 (43,08)			
Total	38	65			

Observou-se diferença estatisticamente significativa (OR = 4,43; IC 95% 1,28 – 16,28; p = 0.01) ao se avaliar a associação entre o risco de apresentar múltiplas infecções por HPV e o fato de não possuir parceira(o) fixa(o) (TAB. 14).

**Tabela 14** – Associação entre probabilidade de ocorrer múltiplas infecções em homens que não possuem parceira(o) fixa(o).

Múltiplas Infecções	Parceira(o) Fixa(o) (%)		OR	IC 95%	p
	Sim*	Não			
Sim	23 (43,4)	17 (77,27)	4,43	1,28-16,28	0,01
Não	30 (56,6)	5 (22,73)			
Total	53	22			

\* Foram excluídos os homens que apesar de terem parceira (o) fixa (o) se relacionaram sexualmente com outras pessoas durante o último ano.

Conforme apresentado na TAB. 15 observa-se um aumento da freqüência de múltiplas infecções em homens que relataram maior número de parceiros no último ano.

**Tabela 15** – Relação entre o número de parceiros no último ano e a presença de múltiplas infecções.

Múltiplas infecções	Número de parceiros no último ano (%)				
	1	2	3-6	6-10	>10
Sim	25 (45,45)	13 (86,67)	11 (55)	4 (80)	7 (77,78)
Não	30 (54,55)	2 (13,33)	9 (45)	1 (20)	2 (22,22)
Total	55	15	20	5	9

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a possibilidade de se ter múltiplas infecções por HPV e o início precoce da vida sexual (TAB.16).

**Tabela 16** – Associação entre a idade de início da vida sexual e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.

Múltiplas Infecções	Início da vida sexual (anos) (%)		OR	IC 95%	p
	Até 14	> 14			
Sim	20 (58,82)	40 (57,14)	1,07	0,43-2,67	0,96
Não	14 (41,18)	30 (42,86)			
Total	34	70			

Durante a aplicação do questionário aos pacientes, o uso variável de camisinha foi categorizado em nunca, às vezes, e sempre, exceto com a parceira fixa. Nesta condição, constatamos que 9 pacientes responderam que nunca usaram preservativo. Destes, 4 (44,4%) possuem múltiplas infecções e 5 (55,56%) possuem apenas um tipo viral ou não estão infectados; 43 homens responderam que usam às vezes o preservativo. Desses, 24 (55,81%) possuem múltiplas infecções por HPV e 19 (44,19%) possuem apenas um tipo viral ou não estão infectados (4); 39 homens responderam que sempre usaram camisinha, embora deixavam de usá-la quando a parceira se tornava fixa. Desses 39 homens, 26 (66,67%) apresentavam múltiplas infecções por HPV e 13 (33,33) infecção por apenas um tipo viral. Nesse trabalho, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o uso variável ou constante de preservativo e a presença de múltiplas infecções por HPV (TAB. 17).

**Tabela 17** – Associação entre o uso de preservativo e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.

Múltiplas Infecções	Uso de Preservativo (%)		OR	IC 95%	p
	Uso variável***	Sempre			
Sim	54 (59,3)	6 (46,2)	1,70	0,46-6,23	0,55
Não	37 (40,7)	7 (53,8)			
Total	91	13			

\*\*\* nunca ou às vezes

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a probabilidade de se ter múltiplas infecções por HPV e a frequência de atividade sexual de até 4 vezes por semana ou mais de 4, entre a prática de intercurso anal ou entre o hábito de fumar, como apresentado nos TAB. 18, 19 e 20, respectivamente.

**Tabela 18** – Associação entre freqüência sexual e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.

Múltiplas Infecções	Freqüência sexual semanal (%)		OR	IC 95%	p
	Até 4	> 4			
Sim	46 (57,5)	14 (58,33)	1,03	0,37-2,88	0,87
Não	34 (42,5)	10 (41,67)			
Total	80	24			

**Tabela 19** – Associação entre intercurso anal e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.

Múltiplas Infecções	Intercurso Anal		OR	IC 95%	p
	Sim	Não			
Sim	24 (66,67)	36 (52,94)	1,78	0,71-4,50	0,25
Não	12 (33,33)	32 (47,06)			
Total	36	68			

**Tabela 20** – Associação entre o hábito de fumar e a probabilidade de se ter múltiplas infecções.

Múltiplas Infecções	Fumante		OR	IC 95%	p
	Sim	Não			
Sim	22 (64,7)	38 (54,3)	1,54	0,61 – 3,93	0,43
Não	12 (35,3)	32 (45,7)			
Total	34	70			



## **6 DISCUSSÃO**

Nas análises realizadas neste trabalho, foi encontrada uma prevalência de 94,23% de infecção por HPV em amostras penianas de pacientes atendidos em uma clínica especializada no diagnóstico e tratamento de DSTs (CTDST) da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte. Esse valor corresponde certamente a uma prevalência alta, que pode ser justificada por se tratar de amostras coletadas em homens que apresentavam condiloma acuminado (grupo C) e, portanto, manifestação clínica associada à infecção ou possuíam parceiras com diagnóstico positivo para HPV (grupo P).

No grupo C, todos os indivíduos apresentaram infecção por algum dos tipos de HPV investigados, sendo que 93,44% deles possuíam infecção por HPV 6 e/ou 11, tipos virais mais prevalentes em condilomas acuminados (PARTRIDGE & KOUTSKY, 2006; RUBIN *et al.*, 2001; SKERLEV, 2002). Os índices detectados no presente trabalho são semelhantes àqueles relatados em diferentes estudos da literatura, nos quais se observa uma variação entre 75% a 100% da prevalência de infecção por HPV em homens com condiloma acuminado (BROWN *et al.*, 1999; GROSS & PFISTER, 2004; KATELARIS *et al.*, 1988; LÖWHAGEN *et al.*, 1993; POTOČNIK *et al.*, 2007; RUBIN *et al.*, 2001; SKERLEV *et al.*, 2002).

Em relação à infecção por HPV encontrada em parceiros de mulheres com diagnóstico positivo para este vírus e/ou com NIC, nota-se que a prevalência é variável e depende da população estudada, do método de coleta e do método de detecção da infecção (WEAVER *et al.*, 2004), sendo encontrados valores de cerca de 20% até 70% de infecção por HPV (BLEEKER *et al.*, 2005; GROSS & PFISTER, 2004; NICOLAU *et al.*, 2005; ROSENBLATT *et al.*, 2004). No grupo P, a prevalência da infecção por HPV detectada foi discretamente maior (86,05%) do que a relatada

em outros estudos. A maior prevalência poderia ser explicada pela sensibilidade do método utilizado (PCR), pela coleta ter sido realizada em várias regiões anatômicas.

Dentre os 98 homens que apresentaram amostras penianas positivas para DNA-HPV, 46,15% apresentaram DNA-HPV do tipo 16; 30,77% para DNA-HPV-18; 19,23% para DNA-HPV-31; 4,81% para DNA-HPV-33; 1,92% para DNA-HPV-45 e 75% para DNA-HPV -6/11. A prevalência dos tipos virais de HPV para os grupos C e P foram, respectivamente: 93,44% e 48,84% para o tipo 6/11; 54,1% e 34,88% para o tipo 16; 37,7% e 20,93% para o HPV 18; 13,11% e 27,91% para o HPV 31; 4,92% e 4,65% para o HPV 33 e 1,64% e 2,32% para o HPV 45.

Existe também grande variação nos valores de prevalência da infecção por HPV de acordo com os tipos virais. Em pacientes com lesões causadas por HPV (na forma clínica e subclínica), a prevalência do HPV de alto risco varia entre 12% a 70% e a do vírus de baixo risco entre 12 a 80% (DUNNE *et al.*, 2006, GOLIJOW *et al.*, 2005; GROSS & PFISTER, 2004; LÖWHAGEN *et al.*, 1993; SKERLEV *et al.*, 2002).

Katellaris *et al.* (1988) encontrou em homens com condiloma acuminado 52% de HPV do tipo 16 e 18 e em homens com lesões subclínicas 29%, utilizando o método de Southern blot. Bleeker *et al.* (2005) encontraram uma prevalência de 46,5% de infecção por HPV em homens parceiros de mulheres com NIC e 31,7% dessas infecções eram causadas por vírus de baixo risco. Nicolau *et al.* (2005) encontraram uma prevalência de 14% para os vírus de baixo risco e de 32% para os de alto risco, detectados por captura híbrida II em homens parceiros de mulheres com diagnóstico positivo para HPV. No presente trabalho a prevalência de infecção por HPV de baixo risco nos parceiros de mulheres infectadas por esse vírus foi de 46,51% e para os vírus de alto risco foi de 62,79. A diferença entre os valores de

prevalência encontrados neste trabalho em comparação ao trabalho de Nicolau *et al.* (2005) poderia ser explicada pela diferença de sensibilidade dos métodos utilizados o que ocasionou uma maior prevalência de infecção detectada nesse trabalho (86,05% vs 70%).

Infecções por mais de um tipo viral foram encontradas em 61% dos pacientes estudados no presente trabalho, um pouco acima dos índices relatados na literatura que variam entre 21,8% e 51,1% (DUNNE *et al.*, 2006; GROSS & PFISTER, 2004; POTOČNIK *et al.*, 2007). Chama a atenção o índice de co-infecção de 24% observado por NICOLAU *et al.* (2005). Em ambos os trabalhos foram coletados amostras em múltiplos sítios anatômicos. Portanto, é possível que a diferença de prevalência se deva ao método utilizado e à população estudada. No presente trabalho, além de parceiros de mulheres com diagnóstico positivo para HPV, foram analisadas também amostras coletadas de homens com condiloma acuminado, os quais possuíam em média 5,74 parceiros no último ano e apenas 11,48% deles relatavam o uso regular de camisinha.

Segundo Brown *et al.* (1999), 53,7% das co-infecções encontradas em condiloma são por vírus de alto risco.

Ressalta-se que os altos índices de HPV de alto risco detectados em homens nesse trabalho poderiam favorecer a transmissão destes vírus causadores do câncer cervical. Considerando que em nosso meio o esforço aplicado no controle do câncer de colo uterino tem sido direcionado especialmente à população feminina, esses dados sugerem que medidas educativas voltadas para a população masculina poderiam melhorar a eficácia das ações direcionadas ao controle da infecção por HPV nas mulheres.

Em algumas amostras, a presença de DNA-HPV não foi detectada por meio da utilização dos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+, embora o DNA-HPV tenha sido detectado em algum dos testes realizados para a tipagem e detecção do HPV. Este fato levantou a suspeita de uma possível interferência do tratamento das verrugas e/ou do método de coleta na detecção da infecção por HPV com os oligonucleotídeos GP5+ e GP6+.

Com o objetivo de avaliar a interferência do tratamento, coletaram-se amostras de homens em diferentes fases do tratamento e esses foram divididos em dois grupos: com tratamento e sem tratamento. No grupo de pacientes que recebeu tratamento, 16 pacientes tiveram amostras penianas coletadas 7-10 dias após a aplicação local de podofilina. Destes, todos foram positivos para algum tipo de HPV com a utilização de oligonucleotídeos específicos, enquanto que com o uso dos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+, 14 (87,5%) das amostras foram positivas para DNA-HPV. Este dado difere dos dados relatados por Zhu *et al.* (1992). De acordo com esses autores, 14 verrugas genitais foram removidas e divididas. Um fragmento de cada verruga foi separado e foram formados 4 grupos, submetidos aos diferentes tratamentos. DNA-HPV foi detectado por meio dos oligonucleotídeos MY09 e MY11, sendo que a porcentagem de DNA-HPV detectada foi de 100% nas amostras não tratadas, de 92% nas tratadas com nitrogênio líquido, de 15% nas tratadas com podofilina e de 7% naquelas com ácido tricloroacético. A diferença entre os resultados obtidos no presente trabalho e aqueles descritos por Zhu *et al.* (1992) poderia ser explicada pelo fato de que, no presente trabalho, todos os pacientes que tiveram as amostras coletas pós-podofilina ainda apresentavam condiloma acuminado, ou seja, a infecção foi mantida assim como a propagação viral, permitindo, conseqüentemente, a detecção por PCR. No trabalho de Zhu *et al.*

(1992), toda a verruga foi removida e tratada, não permitindo, portanto, a existência de células viáveis e nova replicação viral. Além disso, no presente estudo, a coleta foi realizada também em outras regiões anatômicas penianas, e não somente sobre ou na região onde se localizava o condiloma, o que aumenta a probabilidade de se encontrar DNA-HPV.

