

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
NÚCLEO DE DOENÇAS INFECCIOSAS**

Neide Aparecida Tosato Boldrini

**Prevalência de lesões precursoras de câncer de colo uterino e
fatores associados em mulheres atendidas em Hospital
Universitário, Vitória- ES.**

Vitória, ES

2012

Neide Aparecida Tosato Boldrini

**Prevalência de lesões precursoras de câncer de colo uterino e
fatores de risco associados em mulheres atendidas em
Hospital Universitário, Vitória- ES.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Doenças infecciosas do Centro de Ciências da Saúde, da universidade Federal do Espírito Santo, como pré-requisito para obtenção do Título de mestre em Doenças Infecciosas.

Orientadora: Prof.^a Angélica Espinosa Miranda.

Co orientadora: Prof.^a Liliana Cruz Spano

Vitória, ES

2012




UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

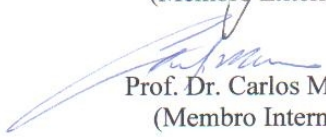
PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

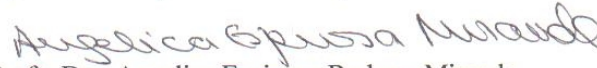
A mestranda NEIDE APARECIDA TOSATO BOLDRINI apresentou dissertação intitulada **“Prevalência de lesões precursoras do câncer do colo uterino e fatores associados em mulheres atendidas em Hospital Universitário, Vitória-ES”** em sessão pública, no dia 04 de abril de 2012, como requisito final para obtenção do título de **Mestre em Doenças Infecciosas**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.


Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora da Dissertação decidiu (X) **aprovar** () **reprovar** a dissertação para habilitar a médica NEIDE APARECIDA TOSATO BOLDRINI a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 04 de abril de 2012


Prof. Dr. Gutemberg Leão de Almeida Filho
(Membro Externo)


Prof. Dr. Carlos Musso
(Membro Interno)


Prof. Dra. Angelica Espinosa Barbosa Miranda
(Orientadora)


Prof. Dra. Liliana Cruz Spano
Co-Orientadora

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Boldrini, Neide Aparecida Tosato, 1964-B687p

B687p Prevalência de lesões precursoras de câncer de colo uterino e fatores associados em mulheres atendidas em Hospital Universitário, Vitória-ES / Neide Aparecida Tosato Boldrini. – 2012.

73 f. : il.

Orientador: Angélica Espinosa Miranda.

Coorientador: Liliana Cruz Spano.

Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Câncer. 2. Papilomavírus. 3. Câncer - Fatores de risco. 4. Colposcopia. 5. Biologia molecular. I. Miranda, Angélica Espinosa Barbosa. II. Spano, Liliana Cruz. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

No meio de qualquer dificuldade, encontra-se a oportunidade

(Albert Einstein).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por essa oportunidade.

Ao meu marido Edmilson e meu filho Vítor pelo incentivo, inspiração e compreensão.

Aos meus pais Antonio (in memoriam) e Maria de Lourdes pelo amor, carinho e confiança a mim dedicados.

A toda minha família e amigos pelo apoio e por compartilhar momentos felizes tornando essa etapa muito especial na minha vida.

A todos os professores da UFES pela valiosa contribuição na minha formação profissional e pessoal.

A todos professores, funcionários e alunos do NDI que me instruíram, ajudaram e compartilharam momentos de aprendizado no curso do mestrado.

A todos os funcionários do HUCAM em especial as técnicas de enfermagem Queli e Luciana pelo apoio e incentivo ao projeto.

Aos professores Dr. Gutemberg Leão Almeida Filho (Instituto Moncorvo Filho-UFRJ) e Dr. Carlos Musso (NDI-UFES) por participarem da banca examinadora.

Ao serviço de patologia do HUCAM em especial ao Dr. Paulo Roberto Merçon de Vargas que confeccionou as lâminas de citopatológicos e histopatológicos fornecendo os resultados em tempo hábil para divulgação dos dados, apesar das dificuldades.

A todas as pacientes que participaram gentilmente desse projeto e que o tornaram possível.

À FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo), por financiar este trabalho.