Comparando-se os dois grupos do presente trabalho, não foi observada associação entre a detecção da infecção por HPV e o tratamento, o que sugere que a ausência de positividade na PCR com os oligonucleotídeos GP5+ e GP6+ não está, nas amostras analisadas, associada ao tratamento.

Sabe-se que as recidivas de condilomas acuminados são freqüentes, sendo por volta dos 70% dentro de seis meses (GUNTER, 2003) e que o tratamento não tem mostrado reduções nos índices de transmissão ou subsequente transformação neoplásica (SHEW & FORTENBERRY, 2005). Em trabalho de revisão realizado por Wiley *et al.* (2002), o desaparecimento das verrugas foi estimado em 23-72% após tratamento com podofilina e a taxa de recorrência encontra-se entre 23-65%. O CTDST possui um protocolo de tratamento para condiloma acuminado que prevê dois tipos de intervenção: 1) aplicações seqüenciais de podofilina (RIVERA & TYRING, 2004) e/ou 2) eletrocauterização. Se a opção tomada for pelo tratamento com podofilina, o esquema terapêutico adotado consiste em aplicação do medicamento sobre a lesão e retorno desse paciente para avaliação após intervalo mínimo de sete dias. No seu retorno, o médico avalia o grau de redução do condiloma e opta pela alta (caso tenha ocorrido o desaparecimento da verruga) ou por mais uma aplicação de podofilina. As aplicações são seqüenciais e semanais até a regressão total do condiloma. Se a resposta não for satisfatória, o paciente é encaminhado a eletrocauterização.

A metodologia de coleta das amostras penianas foi inicialmente padronizada nesse trabalho, de maneira a facilitar a análise citológica. Segundo Boon *et al.* (1988), escamas córneas são um achado comum em amostras penianas. Assim, optou-se por não coletar amostras do corpo peniano e prepúcio externo, uma vez que o grande número de escamas córneas oriundas da pele destas regiões dificulta a análise citopatológica. O tempo de permanência das lâminas em cada etapa da bateria de coloração de Papanicolaou também foi ajustado para se evitar a presença de artefatos de coloração e hidratação dos esfregaços.

Assim, uma vez que amostras contendo células do prepúcio externo possuíam mais escamas córneas, o que aumentaria a quantidade de interferentes na PCR (proteínas), a influência do método de coleta na positividade da PCR com os oligonucleotídeos GP5+ e GP6+ foi também avaliada, não tendo sido detectada associação entre a infecção por HPV utilizando-se os oligonucleotídeos GP5+ e GP6+ e o método de coleta.

Resultado negativo quando são utilizados oligonucleotídeos de consenso (geral) e resultado positivo com oligonucleotídeos específicos têm sido relatados em alguns estudos (DEPUYDT *et al.*, 2003; GRCE *et al.*, 1997; HUANG *et al.*, 2004). Uma possível explicação para essa discordância seria o fato de que, durante a integração viral ao genoma da célula hospedeira, parte da região L1, região de amplificação dos oligonucleotídeos de consenso, poderia ser deletada. Ao utilizar oligonucleotídeos tipos-específicos, essa deleção não seria importante a ponto de comprometer significativamente a amplificação do fragmento. A presença nestas amostras de variantes do HPV na região de homologia de GP5+/GP6+ também poderia explicar esses achados. Além disso, não se pode descartar a possibilidade

da interferência de fatores inerentes à técnica de PCR, relacionados à sensibilidade do método.

Trabalhos recentes têm mostrado um aumento da sensibilidade da PCR quando utilizados os oligonucleotídeos GP5+ e GP6+, ao compará-los com os MY 09/11 (CHAIWONGKOT *et al.*, 2007, FREITAS *et al.*, 2007). Em trabalho realizado por Qu *et al.* (1997) é relatada uma perda de sensibilidade de detecção do DNA-HPV pelos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+ quando existe mais de um tipo viral presente na amostra. Nesse trabalho, 47% das amostras tiveram DNA-HPV detectado com os oligonucleotídeos GP5+ e GP6+, contrariamente aos 90% detectado pelos oligonucleotídeos MY09 e MY11. A prevalência da infecção por HPV detectada pelos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+ foi de 85,25% em pacientes sabidamente infectados por HPV, pois apresentavam condiloma acuminado. Considerando que uma prevalência maior foi detectada quando oligonucleotídeos tipos-específicos foram empregados, pode-se sugerir que a utilização de apenas um par de oligonucleotídeos não é o suficiente para diagnosticar a infecção pelo HPV. Husnjak *et al.* (2000) sugere como protocolo de diagnóstico para infecção por HPV a triagem das amostras com PCRs que utilizam os oligonucleotídeos MY e LC. As amostras negativas devem ser novamente testadas com o nested MY/GP e então, as amostras positivas testadas com os oligonucleotídeos específicos. O nested MY/GP é indicado para uso em amostras com pequeno número de cópias virais. Um trabalho recente (HAWS *et al.*, 2004) compara os métodos de nested PCR utilizando os oligonucleotídeos MY09 e MY11 na primeira PCR e GP5+ e GP6+ na segunda e outro nested PCR, sendo a primeira PCR com os oligonucleotídeos PGMY09/11 e a segunda PCR com GP5+ e GP6+. O nested PGMY/GP mostrou-se mais eficiente na



detecção do DNA-HPV, tendo sensibilidade para identificar o HPV mesmo quando presente em baixo número de cópias ou em amostras com múltiplas infecções.

No presente trabalho, foram também avaliados 23 casais em que a parceira apresentava diagnóstico positivo para a infecção por HPV e 3 casais em que o parceiro apresentava condiloma acuminado. A detecção do HPV pelos oligonucleotídeos GP5+ e GP6+ em amostras femininas (96,15%) foi maior que nas amostras masculinas (71,15%). Dentre os 26 casais estudados, 3 homens não apresentaram DNA-HPV, ao passo que todas as mulheres tiveram resultado positivo para DNA-HPV. Essa diferença pode ser explicada pelo fato das amostras cervicais apresentarem maior representação celular, facilitando a detecção molecular do HPV. Além disso, 88,46% das pacientes apresentavam infecção na forma subclínica ou clínica, uma vez que essas possuíam resultado citológico e/ou histopatológico positivo HPV e, portanto, maior probabilidade de apresentarem infecção ativa com maior número de cópias virais. Por outro lado, entre os parceiros, apenas três apresentavam a forma clínica da infecção. Os demais poderiam apresentar a forma subclínica ou latente da infecção por HPV. Nos homens, vários fatores podem dificultar a detecção de DNA-HPV, como a ausência de uma lesão delimitada, o excesso de interferentes devido à presença de escamas córneas e, possivelmente, uma menor quantidade de vírus.

Os HPVs de baixo risco foram menos prevalentes nas mulheres (53,84% nas mulheres e 75% nos homens). Em outro estudo conduzido no Laboratório de Biologia Molecular e Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG (FREITAS *et al.*, em fase de elaboração)<sup>1</sup> foram encontradas, em 63 amostras de mulheres da cidade de Belo Horizonte, que também apresentavam anormalidades detectadas pela colposcopia

1 – Autores: Taíse Palmeiras Freitas, Lucas Fonseca Rodrigues, Ana Paula Salles Fernandes, Paula Ávila Fernandes.

e/ou exame citopatológico, freqüências similares às detectadas no presente estudo, sendo de 41% para o HPV 16, 13% para o HPV 18, 36,5% para o HPV 6/11, 11,1% para o HPV 33, 8,2% para o HPV 31 e 4,9% para o HPV 45, resultando em uma freqüência de 78% de vírus de alto risco e 36% para os de baixo risco, e em 16% de co-infecção.

Ao se comparar os casais, não foi encontrada, pelo menos em sua maioria, concordância em todos os tipos virais detectados. A concordância global entre os tipos virais foi observada em apenas 1 caso (3,8%) e em 38,5% dos casos não houve nenhum tipo de concordância. A concordância viral entre casais tem sido amplamente discutida e existem vários trabalhos mostrando que talvez ela não exista (FRANCESCHI *et al.*, 2002; NICOLAU *et al.*, 2005; ROSENBLATT *et al.*, 2004). Em trabalho realizado por Rosenblatt *et al.* (2004), utilizando-se a técnica de captura híbrida, o mesmo grupo de vírus foi encontrado em apenas 13% dos casais de mulheres com NIC e em 6% dos casais onde a mulher não apresentava anormalidades cervicais. No estudo de Nicolau *et al.* (2005), a concordância viral entre casais, determinada pelo método de captura híbrida II, foi de 36,7% com IC<sub>95%</sub> entre 23-52%. A utilização de captura híbrida em ambos os trabalhos (NICOLAU *et al.*, 2005; ROSENBLATT *et al.*, 2004) poderia justificar os maiores valores de concordância viral entre os casais encontrados, em relação aos dados verificados no presente trabalho (3,8%), uma vez que a captura híbrida trabalha com grupos de HPV, de alto e baixo risco, e não com tipos específicos como detectado por meio da PCR neste trabalho.

A infecção por HPV se dá no início da vida sexual e está intimamente relacionada ao sistema imune (HO *et al.*, 1998; GIRALDO *et al.*, 2006), o que talvez

dificulte a propagação do HPV entre parceiros mais tardios e a concordância dos tipos virais entre casais.

Nos casais em que o homem apresentava condiloma acuminado, ambos estavam infectados pelo HPV tipo 6/11. Nos casais em que os homens eram assintomáticos, a prevalência do HPV 6/11 em ambos os parceiros foi menor (17,4%) que a prevalência do tipo de viral concordante de alto risco (47,83%). Segundo Teixeira *et al.* (2002) as recidivas são mais freqüentes quando o parceiro também tem HPV. Entretanto, segundo Nicolau *et al.* (2005), a carga viral não aumenta a probabilidade do mesmo grupo de vírus ser detectado no parceiro, podendo estar associada com a extensão da lesão e não com a transmissão (ROSENBLATT *et al.*, 2004).

Entre 99 esfregaços citológicos obtidos de amostras penianas dos 104 homens pertencentes aos grupos C e P, apenas 1 mostrou alteração citológica compatível com infecção por HPV, representada pela presença de coilócitos. Estudos revelam uma ampla variação, com índices variando entre 5% a 81%, na taxa de detecção de infecção por HPV em esfregaços de amostras penianas, incluindo as amostras uretrais (AYNAUD *et al.*, 2003; BAR-AM & NIV, 2007; BOON *et al.*, 1988; CECCHINI *et al.*, 1992; KREBS & SCHNEIDER, 1987; MANDAL *et al.*, 1991). Essa variação, provavelmente, deve-se às diferenças nos sítios de coleta das amostras, a presença ou não de lesões penianas e/ou uretrais identificadas macroscopicamente ou por meio de peniscópio, e especialmente, aos critérios citológicos utilizados pelos autores para identificar as alterações compatíveis com a infecção por HPV. Nem sempre a presença de coilocitose é considerada pelos autores como uma alteração necessária para o diagnóstico da infecção por HPV em esfregaços citológicos penianos. Aynaud *et al.* (2003) relataram que cerca de 15%, 18% e 81% dos

esfregaços uretrais mostravam alteração compatível com HPV, provenientes, respectivamente, de amostras de homens sem lesão detectada à peniscopia, de homens com lesões penianas e daqueles com lesões uretrais e penianas. Ressalta-se que estes autores consideraram como modificações citológicas indicativas de infecção por HPV a presença de bi ou multinucleação, aumento nuclear, núcleo hipercromático, aumento de espessura da membrana nuclear, dentre outros, dos quais não está incluída a presença de coilocitose. Essas modificações celulares descritas são muitas vezes decorrentes de atipias reativas e podem levar a resultados falso-positivos, como inclusive concluem os autores (AYNAUD *et al.*, 2003) em seu estudo.

Considerando apenas os estudos realizados em condições metodológicas semelhantes ao nosso (esfregaços penianos não uretrais e a presença de coilócito no esfregaço como indicação de infecção por HPV), verifica-se que nossos resultados são semelhantes aos descritos por outros autores (BOON *et al.*, 1988; FERENCZY *et al.*, 1995, NICOLAU *et al.*, 1997). Os índices de coilócitos detectados em esfregaços penianos variam entre 1,6% a 5% dos casos, indicando uma sensibilidade muito baixa da citologia peniana na detecção da infecção por HPV.

Considerando que, até o momento, não existem dados disponíveis na literatura sobre a aplicação da citologia em meio líquido em amostras penianas, conduziram-se as análises citológicas por meio desta técnica, permitindo, desta forma, a comparação com os resultados moleculares.

A citologia em meio líquido tem sido utilizada no rastreamento do câncer cervical e algumas vantagens deste método têm sido descritas. Pan *et al.* (2003) detectaram uma diminuição de casos falso-negativos na citologia em meio líquido, de 3,2% para os casos de NIC III e de 9,3% de NIC II, ambos confirmados por

biópsia. Além disso, tem sido relatado que a detecção de células escamosas atípicas de significado indeterminado, lesão de baixo ou lesão mais grave é maior neste método, resultando em maior precisão no diagnóstico das lesões epiteliais precursoras e neoplásicas do colo uterino (LONGATO-FILHO *et al.*, 2005). Em estudo meta-análise recente (ARBYN *et al.*, 2008), cujo objetivo foi comparar os métodos de citologia convencional e citologia em meio líquido e no qual foram selecionados trabalhos onde todos os indivíduos que participaram da pesquisa também se submeteram à biópsia (padrão ouro), a citologia em meio líquido mostrou-se mais sensível, porém não mais específica que a citologia convencional.

Estudos anteriores conduzidos no Laboratório de Biologia Molecular e Citologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG também utilizaram a citologia em meio líquido em amostras cervicais. Carmo (2004) verificou que a citologia em meio líquido detectou lesões mais graves que aquelas identificadas na citologia convencional, sendo a primeira positiva em 5,3% dos casos considerados negativos na citologia convencional.

Outra vantagem da citologia em meio líquido é permitir a aplicação de outras técnicas na mesma amostra coletada para estudo citopatológico, como as análises moleculares e a pesquisa de marcadores biológicos por meio de técnicas imunocitoquímicas. Freitas (2007), estudando a aplicação de marcadores imunocitoquímicos da infecção por HPV de alto risco em amostras cervicais, detectou que as pacientes com diagnóstico de lesão de alto grau apresentaram chance cerca de 5 vezes maior de apresentar imunorreatividade de p<sup>16</sup>INK4A em relação às pacientes com diagnóstico citopatológico negativo.

No presente trabalho, mesmo com a utilização da citologia em meio líquido, não verificamos um aumento da taxa de detecção de infecção por HPV em amostras penianas, quando comparamos com os dados de citologia convencional disponíveis na literatura.

A citologia uretral tem sido estudada uma vez que alguns autores acreditam que a uretra poderia representar um potencial reservatório do HPV, o que explicaria em parte as recorrências freqüentes após o tratamento observado em homens. No entanto, apesar de alguns estudos indicarem uma sensibilidade maior da citologia uretral em relação à citologia obtida de outras regiões penianas, optou-se, no presente trabalho, por não coletar amostra da uretra, uma vez que este procedimento induz a um desconforto para o paciente, necessitando do uso de anestésico local e podendo às vezes, evoluir com disúria.

Considerando esses aspectos, foi conduzida também a análise dos sinais citológicos não clássicos, descritos por SCHNEIDER *et al.* (1987) com o objetivo de melhorar a sensibilidade do diagnóstico citológico em amostras penianas.

Ao utilizarmos estes critérios verificamos que das 23 amostras que apresentaram alguns destes sinais, 22 mostraram DNA-HPV detectado pela PCR. Se considerarmos todos os casos (92) que foram positivos na PCR, a aplicação dos sinais não clássicos para o diagnóstico da infecção por HPV permitiu a identificação de 24% (22/92) dos casos. Mesmo considerando que houve um aumento da sensibilidade do diagnóstico citológico com a aplicação dos sinais não clássicos em relação à presença apenas dos sinais clássicos (24% vs 1%), a sensibilidade do método citológico permaneceu ainda muito baixa. Ressalta-se que neste cálculo foram consideradas amostras que apresentaram número variável dos sinais não clássicos (1 a 5). Acredita-se que o diagnóstico não seria confiável ao se utilizar

apenas 1 sinal não clássico como critério citológico suficiente para indicar a presença de infecção por HPV em esfregaços penianos, uma vez que alguns destes sinais citológicos não clássicos são vistos também em processos reativos/inflamatórios.

A condução de um estudo onde a identificação de sinais citológicos não clássicos fosse aplicada em um maior número de amostras penianas negativas para DNA-HPV detectado por PCR poderia contribuir para esclarecer se existe associação entre a presença destes sinais e quais e quantos sinais não clássicos estariam realmente associados à infecção por HPV.

Considerando que no homem os achados citológicos não são tão bem estudados como na mulher, é possível que na citologia peniana, alterações citológicas mais sutis, tidas como inespecíficas na citologia cervical, necessitem serem usadas para o diagnóstico da infecção por HPV.

Alguns dos fatores de risco para a infecção por HPV foram observados entre os participantes deste estudo, tendo sido avaliada a associação desses com a probabilidade de contrair múltiplas infecções, aspecto pouco avaliado nos trabalhos existentes. Infecções com múltiplos tipos virais parecem atuar sinergicamente na carcinogênese cervical e tem implicações na manutenção de lesões cervicais e na predição da evolução das lesões causadas por HPV (TROTIER *et al.*, 2006).

Observou-se que homens mais jovens, com idade entre 18-30 anos possuem um risco 4 vezes maior ( $p= 0,001$ , OR = 4,29, IC 95%= 1,82-10,12) de apresentarem infecção por mais de um tipo viral de HPV que homens com idade superior a 30 anos. Nessa faixa etária, os homens encontram-se em plena atividade sexual havendo, possivelmente, maiores chances de se expor ao vírus. Além disso, por estarem no início da vida sexual, as primeiras infecções por HPV possuem uma

maior chance de sucesso por causa da vulnerabilidade do sistema imunológico em não “reconhecer” esse agente infeccioso. Além disso, maior número de parceiros sexuais e maior frequência sexual são fatores facilitadores da infecção por HPV (FERENCZY, 1995; HATCH, 1995, TEIXEIRA *et al.*, 2002, WINER & HUGHES, 2003).

Possuir parceiros múltiplos é considerado comportamento de risco para infecção por HPV (BALDWIN *et al.*, 2003; TEIXEIRA *et al.*, 2002). Partridge *et al.* (2007) referem que a incidência de infecção por HPV está associada ao relato de novo parceiro sexual entre 0 – 8 meses antes do diagnóstico de infecção por HPV. Em concordância, no presente trabalho, observou-se associação significativa ( $p=0,01$ , OR= 4,43; IC 95%= 1,28-16,28) entre o risco de ocorrência de múltiplas infecções por HPV em homens que não possuem parceira(o) fixa(o), isto é, homens que se relacionaram sexualmente com mais de uma parceira no último ano.

Neste trabalho, não foi encontrada diferença significativa entre a possibilidade de se ter ou não múltiplas infecções por HPV e o início precoce da vida sexual, o uso variável ou constante de preservativo, a frequência de atividade sexual de até 4 vezes por semana ou mais de 4, entre a prática de intercurso anal e entre o hábito de fumar, embora seja relatado na literatura que esses fatores constituem em comportamentos que podem influenciar a infecção por HPV (ANTUNES *et al.*, 2004; AYNAUD *et al.*, 1994; BALDWIN *et al.*, 2004; CAVALCANTI *et al.*, 2000; ; NICOLAU *et al.*, 2005; TEIXEIRA *et al.*, 2002; WINER & HUGHES, 2003). Baseado nesses resultados acredita-se que esses fatores estejam relacionados ao aumento da probabilidade de infecção por HPV, porém não estariam implicados no risco de uma infecção viral múltipla.



É sabido que o menor acesso à educação e a escassa informação sobre doenças sexualmente transmissíveis (DST) colaboram para o aumento da prevalência e a disseminação dessas doenças. Entretanto, no presente trabalho, não foi detectada associação entre os diferentes níveis de escolaridade e a probabilidade de se ter múltiplas infecções por HPV, apesar de ter sido observada uma tendência dos indivíduos que possuem apenas o ensino fundamental de apresentarem múltiplas infecções (60,53% nível fundamental vs 56,92% nível médio e superior). Todos os indivíduos de nível superior estavam infectados por HPV, mas não possuíam múltiplas infecções (dado não mostrado).

Em trabalho realizado por Jiménez *et al.* (2001), o uso limitado de preservativos foi mais freqüente em mulheres de baixo nível sócio-econômico e de menor escolaridade. Carret *et al.* (2004) observaram que indivíduos com cerca de quatro anos de escolaridade apresentaram quase 50% mais sintomas de DST do que aquelas com 12 anos ou mais de estudo.

Durante as entrevistas para o preenchimento dos questionários foi observado um desconhecimento geral sobre o HPV por parte dos pacientes. Esses não possuíam informações quanto ao modo de transmissão, os tipos de HPV, os possíveis danos à saúde causados por esse vírus e inclusive a associação com o câncer peniano. Além disso, muitos pacientes não entendiam o motivo das freqüentes recidivas de condiloma e questionavam a eficácia do tratamento. O número de parceiros anual foi de 3,58, considerando-se a média geral, sendo que para o grupo C essa média quase dobrou (5,74). O uso irregular de camisinha foi também constatado. Apesar de haver homens com diferentes níveis de escolaridade, não foi observada diferença quanto ao conhecimento da infecção pelo HPV.

Aliado a todos esses fatores cabe-nos reforçar a importância de medidas informativas e educativas com a finalidade de diminuir os transtornos causados pelo HPV, os quais incluem desde os aspectos econômicos, como o gasto do tratamento, as idas ao consultório e até mesmo os transtornos emocionais como a perda de auto-estima e problemas conjugais.

Apesar das limitações técnicas e do número limitado de participantes, consideramos que esse trabalho vem contribuir com os poucos dados existentes na literatura e no Brasil sobre a infecção pelo HPV em homens. Apesar de se tratar do primeiro trabalho deste grupo com amostras masculinas, vários objetivos foram alcançados e novas perspectivas de trabalho vislumbradas. Embora esse trabalho tenha sido desenvolvido com uma população de risco, pode-se inferir que é grande a prevalência da infecção por HPV na população comum, havendo necessidade de trabalhos informativos e educativos com o objetivo de minimizar a incidência de novos casos.

Segundo estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) esperam-se para 2008 o surgimento de cerca de 18.680 novos casos de câncer de colo do útero no Brasil, com risco estimado de 19 casos a cada 100.000 mulheres. Estudos adicionais que venham acrescentar informações para a compreensão da infecção pelo HPV tornam-se necessários a fim de que se consiga reduzir a morbimortalidade causada por essa doença.

## **7 CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos nesse trabalho nos permitiram concluir que:

- A técnica de PCR é de grande valia e sensibilidade para a detecção da infecção por HPV em amostras penianas, permitindo avaliar a prevalência dos diferentes tipos de HPV. No entanto, a utilização de apenas um par de oligonucleotídeos pode levar a diagnósticos falsos negativos. O desenvolvimento de oligonucleotídeos adicionais torna-se necessário para minimizar erros de diagnóstico e aumentar a praticidade e a sensibilidade da técnica.
- A população analisada caracterizou-se por apresentar elevada prevalência de infecção por HPV (94,23%); alta prevalência de HPV alto risco tanto em lesões condilomatosas (77,05%) como em parceiros assintomáticos de mulheres infectadas por HPV (62,79%), assim como a presença de múltiplas infecções por HPVs alto e baixo risco.
- A detecção citopatológica da infecção por HPV em amostras penianas por meio da técnica da citologia em meio líquido foi baixa (24%), mesmo com a aplicação dos sinais citológicos não clássicos, não se constituindo em um método de diagnóstico adequado à detecção da infecção por HPV.
- A concordância viral detectada entre casais foi muito baixa, ressaltando a importância do sistema imune para a contenção da transmissão do vírus. Estudos adicionais são, no entanto, necessários para a confirmação dessa observação.
- A idade dos pacientes e a existência ou não de parceira fixa foram fatores significativamente associados à presença de múltiplas infecções por HPV. Pacientes mais jovens apresentaram risco 4 vezes maior de múltiplas infecções por estarem no início da vida sexual, possuírem alta frequência sexual e grande número de parceiros. A existência de parceira(o) fixa(o) age como fator protetor a múltiplas infecções.