A Luciana Bueno de Freitas, pela disponibilidade e importante participação no trabalho com a leitura dos resultados biomoleculares.

Aos colegas médicos, residentes e internos por me auxiliarem sempre que necessário e reconhecerem a importância do projeto para o serviço.

Aos meus coordenadores Dr. Justino Mameri Filho da divisão de toco-ginecologia do HUCAM e Marta Colle Alves do CR DSTAIDS pela flexibilização de horários de trabalho que possibilitou minha participação nas aulas do mestrado.

Em especial as minhas orientadoras Dr^a. Angélica Espinosa Miranda e Dr^a. Liliana Cruz Spano pelo apoio, incentivo e dedicação a esse projeto.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Histórico.....	03
2.2. Agente etiológico.....	03
2.3. Estrutura viral.....	04
2.4. Patogênese.....	06
2.5. Epidemiologia do HPV e do câncer do colo uterino.....	07
2.6. Manifestações clínicas.....	10
2.7. Diagnóstico.....	11
2.8. Tratamento.....	18
2.9. Profilaxia e vacinação.....	29
3. OBJETIVOS.....	25
3.1. Objetivos gerais.....	25
3.2. Objetivos específicos	25
4. METODOLOGIA.....	26
4.1. População	26
4.2. Cálculo do tamanho da amostra.....	26
4.3. Procedimentos	27
4.4. Seguimentos e resultados	29
4.5. Análise estatística.....	29
4.6. Aspectos éticos.....	30
5. RESULTADOS.....	31
6. DISCUSSÃO.....	40
7. CONCLUSÕES.....	47
8. PERSPECTIVAS.....	48
9. REFERÊNCIAS.....	49
10. APÊNDICE.....	63
10.1: Classificação Cito-histopatológica.....	63
10.2: Classificação Colposcópica da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia, Rio de Janeiro 2011.....	64

10.3: Classificação FIGO 2009	65
10.4: Classificação Colposcópica da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia, Barcelona 2002.....	66
11. ANEXOS.....	69
11.1: Questionário.....	69
11. 2: Protocolo de aprovação no comitê de ética:.....	72

Lista de Siglas e abreviaturas

ABPTGIC	Associação Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia
ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
AGC	<i>Atypical Glandular Cells</i> (Atipias em células glandulares)
AIDS	<i>Acquired Immune Deficiency</i> (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
AIS	Adenocarcinoma in situ
ASC-H	<i>Atypical squamous cells cannot rule out a high grade lesion</i> (Atipias em células escamosas, não podendo afastar lesão de alto grau)
ASC-US	<i>Atypical Squamous cells of Undetermined Significance</i> (Atipias de significado indeterminado em células escamosas, Não neoplásicas)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAF	Cirurgia de alta frequência
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CH	Captura de Híbridos
DIQ	Distância entre Quartis
DNA	Ácido desoxi-ribonucléico
DST	Doenças sexualmente transmissíveis.
EZT	Exérese de zona de transformação
EMEA	<i>European Medicine Agency</i> (Agência Europeia de Medicamentos)
FDA	<i>Food and Drugs administration</i> (Controle de medicamentos e alimentos)
FEBRASGO	Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
G3	Grupo 3
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (Vírus da Imunodeficiência Adquirida Humana)
HPV	Human Papillomavirus (Papilomavírus humano).
HSIL	High-grade Squamous Intraepithelial (Lesão Intraepitelial escamosa de alto grau).
HUCAM	Hospital Universitário Cassiano Antonio de Moraes

IARC	International Agency for Research on cancer (Agência Internacional de Pesquisa do câncer).
IFCPC	<i>International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy</i> (Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia)
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JEC	Junção escamocolunar
LSIL	Low-grade Squamous Intraepithelial (Lesão Intraepitelial de baixo grau)
MS	Ministério da Saúde
NCI	<i>National Cancer Institute</i> (Instituto Nacional do Cancer, órgão Internacional)
NDI	Núcleo de Doenças Infecciosas
NIA	Neoplasia Intra- epitelial anal
NIC	Neoplasia Intraepitelial cervical
NIVA	Neoplasia Intraepitelial vaginal
NIV	Neoplasia Intraepitelial vulvar
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
PPSUS	Programa de Pesquisa do Sistema Único de Saúde
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> (Análise de polimorfismos de sequência de restrição).
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
VLP	<i>Virus-like particles</i> (partículas semelhantes ao vírus).
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial de Saúde)