## **8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AGORATOS, T.; MILIARAS, D.; LAMBROPOULOS, A. F.; CHRISAFI, S.; KOTSIS, A.; MANTHOS, A.; BONTIS, J.. Detection and typing of human papillomavirus DNA in uterine cervixes with coexistent grade I and grade III intraepithelial neoplasia: biologic progression or independent lesions? *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, v. 121, p. 99–103, 2005.

ANTUNES, A. A.; LYRA, R.; CALADO, A. A.; ANTUNES, M. A.; FALCÃO, E.. Prevalência de coilocitose em biopsias penianas de parceiros de mulheres com lesões genitais induzidas pelo HPV. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 26, n. 7, p. 557-562, 2004.

ARBYN, M.; BERGERON, C.; KLINKHAMER, P.; MARTIN-HIRSCH, P.; SIEBERS, A. G.; BULTEN, J.. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstetrics and Gynecology*, v. 111, n. 1, p. 167-77, 2008.

ARORA, R.; KUMAR, A.; PRUSTY, B. K.; KAILASH, U.; BATRA, S.; DAS, B. C.. Prevalence of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) types 16 and 18 in healthy women with cytologically negative Pap smear. *European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology*, v. 121, p.104-109, 2005.

AYALA, G. E.; BARRETO, J. E.; RODRIGUEZ, I.; TORRES, J.; CUBILLA, A. L.. Human Papillomavirus - Related Lesions of the Penis. *Pathology Case Reviews*, v. 10, n. 1, 2005.

AYNAUD, O.; IONESCO, M.; BARRASSO, R.. Penile intraepithelial neoplasia. Specific clinical features correlate with histologic and virologic findings. *Cancer*, V. 15, n. 74 (6), p. 1762-1767, 1994.

AYNAUD, O.; IONESCO, M.; BARRASSO, R.. Cytologic detection of human papillomavirus DNA in normal male urethral samples. *Urology*, v. 61, n. 6, p. 1098-1101, 2003.

BALDWIN, S. B.; WALLACE, D. R.; PAPENFUSS, M. R.. Human papillomavirus infection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *Journal Infectious Diseases*, v. 187, p. 1064-1070, 2003.

BALDWIN, S. B.; WALLACE, D. R.; PAPENFUSS, M. R.; ABRAHAMSEN, M.; VAUGHT, L. C.; GIULIANO, A. R.. Condom use and other factors affecting penile Human papillomavirus detection in men attending a sexually transmitted disease clinic. *Sexually Transmitted Diseases*, v.31, n.10, p. 601-607, 2004.

BAR-AM, A.; NIV, J.. The role of HPV DNA in the evaluation and follow-up of asymptomatic male sexual partners of females with CIN 3. *European Journal Gynaecological Oncology*, v. 28, n. 3, p. 207-210, 2007.

BARRASSO, R.. HPV-related lesions in men. *International Agency for Research on Cancer*, p. 85-92, 1992.

BERNARD, H-U.. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *Journal of Clinical Virology*, v. 32S, p, S1-S6, 2005.

BLEEKER, M. C. G.; HOGEWONING, C. J. A.; VOORHORST, F. J.; VAN DEN BRULE, A. J. C.; BERKHOF, J.; HESSELINK, A. T.; LETTINK, M.; STARINK, T.M.; STOOFF, T. J.; SNIJDERS, P. J. F.; MEIJER, C. J. L. M.. HPV – associated flat penile lesions in men of a non-STD hospital population: less frequent and smaller in size than in male sexual partners of women with CIN. *International Journal of Cancer*, v. 113, p. 36-41, 2005.

BLEEKER, M. C. G.; BERKHOF, J.; HOGEWONING, C. J. A.; VOORHORST, F. J.; VAN DEN BRULE, A. J. C.; STARINK, T. M.; SNIJDERS, P. J. F.; MEIJER, C. J. L. M.. HPV type concordance in sexual couples determines the effect of condoms on regression of flat penile lesions. *British Journal of Cancer*, v.92, p. 1388-1392, 2005a.

BIBBO, M.; MORAES FILHO, A.. **Lesões relacionadas à infecção por HPV no trato anogenital**. Rio de Janeiro: Revinter, 1998. 166 p.

BOON, M. E.; SCHNEIDER, A.; HOGEWONING, C. J. A.; VAN DER KWAST, T. H.; BOLHUIS, P.; KOK, L. P.. Penile studies and heterosexual partners – Peniscopy, cytology, histology and immunocytochemistry. *Cancer*, v. 61, n. 8, p. 1652-1659, 1988.

BROWN, D. R.; SCHROEDER, J. M.; BRYAN, J. T.; STOLER, M. H.; FIFE, K. H.. Detection of Multiple Human Papillomavirus Types in Condylomata Acuminata Lesions from Otherwise Healthy and Immunosuppressed Patients. *Journal Clinical Microbiology*, v. 37, n. 10, p. 3316–3322, 1999.

CARMO, B. B. Estudo comparativo entre a citologia convencional e a citologia em meio líquido na detecção de lesões escamosas intra-epiteliais e invasoras do colo uterino associadas à infecção pelo papiloma vírus humano. 2004. 122f. (Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CARRET, M. L. V.; FASSA, A. C. G.; SILVEIRA, D. S.; BERTOLDI, A. D.; HALLAL, P. C.. Sintomas de doenças sexualmente transmissíveis em adultos: prevalência e fatores de risco. *Revista de Saúde Pública*, v.38, n.1, p. 55-62, 2004.

CAVALCANTI, S. M. B.; ZARDO, L. G.; PASSOS, M. R. L.; OLIVEIRA, L. H. S.. Epidemiological aspects of Human papillomavirus infection and cervical cancer in Brazil. *Journal of Infection*, v. 40, p. 80-87, 2000.

CECCHINI, S.; IOSSA, A.; BONARDI, R.; GUSTAVINO, C.; CIATTO, S.. Evaluation of the sensitivity of cervicography in a consecutive colposcopic series. *Tumori*, v. 78, n. 3, p. 211-213, 1992.

CHAIWONGKOT, A.; PIENTONG, C.; EKALAKSANANAN, T.; KONGYINGYONES, B.; THINKHAMROP, J.; YUENYAO, P.; SRIAMPORN, S.. Evaluation of primers and PCR performance on HPV-DNA screening in normal and low grade abnormal cervical cells. *Asian Pacific Journal of cancer prevention*, v. 8, n. 2, p. 279-282, 2007.

DALING, J. R.; MADELEINE, M. M.; JOHNSON, L.G.; SCHWARTZ, S. M.; SHERA, K. A.; WURSCHE, M. A.; CARTE, J. J.; PORTER, P. L.; GALLOWAY, D. A.; McDOUGALL, J. K.; KRIEGER, J. N.. Penile cancer: importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in in situ and invasive disease. *International Journal of Cancer*, v. 116, n. 4, p. 606-616, 2005.

DE RODA HUSMAN, A. M.; WALBOOMERS, J. M.; VAN DEN BRULE, A. J.; MEIJER, C. J.; SNIJDERS, P. J. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *Journal of Genetic Virology*, v. 76, p. 1057-1062, 1995.

DE VILLIERS, E-M.; FAUQUET, C.; BROKER, T. R.; BERNARD, H-U; HAUSEN, H. Z.. Classification of papillomaviruses. *Virology*, v. 324, p. 17-27, 2004

DEAN, A. G.; DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.. **Epi Info, version 6.04: a word processing database and statistics program for epidemiology on microcomputers**. Atlanta: Centre of Disease Control and Prevention, 1997.

DEPUYDT, C. E.; VEREECKEN, A.J.; SALEMBIER, G. M.; VANBRABANT, A. S.; BOELS, L.A.; VAN HERCK, E.; ARBYN, M.; SEGERS, K.; BOGERS, J. J.. Thin-layer liquid-based cervical cytology and PCR for detecting and typing human papillomavirus DNA in Flemish women. *British Journal of Cancer*, v. 88, n. 4, p. 560-566, 2003.



DIAS, E. P.; GOUVEA, A. L. F.; EYER, C. C.. Condyloma acuminatum: its histopathological pattern. *São Paulo Medical Journal*, v. 115, p.1383-9, 1997.

DOOBAR, J.. The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology*, v. 32S, p. 7S-15S, 2005.

DUENSING, S., DUENSING, A., FLORES, E.R., DO, A., LAMBERT, P.F., MUNGER, K.. Centrosome abnormalities and genomic instability by episomal expression of human papillomavirus type 16 in raft cultures of human keratinocytes. *Journal of Virology*, v. 75, n. 7712–7716, 2001.

DUENSING, S., MUNGER, K.. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Research*, v. 62, p. 7075– 7082, 2002.

DUENSING, S., MUNGER, K.. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein can induce abnormal centrosome duplication through a mechanism independent of inactivation of retinoblastoma protein family members. *Journal of Virology*, v. 77, p. 12331–12335, 2003.

DUNNE, E. F.; NIELSON, C. M.; STONE, K.M.; MARKOWITZ, L.E.; GIULIANO, A. R.. Prevalence of HPV infection among men: A systematic review of the literature. *Journal of Infectious Diseases*, v. 194, n. 8, p. 1044-57, 2006.

DUGGAN, M. A.; MCGREGOR, S. E.; STUART, G. C.. The natural history of CIN I lesions. *Europe Journal Gynecologic Oncology*, v. 19, p. 338–44, 1998.

EGGERTSON, L.. Adverse events reported for HPV vaccine. *Canadian medical association journal*, v. 177, n. 10, p. 1169-1170, 2007.

FERENCZY, A.. Epidemiology and clinical pathophysiology of condylomata acuminata. *American Journal Obstetrics & Gynecology*, v.172, n.4, p.1331-1339, 1995.

FERENCZY, A.; FRANCO, E.. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *The Lancet Oncology*, v. 3, p. 11-16, 2002.

FRANCESCHI, S.; CASTELLSAGUE, X.; DAL MASO, L.. Prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Brazilian Journal of Cancer*, v. 86, p. 705-711, 2002.

FREITAS, T. P.; BIANCO DO CARMO, B.; PAULA, F. D. F.; RODRIGUES, L. F.; FERNANDES, A. P. S.; FERNANDES, P. A.. Molecular detection of hpv 16 and 18 in cervical samples of patients from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 49, n. 5, p. 1-5, 2007.

FRIEDLANDER, M. A.; STIER, E.; LIN, O.. Anorectal Cytology as a Screening Tool for Anal Squamous Lesions Cytologic, Anoscopic, and Histologic Correlation. *Cancer & Cancer Cytopathology*, v. 102, n. 1, p. 19-26, 2004.

GARLAND, S. M.; HERNANDES-AVILA, M.; WHEELER, C. M.; PEREZ, G.; HARPER, D. M.; LEODOLTER, S.; TANG, G. W. K.; FERRIS, D. G.; STELVEN, M.; BRYAN, J.; TADDEO, F. J.; RAILKAR, R.; ESSER, M. T.; SINGS, H. L.; NELSON, M.; BOSLEGO, J.; SATTTLER, C.; BARR, E.; KOUTSKY, L. A.. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high grade cervical lesions. *New England Journal of Medicine*, v. 356, n. 19, p.1915-1927, 2007.

GARLAND, S. M.; HERNANDES-AVILA, M.; WHEELER, C. M.; PEREZ, G.; HARPER, D. M.; LEODOLTER, S.; TANG, G. W. K.; FERRIS, D. G.; STELVEN, M.; BRYAN, J.; TADDEO, F. J.; RAILKAR, R.; ESSER, M. T.; SINGS, H. L.; NELSON, M.; BOSLEGO, J.; SATTTLER, C.; BARR, E.; KOUTSKY, L. A.. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *New England Journal of Medicine*, v. 356, n. 19, p.1928-1943, 2007.