Lista de Figuras

Figura 1. Árvore filogenética dos papillomavirus os gêneros e seus respectivos tipos de HPV.....	04
Figura 2. Ilustração da estrutura viral do HPV.....	05
Figura 3. Representação esquemática do genoma circular do HPV 1.....	06
Figura 4. Representação esquemática das células basais do epitélio e a infecção pelo HPV.....	07
Figura 5. Cortes de biópsia de cérvix uterina.....	15
Figura 6. Opções de tratamento de acordo com estadiamento clínico do câncer de colo uterino.....	22
Figura 7. Distribuição dos resultados citopatológicos do colo uterino.....	31

Lista de Tabelas

Tabela 1: Dados demográficos das pacientes atendidas no ambulatório de patologia cervical do HUCAM.....	32
Tabela 2: Dados comportamentais das pacientes atendidas no ambulatório de patologia cervical do HUCAM.....	33
Tabela 3: Dados clínicos das pacientes atendidas no ambulatório de patologia cervical do HUCAM.....	34
Tabela 4: Associação entre o resultado da citologia oncológica e da colposcopia.....	35
Tabela 5: Correlação entre o resultado da citologia e do exame histopatológico das biópsias do colo uterino.....	37
Tabela 6: Tipos de HPV detectados por PCR, distribuídos de acordo com o resultado da citologia.....	39

RESUMO

Introdução: O câncer cervical de células escamosas se desenvolve a partir de lesões pré-cancerosas bem definidas, que podem progredir para doença invasiva, se não forem precocemente diagnosticadas e tratadas.

Objetivos: Determinar a prevalência e os fatores associados para lesões de alto grau (HSIL) e câncer de colo uterino em mulheres atendidas em Hospital Universitário de Vitória, ES.

Métodos: Estudo de corte-transversal conduzido em mulheres de 18 a 59 anos que foram referenciadas para o ambulatório de patologia cervical em 2011. As mulheres foram convidadas a participar do estudo e responderam a uma entrevista contendo dados demográficos, epidemiológicos e clínicos. Após a entrevista foram submetidas ao exame ginecológico para coleta de espécime para citologia cervical, para detecção de HPV e *Chlamydia trachomatis* por teste de Captura Híbrida, pesquisa de DNA de HPV pela técnica de PCR e exame colposcópico. Os casos que apresentaram lesões cervicais na citologia e colposcopia foram confirmados pelo exame histopatológico.

Resultados: um total de 291 mulheres participaram do estudo. A mediana de idade foi de 38 anos (DIQ: 30- 48 anos); 74 (25,4%) tinham até quatro anos de estudo, 178 (61,2%) eram casadas e em 83 (28,5%) a renda familiar era de até três salários mínimos. Quando se considerou o resultado histopatológico, a prevalência de HSIL/câncer cervical foi de 18,2% (IC95%:13,8%-22,6%), sendo 48 (16,5%) casos de lesão de alto grau (NIC II,NIC III\ca *in situ*) e 5 (1,7%) casos de carcinoma invasor. Cento e oito mulheres (37,1%) eram fumantes, 11 (3,8%) informaram usar drogas ilícitas; 38 (13,1%) tiveram o primeiro coito antes dos 15 anos; 221 (75,9%) tiveram mais de um parceiro na vida; 20 (6,9%) tiveram mais de um parceiro nos últimos 12 meses; 220 (75,6%) relataram não usar preservativos; 90 (30,2%) referiram ter pratica de sexual anal; 46 (15,8%) DST prévia. No modelo final de regressão logística, ter idade entre 30-49 anos [OR=4,4 (IC95%:1,01-19,04); história de tabagismo [OR=2,43 (IC95% 1,14-5,18)]; a prática de coito anal [OR=2,35 (IC95% 1,10-5,03)] e ter teste de captura híbrida para HPV de alto risco positivo [OR=11,23 (IC95% 4,79-26,36)] permaneceram independentemente associados à lesão de alto grau/câncer cervical.

Conclusões: Os resultados mostram alta prevalência de lesões precursoras de carcinoma cervical e alta prevalência de HPV de alto risco. O HPV mais prevalente foi o HPV 16, seguido do HPV 31. Os fatores de risco associados à HSIL/carcinoma foram ter idade entre 30 e 49 anos, ser tabagista, relatar prática de coito anal e ter resultado positivo para HPV de alto risco. O estudo enfatiza a importância das estratégias de prevenção e assistência para o controle do câncer cervical.

Palavras-chaves: Câncer; Papilomavírus; Câncer- fatores de risco; Colposcopia; Biologia Molecular.

ABSTRACT

Introduction: The squamous cell cervical cancer develops from precancerous lesions well defined which can progress to invasive disease if not earlier diagnosed and treated.

Objectives: To determine the prevalence and factors associated with high-grade lesions and cervical cancer among women treated at University Hospital in Vitoria, ES.

Methods: A cross-section conducted in women 18-59 years who were referred for outpatient cervical pathology in 2011. Women were invited to participate and were interviewed for collecting demographics, epidemiological and clinical data. After the interview, they were submitted to gynecological examination to collect specimens for cervical cytology, *Chlamydia trachomatis* and HPV Hybrid Capture tests, and HPV DNA detection by PCR and colposcopic examination. The patients with cervical lesions at cytology and colposcopy were confirmed by histopathology.

Results: A total of 291 women participated in the study. The median age was 38 years (DIQ: 30 - 48 years), 74 (25.4%) had completed four years of schooling; 178 (61.2%) were married and 83 (28.5%) had monthly family income up to three minimum wages. When considering histopathological results, the prevalence of high-grade lesions/cervical cancer was 18.2% (95% CI: 13.8% -22.6%), being 48 (16.5%) cases of high-grade lesions (CIN II, CIN III\ca in situ) and 5 (1.7%) cases of invasive carcinoma. One hundred and eight women (37.1%) were smokers; 11 (3.8%) reported using illicit drugs; 38 (13.1%) reported their first sexual intercourse before age 15; 221 (75.9%) had more than one partner in life; 20 (6.9%) had more than one partner in the last 12 months; 220 (75.6%) reported not using condoms; 90 (30.2%) reported anal sex practice; 46 (15.8%) reported previous STD. In the final logistic regression model, age between 30-49 years [OR = 4.4 (95%:1.01-19.04), history of smoking [OR = 2.43 (95% CI 1.14 to 5 , 18)], practice of anal intercourse [OR = 2.35 (95% CI 1.10 to 5.03)] and have a positive hybrid capture test for high risk HPV positive [OR = 11.23 (95% 4 0.79 to 26, 36)] remained independently associated with high-grade lesion/cervical cancer.

Conclusions: The results show high prevalence of precursor lesions of cervical cancer and high prevalence of high risk HPV. The most prevalent HPV was HPV 16 followed by HPV 31. Associated risk factors for HSIL/carcinoma were age between 30-49 years, history of smoking, practice of anal sex and have a positive hybrid capture test for high risk HPV positive. The study emphasizes the importance of prevention and care strategies for the control of cervical cancer.

Key words: Cancer; Papillomavirus; Cancer- risk factors; Molecular Biology.

1. INTRODUÇÃO

A cada ano são diagnosticados no mundo, aproximadamente, 500.000 novos casos de câncer cervical, com 275.000 mortes associadas a esse tipo de câncer (WHO, 2011). O impacto do câncer de colo uterino é maior em relação aos outros tipos de câncer por afetar mulheres de 30 a 60 anos, quando estão no auge da produtividade. (Franco e Harper, 2005) Nos países desenvolvidos, os programas de triagem que utilizam o exame Papanicolaou reduziram as taxas de câncer em 75%. Nos países em desenvolvimento onde a cobertura dos programas de triagem é precária há uma alta incidência de câncer do colo uterino e representa 80% dos óbitos decorrentes desse câncer no mundo (Mohan & Ind 2004).