GIOVANNELLI, L.; BELLAVIA, C.; CAPRA, G.; MIGLIORE, M. C.; CALECA, M. P.; GIGLIO, M.; PERINO, A.; MATRANGA, D.; AMMATUNA, P.. HPV group- and type-specific concordance in HPV infected sexual couples. *Journal of Medical Virology*, v.79, n. 12, p. 1882-1888, 2007.

GIRALDO, P. C.; GONÇALVES, A. K.; ELEUTÉRIO-JÚNIOR, J.. Secretory immunoglobulin A: A protective factor in the genital mucosa. *Brazilian journal of infectious disease*, v. 10, n. 4, p. 232-234, 2006.

GOLIJOW, C. D.; PEREZ, L. O.; SMITH, J. S.; ABBA, M. C.. Human papillomavirus DNA detection and detection and typing in male urine samples from a high-risk population from Argentina. *Journal Virology Methods*, v. 124, n. 1-2, p. 217-220, 2005.

GOMES, D. H.; BIDOIA, C. C. G. ; IRIE, M. M. T. ; SUZUKI, L. E. ; CONSOLARO, M. E. L. ; KANESHIMA, E. N. Padronização da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para o diagnóstico da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em amostras endocervicais de pacientes portadoras de lesões pré-cancerosas ou cancerosas atendidas no LEPAC/UEM de Maringá-PR. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v. 34, p. 89-93, 2002.

GRCE, M.; HUSNJAK, K.; MAGDIC, L.; ILIJAS, M.; ZLACKI, M.; LEPUSIC, D.; LUKAC, J.; HODEK, B.; GRIZELJ, V.; KURJAK, A.; KUSIC, Z.; PAVELIC, K. Detection and typing of human papillomaviruses by polymerase chain reaction in cervical scrapes of Croatian women with abnormal cytology. *European Journal of Epidemiology*, v. 13, p. 645-651, 1997.

GROSS, G.; PFISTER, H.. Role of human papillomavirus in penile cancer, penile intraepithelial squamous cell neoplasias and in genital warts. *Medical Microbiology & Immunology*, v. 193, p. 35-44, 2004.

GUNTER, J.. Genital and perianal warts: new treatment opportunities for human papillomavirus infection. *American Journal Obstetrics & Gynecology*, v.189, p. 3-11, 2003.

HATCH, K. D.. Clinical appearance and treatment strategies for human papillomavirus: a gynecologic perspective. *American Journal Obstetrics & Gynecology*, v.172, p. 1340-1350, 1995.

HAWS, A. L. F.; HE, Q.; RADY, P. L.; ZHANG, L.; GRADY, J.; HUGHES, T. K.; STISSER, K.; KONIG, R.; TYRING, S. K.. Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5+/6+ primer sets improves detection of HPV DNA in cervical samples. *Journal of Virological Methods*, v. 122, p. 87–93, 2004.

HO, G. Y.; BURK, R. D.; FLEMING, I.; KLEIN, R. S.. Risk of genital human papillomavirus infection in women with human immunodeficiency virus – induced immunosuppression. *International Journal of Cancer*, v. 56, p. 788-792, 1994.

HO, G. Y.; BIERMAN, R.; BEARDSLEY, L.; CHANG, C. J.; BURK, R. D.. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *New England Journal Medicine*, v. 338, p. 423-428, 1998.

HUANG, L. W.; CHAO, S. L.; CHEN, P. H.; CHOU, H.P.. Multiple HPV genotypes in cervical carcinomas: improved DNA detection and typing in archival tissues. *Journal of Clinical Virology*, v. 29, n. 4, p. 271-276, 2004.

HUBBARD, R. A.. Human Papillomavirus testing methods. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, v. 127, p. 940-945, 2003.

HUSNJAK, K.; GRCE, M.; MAGDIĆ, L.; PAVELIĆ, K.. Comparison of five different polymerase chain reaction methods for detection of human papillomavirus in cervical cell specimens. *Journal Virology Methods*, v. 88, n. 2, p.125-34, 2000.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. INCA. *Câncer do colo do útero*. Disponível em: < <http://www.inca.gov.br/estimativa/2008> > . Acesso: Fevereiro, 2008.

IKEMBERG, H.; GISSMANN, L.; GROSS, G.; GRUSSENDORF-COHEN, E. I.; ZUR HAUSEN, H.. Human papillomavirus type-16- related DNA in genital Bowen's disease and in Bowenoid papulosis. *International Journal of Câncer*, v. 32, p.563 – 565, 1983.

JIMÉNEZ, A. L.; GOTLIEB, S. L. D.; HARDY, E.; ZANEVELD, L. J. D.. Prevenção de doenças sexualmente transmissíveis em mulheres: associação com variáveis sócio-econômicas e demográficas. *Caderno de Saúde Pública*, v. 17, n. . 1, p. 55-62, 2001.

JOURA, E. A.; LEODOLTER, S.; HERNANDEZ-AVILA, M.; WHEELER, C. M.; PEREZ, G.; KOUTSKY, L. A.; GARLAND, S. M.; HARPER, D. M.; TANG, G. W. K.; FERRIS, D. G.; STELVEN, M.; JONES, R. W.; BRYAN, J.; TADDEO, F. J.; BAUTISTA, O. M.; ESSER, M. T.; SINGS, H. L.; NELSON, M.; BOSLEGO, J. W.; SATTLER, C.; BARR, E.; PAAVONEN, J.. Efficacy of a quadrivalente prophylatic human papillomavirus (types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like-particle vaccine against high-grade vulval and vaginal lesions: a combined analysis of three randomised clinical trials. *The Lancet*, v. 369, n. 9574, p. 1693-1702, 2007.

KATELARIS, P.; COSSART, Y.; ROSE, B.; THOMPSON, C.; SORICH, E.; NIGHTINGALE, B.; DALLAS, P.; MORRIS, B.. Human papillomavirus: the untreated male reservoir. *Journal Urology*, v. 140, n. 300-305, 1988.

KOLIOPOULOS, G.; ARBYN, M.; MARTIN-HIRSCH, P.; KYRGIU, M.; PRENDIVILLE, W.; PARASKEVAIDIS, E.. Diagnostic accuracy of human papillomavirus testing in primary cervical screening: a systematic review and meta-analysis of non-randomized studies. *Gynecologic Oncology*, v. 104, n. 1, p. 232-46, 2007.

KREBS, H. B.; HELMKAMP, B. F.. Treatment failure of genital condylomata acuminata in women: role of the male sexual partner. *American Journal Obstetrics & Gynecology*, v. 165, p. 337-340, 1991.

KREBS, H. B.; SCHNEIDER, V.. Human papillomavirus associated lesions of the penis: colposcopy, cytology, and histology. *Obstetrics and Gynecology*, v. 70, n. 3, pt. 1, p. 299-304, 1987.

LI, M.; BEARD, P.; ESTESP. A.; LYON, M. K.; GARCEA, L. R.. Intercapsomeric disulfide bonds in papillomavirus assembly and disassembly. *Journal of Virology*, v. 72, p. 2160-2167, 1998.

LONGATTO-FILHO, A.; MAEDA, M. Y.; ERZEN, M.; BRANCA, M.; ROTELI-MARTINS, C.; NAUD, P.; DERCHAIN, S. F.; HAMMES, L.; MATOS, J.; GONTIJO, R.; SARIAN, L. O.; LIMA, T. P.; TATTI, S.; SYRJÄNEN, S.; SYRJÄNEN, K.. Conventional Pap smear and liquid-based cytology as screening tools in low-resource settings in Latin America: experience of the Latin American screening study. *Acta Cytologica*, v. 49, n. 5, p. 500-506, 2005.

LÖWHAGEN, G-B.; BOLMSTEDT, A.; RYD, W.; VOOG, E.. The prevalence of high-risk HPV types in penile condiloma-like lesions: correlation between HPV type and morphology. *Genitourinary medicine*, v. 69, n. 2, p. 87-90, 1993.

MANDAL, D.; HAVE, K. R.; RAY, T. K.; GOORNEY, B. P.; STANBRIDGE, C. M.; CORBITT, G.. Prevalence of occult human papillomavirus infection, determined by cytology and DNA hybridization, in heterosexual men attending a genitourinary medicine clinic. *International Journal of STD & AIDS*, v. 2, n. 5, p. 351-355, 1991.

MAYRAND, M-H.; DUARTE-FRANCO, E.; RODRIGUES, I.; WALTER, S. D.; HANLEY, J.; FERENCZY, A.; RATNAM, S.; COUtlÉE, F.; FRANCO, E. L.. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *New England Journal of Medicine*, v. 357, n. 16, p. 1579-1588, 2007.

NAUCLER, P.; RYD, W.; TORNBERG, S.; STRAND, A.; WADELL, G.; ELFGREN, K.; RADBERG, T.; STRANDER, B.; FORSLUND, O.; HANSSON, B.; RYLANDER, E.; DILLNER, J.. Human Papillomavirus and Papanicolaou Tests to Screen for Cervical Cancer. *New England Journal of Medicine*, v. 357, n. 16, p. 1589-1597, 2007.

NICOLAU, S.M.; MARTINS, N. V.; FERRAZ, P. E.; STAVALE, J. N.; GONÇALVES, W. J.; BARACAT, E. C.; DE LIMA, G. R.. Importance of peniscopy, oncologic cytology and histopathology in the diagnosis of penile infection by human papillomavirus. *São Paulo Medical Journal*, v. 115, n. 1, p. 1330-5, 1997.

NICOLAU, S. M.; CAMARGO, C. G. C.; STÁVALE, J. N.; CASTELO, A.; DÔRS, G. B.; LÖRINCZ, A.; LIMA, G. R.. Human papillomavirus DNA detection in male sexual partners of women with genital human papillomavirus infection. *Urology*, v. 65, n. 2, p. 251-255, 2005.

OSTOR, A. G.. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *International Journal Gynecological Pathology*, v. 12, p. 186–192, 1993.

PAN, Q.; BELINSON, J. L.; LI, L.; PRETORIUS, R. G.; QIAO, Y. L.; ZHANG, W. H.; ZHANG, X.; WU, L. Y.; RONG, S. D.; SUN, Y. T.. A thin-layer, liquid-based pap test for mass screening in an area of China with a high incidence of cervical carcinoma - a cross-sectional, comparative study. *Acta Cytologica*, v. 47, n. 1, p. 45-50, 2003.

PAPACONSTANTINO, H. T.; LEE, A. J.; SIMMANG, C.L.; ASHFAQ, R.; GOKASLAN, S. T.; SOKOL, S.; HUBER, P. J.; GREGORCYK, S. G.. Screening Methods for high-grade dysplasia in patients with anal condyloma. *Journal of Surgical Research*, v. 127, p. 8-13, 2005.

PARTRIDGE, J. M.; KOUTSKY, L. A.. Genital human papillomavirus infection in men. *The Lancet*, v. 6, p. 21-31, 2006

PARTRIDGE, J. M.; HUGHES, J. P.; FENG, Q.; WINER, R. L.; WEAVER, B. A.; XI, L.; STERN, M. E.; LEE, S.; O'REILLY, S. F.; HAWES, S. E.; KIVIAT, N. B.; KOUTSKY, L. A.. Genital Human Papillomavirus Infection in Men: Incidence and Risk Factors in a Cohort of University Students. *Journal Infectious Diseases*, v. 196, p. 1128-1136, 2007.

POTOCNIK, M.; KOCJAN, B. J.; SEME, K.; POLJAK, M.. Distribution of human papillomavirus (HPV) genotypes in genital warts from males in Slovenia. *Acta dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica*, v. 16, n. 3, 2007.

PLUG-DEMAGGIO, A. W.; MCDUGALL, J. K.. The human papillomavirus type 16 E6 oncogene induces premature mitotic chromosome segregation. *Oncogene*, v. 21, p. 7507-7513, 2002.

QU, W.; JIANG, G.; CRUZ, Y.; CHANG, C. J.; HO, G. Y.; KLEIN, R. S.; BURK, R. D. PCR detection of human papillomavirus: comparison between MY09/MY11 and GP5+/GP6+ primer systems. *Clinical Microbiology*, v. 35, n. 6, p. 1304-1310, 1997.

RICHART, R. M.; MASSOOD, S.; SYRJÄNEN, K. J.; VASSILAKOS, P.; KAUFMAN, R. H.; MEISELS, A.; OLSZEWSKI, W. T.; SAKAMOTO, A.; STOLER, M. H.; VOOYS, G. P.; WILBUR, D. C.. Human papillomavirus. International Academy of Cytology Task Force summary. Diagnostic Cytology Towards the 21<sup>st</sup> Century: An International Expert Conference and Tutorial. *Acta Cytologica*, v. 42, n. 1, p. 50-58, 1998.

RIVERA, A.; TYRING, S. K.. Therapy of cutaneous human papillomavirus infections. *Dermatologic Therapy*, v. 17, p. 441-448, 2004.

RIVOIRE, W. A.; CAPP, E.; CARLETA, H. E.; SILVA, I. S. B. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 47, p. 179-184, 2001.

ROSENBLATT, C.; LUCON, A. M.; PEREYRA, E. A. G.; PINOTTI, J. A.; ARAP, S.; RUIZ, C. A.. HPV prevalence among partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *International Journal Gynecology & Obstetrics*, v. 84, p. 156-161, 2004.

RUBIN, M. A.; KLETER, B.; ZHOU, M.; AYALA, G.; CUBILLA, A. L.; QUINT, W. G. V.; PIROG, E. C.. Detection and typing of human papillomavirus DNA in penile carcinoma: Evidence for multiple independent pathways of penile carcinogenesis. *American Journal Pathology*, v. 159, p. 1211-1218, 2001.

RUNOWICZ, C. D.. Molecular screening for cervical cancer – Time to give up Pap tests? *New England Journal of Medicine*, v. 357, n. 16, p. 1650-1652, 2007.

SAIKI, R.K.; GELFAND, D.H.; STOFFEL, S.; SHARF, S.J.; HIGUCHI, R.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; EHRlich, H.A.. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, v. 239, p. 487-491, 1988.

SCHNEIDER, A.; MEINHARDT, G.; DE-VILLIERS, E. M.; GISSMANN, L. Sensitivity of the cytologic diagnosis of cervical condiloma in comparison with HPV-DNA hybridization studies. *Diagnostic Cytopathology*, v. 3, n. 3, p. 250-255, 1987.

SCHIFMAN, M.; CASTLE, P.E.. Human papillomavirus epidemiology and public health. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, v. 127, p. 930-934, 2003.

SENBA, M.; KUMATORI, A.; FUJITA, S.; JUTAVIJITTUM, P.; YOUSUKH, A.; MORIUCHI, T.; NAKAMURA, T.; TORIYAMA, K.. The prevalence of human papillomavirus genotypes in penile cancers from northern Thailand. *Journal of Medicine & Virology*, v. 78, p. 1341-1346, 2006.

SHEW, M. L.; FORTENBERRY, J. D.. HPV Infection in Adolescents: Natural History, Complications, and Indicators for Viral Typing. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, v. 16, p. 168-174, 2005.

SKERLEV, M.; GRCE, M.; SIROTKOVIAE-SKERLEV, M.. Human Papillomavirus Male Genital Infections: Clinical Variations and the Significance of DNA Typing. *Clinics in Dermatology*, v. 20, n. 173–178, 2002.

SOUTHERN, S.A.; LEWIS, M.H.; HERRINGTON, C.S.. Induction of tetrasomy by human papillomavirus type 16 E7 protein is independent of pRb binding and disruption of differentiation. *Braslian Journal of Câncer*, v. 90, p. 1949– 1954, 2004.

STANLEY, M. A.; CHAMBERS, M. A.; COLEMAN N.. The clinical features of genital and perigenital human papillomavirus infection. In: MINDEL, A.. **Genital warts – human papillomavirus infection**. London: Edward Arnold, 1995. p. 252-270.

STOLER, M. H.. The virology of cervical neoplasia: an HPV- associated malignancy. *Cancer*, v. 9, p. 360-367, 2003.

SYRJANEN, K. J.. Spontaneous evolution of intraepithelial lesions according to the grade and type of the implicated human papillomavirus (HPV). *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, v. 65, p. 45–53, 1996.

TEIXEIRA, J. C.; SANTOS, C. C.; DERCHAIN, S. F. M.; ZEFERINO, L. C.. Lesões induzidas por Papilomavírus humano em parceiros de mulheres com neoplasia intra-epitelial do trato genital inferior. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 8, n. 21, p. 431-437, 1999.

TEIXEIRA, J. C.; DERCHAIN, S. F. M.; TEIXEIRA, L. C.; SANTOS, C. C.; PANETTA, K.; ZEFERINO, L. C.. Avaliação do parceiro sexual e risco de recidivas em mulheres tratadas por lesões genitais induzidas pelo papilomavírus humano (HPV). *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 24, p. 315-320, 2002.

THOMISON, J.; THOMAS, L. K.; SHROYER, K. R.. Human papillomavirus: molecular and cytologic/ histologic aspects related to cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. *Human pathology*, v. 39, p. 154-166, 2008.

TIBÚRCIO, E. M. A. C. Estudo da citologia peniana em parceiros de mulheres previamente identificadas como portadoras da infecção pelo Papilomavírus humano. 1998. 95f. (Dissertação de mestrado) - Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Minas Gerais - Belo Horizonte.

TROTTIER, H.; MAHMUD, S.; COSTA, M. C.; SOBRINHO, J. P.; DUARTE-FRANCO, E.; ROHAN, T. E.; FERENCZY, A.; VILLA, L. L.; FRANCO, E. L.. Human Papillomavirus Infections with Multiple Types and Risk of Cervical Neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers*, v. 15, n. 7, 2006.



VON KNEBEL DOEBERITZ, M.. New markers for cervical dysplasia to visualize the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. *European Journal of Cancer*, v. 38, p. 2229-2242, 2002.

WEAVER, B.A.; FENG, Q.; HOLMES, K. K.; STERN, N.; KOUTSKY, L. A.. Evaluation of genital sites and sampling techniques for detection of Human papillomavirus DNA in men. *Journal Infectious Diseases*, v. 189, p. 677-685, 2004.

WERNES, B. A.; LEVINE, A. J.; HOWLEY, P. M.. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science*, v. 248, n. 4951, p. 76-79, 1990.

WIKSTRÖM, A.; POPESCU, C.; FORSLUND, O.. Asymptomatic penile HPV infection: a prospective study. *International Journal STD & AIDS*, v. 11, p. 80-84, 2000.

WILEY, D. J.; DOUGLAS, J.; BEUTNER, K.; COX, T.; FIFE, K.; MOSCICKI, A.; FUKUMOTO, L.. External Genital Warts: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Clinical Infectious Diseases*, v. 35, p. 210-224, 2002

WILKIN, T. J.; PALMER, S.; BRUDNEY, K. F.; CHIASSON, M. A.; WRIGHT, T. C.. Anal intraepithelial neoplasia in heterosexual and homosexual HIV-positive men with access to antiretroviral therapy. *Journal Infectious Disease*, v. 190, n. 9, p. 1685-1691, 2004.

WILSON, V. G.; WEST, M.; WOYTEK, K.; RANGASAMY, D.. Papillomavirus E1 proteins : form, function, and features. *Virus Gene*, v.24, p. 275-290, 2002.

WINER, R. L.; HUGHES, J. P.. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *American Journal Epidemiology*, v.157, p. 218-226, 2003.

WINER, R.L.; HUGHES, J. P.; FENG, Q.; O'REILLY, S.; KIVIAT, N. B.; HOLMES, K. K.; KOUTSKY, L. A.. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *New England Journal of Medicine*, v. 354, n. 25, p. 2645-2654, 2006.

WYSOCKI, W.; KOMOROWSKI, A. L.; KOLODZIEJSKI, L. S.; WYSOCKA, J.. Synchronous anal and penile cancers. *International Journal of Urology*, v. 11, p. 1139-1141, 2004.

YOU, J.; CROYLE, J. L.; NISHIMURA, A.; OZATO, K.; HOWLEY, P.M.. Interaction of the bovine papillomavirus E2 protein with Brd4 tethers the viral DNA to host mitotic chromosomes. *Cell*, v. 117, p. 349-360, 2004.

ZHU, W.Y.; BLAUVELT, A.; GOLDSTEIN, A.; LEONARDI, C.; PENNEYS, N. S.. Detection with the polymerase chain reaction of human papillomavirus DNA in condylomata acuminata treated in vitro with liquid nitrogen, trichloroacetic acid, and podophyllin. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 26, n. 5 (1), p. 710-714, 1992.

## **9 APÊNDICES E ANEXOS**

## **ANEXO 1**

Universidade Federal de Minas Gerais  
*Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP*

**Parecer nº. ETIC 0152/06**

**Interessada: Profa. Ana Paula Salles Moura Fernandes  
Depto. de Análises Clínicas e Toxicológicas  
Faculdade de Farmácia-UFMG**

### **DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 06 de julho de 2006, depois de atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Detecção molecular e citopatológica da infecção por papilomavirus humano em amostras penianas de pacientes atendidos em Serviço Público de Atenção à Saúde de Belo Horizonte-MG**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

  
**Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia**  
**Presidente do COEP/UFMG**

## ANEXO 2

### DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins, a concordância e o interesse dos profissionais do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Sexualmente Transmissíveis da Policlínica da regional Centro/Sul – Prefeitura de Belo Horizonte em participar dos projetos de pesquisa intitulados “Frequência das infecções por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Ureaplasma urealyticum* em pacientes sintomáticas e assintomáticas atendidas em dois serviços públicos de atenção à saúde da mulher de Belo Horizonte-MG” e “Detecção citopatológica e molecular da infecção por Papilomavirus Humano e sua tipagem em amostras penianas de pacientes atendidos em serviço público de atenção à saúde de Belo Horizonte-MG”. Estes projetos serão conduzidos pelos alunos Mateus Muniz Rodrigues e Maria Gabriele Lima Rocha, respectivamente, do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da UFMG, sob a orientação das Professoras Ana Paula S. M. Fernandes e Paula Ávila Fernandes. Ambos os projetos foram submetidos e aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da Prefeitura de Belo Horizonte. Encontram-se, portanto, autorizados os procedimentos de coleta de amostras nos pacientes atendidos neste serviço e que irão participar dos referidos projetos de pesquisa.

Belo Horizonte, 08 de Maio de 2006.

  
**Dra. Magda Vieira dos Santos**

DD. Gerente da Policlínica da regional Centro/ Sul – Prefeitura de Belo Horizonte e Centro de Treinamento e Referência em Doenças Sexualmente Transmissíveis

## ANEXO 3



### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA-SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE BELO HORIZONTE (CEP-SMSA/PBH)

Avaliação de projeto de pesquisa – Protocolo 069/2005

**Projeto:** “Detecção molecular e citopatológica da infecção por papilomavírus humano e sua tipagem em amostras penianas de pacientes atendidos em serviço público de atenção à saúde de BH/MG”


**Nome da Pesquisadora:** Maria Gabrielle Lima Rocha  
**Orientador:** Ana Paula Salles Moura Fernandes

**Instituição onde se realizará a pesquisa:** Faculdade de Farmácia da UFMG

**Parecer:**

O projeto acima referido cumpriu os requisitos da resolução 196/96 da CONEP, tendo sido aprovado na reunião do Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao CEP um ano após início do projeto ou ao final desde, se em prazo inferior a um ano.

  
Celeste de Souza Rodrigues  
Coordenadora do CEP-SMSA/PBH

## **APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

### **DETECÇÃO CITOPATOLÓGICA E MOLECULAR DA INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO E SUA TIPAGEM EM AMOSTRAS PENIANAS DE PACIENTES ATENDIDOS EM SERVIÇO PÚBLICO DE ATENÇÃO À SAÚDE DE BELO HORIZONTE – MG.**

Prezado Senhor,

O senhor está sendo convidado a participar de um estudo que será desenvolvido na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais em parceria com a Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (SMSA – BH) que tem por finalidade estudar a infecção pelo Papilomavírus Humano em lesões penianas.

Para sua participação no estudo, após exame urológico realizado pelo médico, serão colhidas amostras contendo células da pele peniana. O exame não apresenta risco algum à saúde. Nesta coleta, serão utilizados materiais de coleta descartáveis e de boa qualidade.

Os dados clínicos e o material coletado serão usados somente para esta pesquisa, e os resultados serão mantidos em sigilo. Seu nome e sua participação na pesquisa não serão divulgados.

O resultado do seu exame será encaminhado ao médico urologista que tomará as medidas necessárias para seu tratamento, caso seja necessário.