A infecção pelo Papilomavírus humanos (HPV) é considerada causa necessária para o desenvolvimento do carcinoma do colo uterino, o segundo câncer mais comum do mundo. O advento das técnicas de Biologia Molecular permitiu uma melhor compreensão da biologia desses vírus. Mais de 40 tipos de HPV infectam o trato ano genital humano, e são classificados conforme o risco de desenvolvimento de câncer cervical como: de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82); de provável alto risco (26, 53, 66); de baixo risco (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108) e de risco indeterminado para o câncer cervical (34, 57, 83); baseado em dados de estudos casos-controle que associam câncer cervical e infecção por HPV em vários países (IARC, 1995; Muñoz et al, 2003).

Globalmente, o HPV é a infecção sexualmente transmissível (IST) mais comum, apesar de haver uma variabilidade regional significativa na prevalência do HPV, mesmo em regiões bem próximas, resultado das diferenças nos padrões sexuais e culturais. Estima-se que a cada ano, mais de seis milhões de pessoas sejam infectadas por HPV genital e que mais de 50% dos adultos sexualmente ativos já foram infectados por um ou mais tipos de HPV em algum momento da vida. A infecção por HPV pode causar lesões Intraepiteliais e câncer de anus, vulva, vagina e pênis, além de lesões verrucosas e tumores

benignos na genitália, laringe, pele e cavidade oral (Zur Hausen,1996; Koustky, 2004).

Vários estudos têm associado o aumento na taxa de infecção do vírus HPV a fatores de risco como: número de parceiros sexuais, fumo, uso de contraceptivos orais, co-infecções, paridade, imunidade e outros fatores clínicos e comportamentais, indicando que o vírus HPV é causa necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento de lesões de pré- câncer e câncer invasivo (Burk et al 1996; Berumen et al, 2001; Franceschi et al, 2002).

Devido à alta morbidade e mortalidade associadas ao câncer de colo uterino, estudos de epidemiologia e biologia molecular tem dado grande atenção ao HPV, com objetivo de entender melhor a patogenicidade e infectividade desse vírus. O desenvolvimento de métodos diagnósticos confiáveis e o monitoramento epidemiológico em determinadas populações, pode ser útil em estudos de taxonomia e de evolução desses vírus e, assim estabelecer terapias mais adequadas para as infecções e lesões associadas (de Boer et al. 2005; Chaturved et al. 2005).

Conhecer a variabilidade de subtipos de HPV que causam as lesões cervicais na região da grande Vitória pode fornecer informações relevantes para a estratégia de controle do câncer do colo uterino e avaliar e fornecer informações de variedades genótípicas dessa região geográfica, melhorando a eficácia das vacinas de HPV. Outros estudos realizados no Brasil mostraram que a prevalência de genótipos do HPV pode variar bastante nas diferentes regiões (Lorenzato et al, 2000; Noronha et al, 2000; Camara et al, 2003). A condução de estudos em nossa região pode auxiliar na compreensão da dinâmica envolvida nas co-infecções e nos fatores de risco para o câncer de colo uterino.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

Entre os anos 70 e 80 surgiram as primeiras evidências da provável associação entre o HPV e o câncer do colo uterino. As técnicas recém-desenvolvidas da Biologia Molecular permitiram a detecção de diversos tipos de HPV em lesões de câncer de colo uterino lesões precursoras, iniciando estágio de grande expansão da pesquisa com o Vírus HPV (Gissman e Zur Hausen, 1980).

Em 1992, a infecção por HPV foi reconhecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como a principal causa de câncer cervical (Chawl & Broker 1997) e em 1995 a *International Agency for Research on Cancer* (IARC) estabeleceu o HPV como doença sexualmente transmissível (DST) responsável pelo câncer cervical e lesões precursoras, e reuniu dados relevantes para categorizar os tipos 16 e 18 como carcinogênicos humanos. Já no final da década de 90 foi descrito a presença do HPV em aproximadamente 100% dos casos de câncer do colo uterino (Muñoz, 2000).

2.2. Agente etiológico

A infecção pelo HPV é considerada causa necessária para o desenvolvimento do carcinoma cervical. Mais de 40 tipos de HPV infectam o trato genital humano, e são classificados conforme risco de desenvolvimento de câncer cervical como: de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73,82); de provável alto risco (26, 53,66); de baixo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72,81, cp 6108) e de risco indeterminado (34, 57, 83); baseado em dados de estudo casos-controle que associam câncer cervical e infecção por HPV em vários países (Muñoz et al; 2003).