Os exames serão gratuitos e não haverá compensação financeira na sua participação nesta pesquisa.

Sua participação é voluntária. Você tem o direito de se recusar a participar a qualquer momento sem qualquer prejuízo para o seu tratamento.

Caso você tenha alguma dúvida sobre o estudo, poderá contatar as pesquisadoras Dra. Paula Ávila Fernandes e/ou Dra. Ana Paula Salles Moura Fernandes, pelo telefone 3499-6884 ou 3499-6879, na Faculdade de Farmácia da UFMG, bloco 3, 4º andar, salas 4090 e 4116 ou o Comitê de ética em pesquisa – COEP, Prédio da Reitoria, 7º andar, sala 7018, telefone 3499 4592, ambos localizados na Av. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha. Poderá ainda contatar o Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde, localizado na Av. Afonso Pena nº 2336, 9º andar, ou pelo telefone 3277-8222.

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim descrevendo o estudo: Detecção citopatológica e molecular da infecção por Papilomavirus humano e sua tipagem em amostras penianas de pacientes atendidos em serviço público de atenção à saúde de Belo Horizonte – MG e estou de acordo em participar desta pesquisa.

---

Assinatura da paciente/representante legal

Data

---

Assinatura da testemunha

Data

---

Assinatura do Aplicador do questionário: Maria Gabrielle de L. Rocha    Data:



## APÊNDICE 2 - PROTOCOLO DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E PENISCÓPICOS

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

Telefone: \_\_\_\_\_ Número de registro: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade \_\_\_\_\_

**Visita** ( ) 1ª visita

( ) retorno

Motivo da visita: ( ) presença de lesão

( ) parceira HPV +

**Idade:** ( ) 18-30 anos

( ) 31-60 anos

( ) > 60 anos

**Escolaridade:** ( ) fundamental

( ) médio

( ) superior

**Profissão:** \_\_\_\_\_

### COMPORTAMENTO SEXUAL:

Heterossexual ( ) Homossexual ( ) Bissexual ( )

Parceiro fixo (+ de 6 meses)? Sim ( ) Não ( )

Número de parceiros no último ano: \_\_\_\_\_

Idade da primeira relação sexual: \_\_\_\_\_

Uso de camisinha: Nunca ( )

Às vezes ( )

Sempre ( )

Sempre, exceto com a parceira fixa ( )

Freqüência sexual: 1 vez por semana ( )

1-4 vezes por semana ( )

5-7 vezes por semana ( )

mais de 7 vezes por semana ( )

Sexo anal: Sim ( ) Com parceira fixa ( )  
Com parceira extra conjugal ( )  
Não ( )

**FUMANTE:** Sim ( ) Não ( )

**COLETA (amostras para citologia e PCR):**

- 1 - Com condiloma ( )
- 2 – Sem lesão macroscopicamente aparente ( )

Locais de coleta: Prepúcio ( )  
Glânde ( )  
Meato uretral ( )  
Região anal/ perianal ( )  
Escroto ( )  
Outra \_\_\_\_\_

**CLÍNICA:**

**Data da consulta:** \_\_\_\_\_

**Peniscopia:** - Lesões acetobranças ( )

Localização das lesões: Corpo peniano ( )  
Prepúcio ( )  
Glânde ( )  
Escroto ( )  
Região anal / perianal ( )

- Outros achados associados a outras DSTs: Sim ( ) Não ( )

Suspeita Clínica de: Sífilis ( )

Cancro mole ( )

Herpes simples ( )

Outra(s)? Qual(s)? \_\_\_\_\_

**Circuncisão:** Sim ( ) Não ( )

## APÊNDICE 3 - PROTOCOLO DOS DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS

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

Número de registro: \_\_\_\_\_

### EXAMES REALIZADOS:

HIV                    positivo ( )   negativo ( )      Data: \_\_\_\_\_

Sífilis                positivo ( )   negativo ( )      Data: \_\_\_\_\_

Biópsia: Diagnóstico histopatológico : \_\_\_\_\_

Local da lesão/ sítio da coleta: \_\_\_\_\_

Exame citológico (coletado no PAM e realizado na faculdade de Farmácia):

Diagnóstico citológico: \_\_\_\_\_

PCR (amostra coletada no PAM e realizado na faculdade de Farmácia):

HPV   positivo ( )   negativo ( )

Tipo viral: \_\_\_\_\_

### POSSÍVES DADOS SOBRE A PARCEIRA:

Diagnóstico (exame realizado no PAM): \_\_\_\_\_

Método: \_\_\_\_\_      Local da lesão: \_\_\_\_\_

PCR (amostra coletada no PAM e realizado na faculdade de Farmácia):

HPV   positivo ( )   negativo ( )

Tipo viral: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE 4 – DADOS INDIVIDUAIS

### LEGENDA

**Grupo C:** grupo de pacientes com condiloma acuminado

**Grupo P:** grupo de pacientes assintomáticos com parceiras HPV-positivas

**Pós podofilina:** pacientes os quais foram submetidos à coleta de material durante o retorno do tratamento com podofilina. O material foi colhido depois de 7-10 dias após a aplicação do medicamento.

**Recidiva:** pacientes submetidos ao tratamento (podofilina e/ou eletrocauterização) e que retornaram ao CTDST devido ao retorno do condiloma acuminado.

**Virgem:** pacientes com ou sem sinais que nunca se submeteram ao tratamento para HPV ou pacientes que já se submeteram ao tratamento que apresentaram recidiva no mínimo, há 1 ano após a intervenção.

#### **Uso de camisinha:**

Sempre

Nunca

Às vezes: usam às vezes, seja com parceira fixa ou não

Sempre, exceto parceira: sempre usaram camisinha, mas deixam de usar quando a parceira se torna fixa

#### **Citologia:**

C – coilocitose

CL – coilocitose leve

DL – disceratose leve

GC – grânulos citoplasmáticos

HN – hiperchromatismo nuclear

Bi/Mu – Bi ou Multinucleação

HP – halo perinuclear

CC – clareamento citoplasmático

CF – condensação de filamentos

CLF – células fusiformes.

Pacientes	HPV Geral	HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 33	HPV 45	HPV 6/11	Múltiplas Infecções (nº)	Grupo	Parceira (nº)	1ª visita/retorno
1	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
2	-	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C	503	retorno
3	-	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
4	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
5	+	+	-	-	-	-	-	Não	C		retorno
6	+	-	-	-	-	-	+	Não	P		1ª visita
7	-	-	+	-	-	-	-	Não	C		retorno
8	-	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
9	+	-	-	-	-	-	+	Não	P		1ª visita
10	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
11	-	-	-	-	-	-	-	Não	P	501	1ª visita
12	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		retorno
13	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
14	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
15	+	-	-	-	-	-	+	Não	P		1ª visita
16	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
17	+	+	-	-	-	-	-	Não	C		retorno
18	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
19	-	-	-	-	-	-	-	Não	P		1ª visita
20	+	-	-	+	-	-	+	Sim (2)	P		1ª visita
21	+	-	-	-	-	-	+	Não	C	502	retorno
22	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
24	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
25	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
26	+	-	-	+	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
27	+	-	-	+	-	+	+	Sim (3)	C		1ª visita
28	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
29	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
30	+	-	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		retorno
31	+	+	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
32	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
33	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
34	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
35	-	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	P		1ª visita
36	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno

Pacientes	Idade	Escolaridade	Comportamento Sexual	Tratamento	Parceiro fixo	Nº parceiros último ano	Idade 1ª relação
1	18-30	superior	hetero	pós-podo	Sim	1	13
2	18-30	médio	hetero	pós-podo	Não	40	12
3	18-30	médio	hetero	recidiva - 1 mês e 18 dias	Sim	3	15
4	18-30	fundamental	hetero	virgem	Não	3	16
5	18-30	médio	hetero	recidiva - 1 mês e 7 dias	Sim	3	14
6	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	4	14
7	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	16
8	18-30	médio	hetero	recidiva - 1 mês e 15 dias	Não	20	16
9	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	17
10	18-30	médio	hetero	virgem	Não	1	24
11	31-60	fundamental	hetero	pós-podo	Sim	1	16
12	31-60	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	12
13	18-30	fundamental	hetero	pós-podo	Sim	8	15
14	31-60	médio	hetero	pós-podo	Não	5	19
15	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	15
16	31-60	fundamental	hetero	recidiva - 3 meses	Sim	4	17
17	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	14
18	18-30	superior	hetero	recidiva - 1 mês e 15 dias	Sim	2	14
19	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	12
20	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	2	14
21	31-60	médio	hetero	pós-podo	Sim	2	16
22	18-30	médio	hetero	pós-podo	Sim	2	17
24	31-60	médio	hetero	recidiva - 2 meses e 3 dias	Não	3	14
25	31-60	fundamental	hetero	pós-podo	Sim	10	16
26	18-30	médio	hetero	pós-podo	Sim	4	18
27	18-30	médio	hetero	recidiva - 1 mês	Não	3	17
28	31-60	fundamental	hetero	virgem	Não	15	21
29	31-60	fundamental	hetero	pós-podo	Sim	2	12
30	18-30	médio	hetero	pós-podo	Sim	1	17
31	18-30	médio	homo	virgem	Não	4	18
32	18-30	superior	hetero	pós-podo	Sim	3	18
33	18-30	fundamental	hetero	pós-podo	Não	4	15
34	18-30	médio	hetero	pós-podo	Não	3	15
35	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	18
36	31-60	médio	hetero	virgem	Não	2	17

Pacientes	Uso de camisinha	Frequência sexual	Sexo anal	Fumante	Local da lesão	Citologia	DSTs	Circuncisão
1	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Sim	Não	prepúcio, glânde	-	Não	Não
2	às vezes	> 7	Sim	Sim	prepúcio	DL	Não	Não
3	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	DL, Bi/Mul	Não	Não
4	sempre	1 a 4	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
5	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
6	às vezes	1 a 4	Sim	Sim	sem lesão	-	Não	Não
7	às vezes	> 7	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
8	às vezes	1 a 4	Sim	Sim	prepúcio	Bi/Mul	Não	Não
9	às vezes	1 a 4	Não	Não	sem lesão	Bi/Mul	Não	Não
10	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	DL	Não	Não
11	às vezes	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
12	às vezes	1 a 4	Sim	Sim	prepúcio	-	Não	Não
13	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
14	sempre, exceto parceira fixa	5 a 7	Não	Não	corpo	-	Não	Não
15	às vezes	> 7	Sim	Não	sem lesão	-	Não	Não
16	às vezes	1	Sim	Sim	prepúcio interno	-	Não	Sim
17	às vezes	1 a 4	Não	Sim	prepúcio	CL	Não	Não
18	às vezes	1 a 4	Sim	Não	prepúcio	-	Não	Não
19	às vezes	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
20	às vezes	1	Não	Sim	sem lesão	CL, Bi/Mul	Não	Não
21	às vezes	1 a 4	Sim	Não	glânde	-	Não	Não
22	nunca	5 a 7	Sim	Não	prepúcio	CL, Bi/Mul	Não	Não
24	às vezes	5 a 7	Não	Sim	prepúcio	-	Não	Não
25	sempre	1 a 4	Sim	Sim	prepúcio	-	Não	Não
26	às vezes	1	Sim	Não	prepúcio	-	Não	Não
27	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
28	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
29	às vezes	1 a 4	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
30	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
31	às vezes	> 7	Sim	Não	ânus	-	Não	Não
32	às vezes	> 7	Sim	Não	prepúcio	-	Não	Não
33	às vezes	> 7	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
34	sempre, exceto parceira fixa	5 a 7	Sim	Sim	prepúcio	CL	Não	Não
35	às vezes	1	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
36	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Sim	prepúcio	-	Não	Não

Pacientes	HPV Geral	HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 33	HPV 45	HPV 6/11	Múltiplas Infecções (nº)	Grupo	Parceira (nº)	1ª visita/retorno
37	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
38	-	-	-	-	-	-	+	Não	P		1ª visita
39	-	-	+	-	-	-	-	Não	P		1ª visita
40	-	-	-	-	-	-	-	Não	P		1ª visita
41	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
43	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
44	+	-	+	-	-	-	-	Não	C		retorno
45	-	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
46	-	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
47	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
48	+	+	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
49	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
50	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
51	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		1ª visita
52	+	+	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
53	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
54	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		1ª visita
55	-	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
56	+	-	+	-	-	-	-	Não	P		retorno
57	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	P		1ª visita
58	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		1ª visita
59	-	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	P		1ª visita
60	+	-	-	-	-	-	+	Não	P		1ª visita
61	+	-	-	-	+	-	+	Sim (2)	C		retorno
62	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		1ª visita
63	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		1ª visita
65	+	+	+	+	-	-	+	Sim (4)	C		1ª visita
66	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
67	+	+	+	+	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
68	+	+	+	+	+	-	+	Sim (5)	C		1ª visita
69	+	+	+	-	-	-	+	Sim (4)	C		1ª visita
70	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		1ª visita
71	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C		retorno
72	-	-	+	+	-	-	+	Sim (4)	C		1ª visita
73	+	-	+	+	-	-	+	Não	P		1ª visita
								Sim (3)	C		1ª visita



Pacientes	Idade	Escolaridade	Comportamento Sexual	Tratamento	Parceiro fixo	Nº parceiros último ano	Idade 1ª relação
37	18-30	fundamental	hetero	recidiva - 1 mês e 4 dias	Não	1	15
38	18-30	superior	hetero	virgem	Sim	1	16
39	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	14
40	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	18
41	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	2	14
43	18-30	fundamental	hetero	recidiva - 1 mês	Sim	1	14
44	18-30	médio	hetero	recidiva - 27 dias	Não	15	13
45	31-60	fundamental	hetero	pós-podo	Não	50	20
46	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	3	18
47	18-30	fundamental	hetero	pós-podo	Sim	1	15
48	31-60	fundamental	hetero	virgem	Sim	2	14
49	18-30	médio	hetero	virgem	Não	2	17
50	31-60	médio	hetero	virgem	Não	20	16
51	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	2	16
52	31-60	fundamental	hetero	virgem	Sim	2	20
53	>60	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	18
54	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	13
55	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	15
56	31-60	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	18
57	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	2	17
58	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	17
59	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	15
60	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	17
61	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	3	15
62	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	5	16
63	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	17
65	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	3	16
66	18-30	médio	hetero	recidiva - 3 meses	Não	30	15
67	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	7	14
68	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	16
69	18-30	médio	hetero	virgem	Não	2	14
70	31-60	médio	hetero	recidiva - 3 meses	Sim	1	19
71	18-30	fundamental	hetero	virgem	Não	2	14
72	31-60	superior	hetero	virgem	Sim	1	17
73	18-30	médio	hetero	virgem	Não	5	15

Pacientes	Uso de camisinha	Frequência sexual	Sexo anal	Fumante	Local da lesão	Citologia	DSTs	Circuncisão
37	sempre, exceto parceira fixa	1	Não	Não	sem lesão	-	Não	Sim
38	sempre, exceto parceira fixa	1	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
39	sempre	> 7	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
40	às vezes	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
41	sempre, exceto parceira fixa	> 7	Sim	Não	prepúcio	-	Não	Não
43	sempre, exceto parceira fixa	5 a 7	Não	Não	prepúcio	Bi/ Mul, HP	Sim	Sim
44	às vezes	1 a 4	Sim	Sim	prepúcio, glânde	-	Não	Não
45	sempre	5 a 7	Não	Não	prepúcio, glânde	-	Não	Não
46	sempre, exceto parceira fixa	5 a 7	Não	Não	prepúcio, glânde	-	Não	Não
47	sempre, exceto parceira fixa	1	Não	Não	prepúcio, glânde	-	Não	Não
48	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Sim	Sim	glande	-	Não	Não
49	sempre, exceto parceira fixa	1	Não	Não	corpo, ânus	-	Não	Não
50	sempre	5 a 7	Sim	Sim	prepúcio	-	Não	Não
51	sempre, exceto parceira fixa	> 7	Sim	Sim	corpo	-	Não	Não
52	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Sim	meato	C, HN, HP	Não	Não
53	nunca	1 a 4	Não	Não	barriga	-	Não	Não
54	às vezes	1 a 4	Sim	Sim	corpo	-	Não	Não
55	sempre, exceto parceira fixa	5 a 7	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
56	sempre, exceto parceira fixa	1	Sim	Não	prepúcio	-	Não	Não
57	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	sem lesão	GC	Não	Não
58	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
59	às vezes	1	Sim	Não	prepúcio, corpo	-	Não	Não
60	às vezes	1 a 4	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
61	sempre	1 a 4	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Sim
62	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Sim	prepúcio, glânde, escroto	-	Sim	Não
63	nunca	> 7	Não	Sim	prepúcio	-	Não	Não
65	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Sim	Sim	corpo	-	Não	Não
66	sempre, exceto parceira fixa	> 7	Sim	Não	prepúcio	-	Não	Não
67	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	HP	Sim	Não
68	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Sim	Não	prepúcio	CC	Não	Não
69	sempre, exceto parceira fixa	5 a 7	Não	Sim	prepúcio	DL	Não	Não
70	sempre	1 a 4	Sim	Não	corpo	-	Não	Não
71	às vezes	1 a 4	Não	Sim	pubi	-	Não	Não
72	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Sim	prepúcio	CL, HN, Bi/Mul, HP, CC	Não	Não
73	sempre	1	Sim	Não	sem lesão	-	Não	Não
					virília	-	Não	Não

Pacientes	HPV Geral	HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 33	HPV 45	HPV 6/11	Múltiplas Infecções (n°)	Grupo	Parceira (n°)	1ª visita/retorno
74	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	C	506	1ª visita
75	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
76	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	P		1ª visita
77	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		retorno
78	-	+	-	-	+	-	+	Sim (3)	C		1ª visita
79	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C		1ª visita
80	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	P	504	1ª visita
81	-	+	-	-	-	-	-	Não	P	507	1ª visita
82	-	+	-	-	-	-	-	Não	P	508	1ª visita
83	+	-	-	+	+	-	-	Sim (2)	P	519	1ª visita
84	+	-	-	+	-	-	+	Sim (2)	P		1ª visita
85	-	+	-	-	-	-	-	Não	P		1ª visita
86	-	-	-	-	-	-	+	Não	P	505	1ª visita
87	+	-	-	-	-	-	+	Não	C		retorno
88	+	+	-	-	-	-	-	Não	P	509	1ª visita
89	+	-	+	-	-	-	-	Não	P	510	1ª visita
90	-	-	-	-	-	-	-	Não	P		1ª visita
91	+	-	-	+	-	-	+	Sim (2)	P		1ª visita
92	-	+	-	+	-	-	-	Sim (2)	P		1ª visita
93	-	+	-	-	-	-	-	Não	P	512	1ª visita
94	+	-	-	-	-	-	-	Não	P	513	1ª visita
95	+	-	-	+	-	-	-	Não	P	514	1ª visita
96	-	+	+	+	-	-	-	Sim (3)	P	515	1ª visita
97	-	+	+	+	-	+	+	Sim (5)	P	517	1ª visita
98	+	-	-	+	-	-	+	Sim (2)	P	518	1ª visita
99	+	-	-	-	-	-	-	Não	P	520	1ª visita
100	+	-	-	-	-	-	+	Não	P	521	1ª visita
101	-	-	-	-	-	-	-	Não	P	523	1ª visita
102	+	+	-	+	+	-	+	Sim (4)	P	524	1ª visita
103	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	P	525	1ª visita
104	+	+	-	+	-	-	+	Sim (3)	P	526	1ª visita
105	-	-	+	+	-	-	-	Sim (2)	P	527	1ª visita
106	-	+	-	-	-	-	-	Não	P	528	1ª visita
107	-	-	-	-	-	-	-	Não	P	529	1ª visita

Pacientes	Idade	Escolaridade	Comportamento Sexual	Tratamento	Parceiro fixo	Nº parceiros último ano	Idade 1ª relação
74	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	15	15
75	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	2	15
76	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	13
77	18-30	médio	hetero	recidiva - 3 meses	Sim	1	15
78	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	18
79	18-30	fundamental	hetero	virgem	Não	30	12
80	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	16
81	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	18
82	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	14
83	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	13
84	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	6	21
85	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	16
86	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	18
87	18-30	fundamental	hetero	recidiva - 6 meses	Sim	1	15
88	31-60	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	17
89	31-60	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	12
90	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	3	14
91	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	3	14
92	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	10
93	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	15
94	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	16
95	18-30		hetero	virgem	Sim	1	15
96	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	3	16
97	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	2	15
98	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	13
99	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	20
100	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	16
101	31-60	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	5
102	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	17
103	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	12
104	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	13
105	18-30	fundamental	hetero	virgem	Sim	1	13
106	18-30	médio	hetero	virgem	Sim	1	13
107	31-60	médio	hetero	virgem	Sim	1	14

Pacientes	Uso de camisinha	Frequência sexual	Sexo anal	Fumante	Local da lesão	Citologia	DSTs	Circuncisão
74	sempre, exceto parceira fixa	5 a 7	Sim	Não	pubi	-	Não	Não
75	sempre, exceto parceira fixa	1	Não	Não	prepúcio	-	Não	Não
76	às vezes	5 a 7	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
77	às vezes	1 a 4	Não	Não	prepúcio	CC	Não	Não
78	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	pubi	-	Não	Não
79	às vezes	1	Sim	Sim	prepúcio	-	Não	Não
80	sempre	1	Não	Não	sem lesão	CC	Não	Não
81	nunca	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
82	sempre, exceto parceira fixa	1	Não	Não	sem lesão	B/ Mul	Não	Não
83	nunca	1 a 4	Sim	Sim	sem lesão	-	Não	Não
84	às vezes	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
85	nunca	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
86	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
87	às vezes	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
88	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	corpo, prepúcio, pubi	-	Não	Não
89	às vezes	1	Não	Não	sem lesão	DL, GC	Não	Não
90	nunca	5 a 7	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
91	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
92	às vezes	1 a 4	Sim	Não	sem lesão	HP	Não	Não
93	nunca	1 a 4	Sim	Sim	sem lesão	-	Não	Não
94	sempre	1 a 4	Não	Não	sem lesão	GC	Não	Não
95	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Sim
96	sempre	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Sim
97	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Sim	Sim	sem lesão	-	Não	Não
98	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
99	sempre	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
100	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
101	nunca	1	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
102	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Sim	sem lesão	-	Não	Não
103	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	sem lesão	DL, CL, HN, CC	Não	Não
104	sempre, exceto parceira fixa	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
105	às vezes	1	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
106	sempre	1 a 4	Não	Não	sem lesão	-	Não	Não
107	às vezes	1 a 4	Não	Não	sem lesão	CC	Não	Não

Pacientes	HPV Geral	HPV 16	HPV 18	HPV 31	HPV 33	HPV 45	HPV 6/11	Múltiplas Infecções (nº)	Grupo	Parceiro (nº)
501	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C	11
502	+	-	-	+	-	-	+	Sim (2)	P	21
503	+	-	-	-	+	-	+	Sim (2)	C	2
504	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	P	80
505	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	P	86
506	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	C	74
507	+	-	-	-	-	+	+	Sim (2)	P	81
508	+	-	+	-	-	-	-	Não	P	82
509	+	+	-	-	-	-	-	Não	P	88
510	+	-	+	+	-	-	+	Sim (3)	P	89
512	+	+	+	-	-	-	-	Sim (2)	P	92
513	+	+	-	+	-	-	-	Sim (2)	P	93
514	+	-	-	-	-	-	+	Não	P	94
515	+	-	-	-	-	-	+	Não	P	96
517	+	+	-	-	-	-	-	Não	P	97
518	+	+	+	-	-	-	-	Sim (2)	P	98
519	+	-	+	+	-	-	+	Sim (3)	P	83
520	+	+	-	-	-	-	+	Sim (2)	P	99
521	+	+	-	-	-	-	-	Não	P	100
523	-	+	-	-	-	-	-	Não	P	101
524	+	+	+	-	-	-	+	Sim (3)	P	102
525	+	-	+	-	-	-	+	Sim (2)	P	103
526	+	+	-	-	-	-	-	Não	P	104
527	+	+	+	-	+	-	-	Sim (3)	P	105
528	+	+	+	-	+	-	-	Sim (3)	P	106
529	+	-	+	-	-	-	-	Não	P	107