O vírus HPV pertence à família *Papillomaviridae*, sendo que, os que infectam preferencialmente a mucosa oral ou ano-genital pertencem ao gênero

Alphapapillomavirus e os que infectam, preferencialmente a pele, pertencem aos gêneros *Bethapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Nupapapillomavirus*, e *Mupapapillomavirus* (Falquet et al, 2005). Os HPV são classificados em mais de 100 genótipos, sendo nomeados pela abreviação HPV seguida de um número que é dado quando os tipos são descobertos. Os HPV são classificados com base em suas propriedades genômicas e não sorológicas, devido à dificuldade de se estabelecer um sistema de cultura de células para esse vírus (Bernard et al. 1994; LANL, 1997). Conforme critérios adotados pelo comitê de nomenclatura dos papilomavírus, uma diferença maior que 10% na região L1 do genoma, permite a classificação em um tipo diferente de HPV (de Villiers et al, 2004). Na Figura 1 estão demonstrados os gêneros e seus respectivos tipos de HPV.

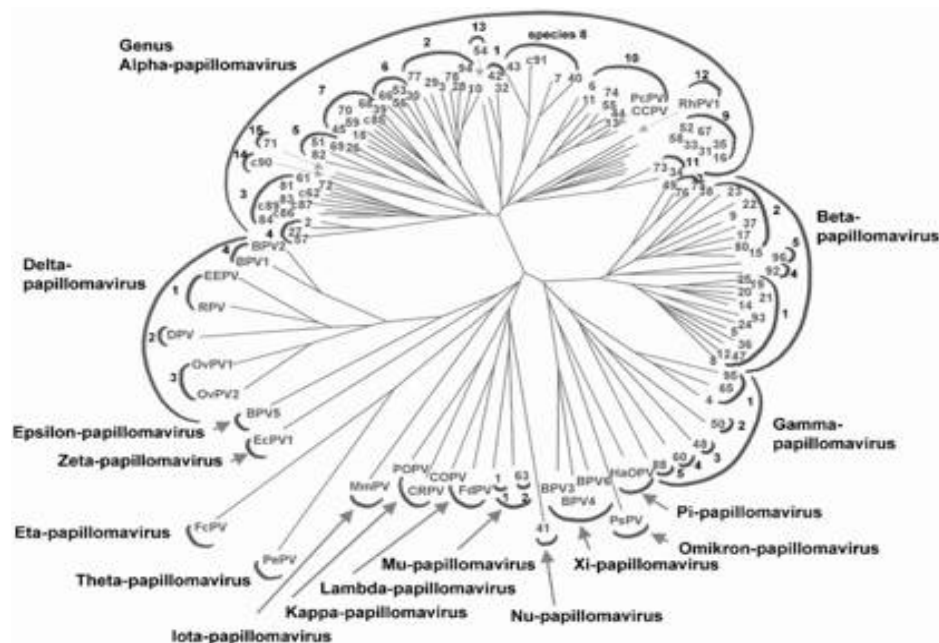


Figura 1.Árvore filogenética dos papillomavirus, os gêneros e seus respectivos tipos de HPV. Fonte:de Villiers et al,2004.

2.3. Estrutura viral

Os HPV são vírus não envelopados com 55 nm de diâmetro, capsídeo de simetria icosaédrica e formado por duas proteínas diferentes L1 e L2.

(Figura 2). Seu genoma é formado por DNA circular de dupla fita, com aproximadamente 8.000 pares de bases. (Gissmann & Zur Hausen, 1976; Howley & Lowy, 2007).

Apesar de existirem diversos genótipos de HPV, a estrutura básica do genoma é comum entre eles. Todas as regiões abertas de leitura (ORFs- Open Reading Frames) estão localizadas em uma mesma fita de DNA. O genoma do HPV apresenta três regiões bem definidas: (i) a região da fase precoce do ciclo de replicação viral (*E-early*), que codifica as proteínas não estruturais E1, E2, E4, E5, E6, E7; a região da fase tardia (*L-late*), responsável pela síntese das proteínas do capsídeo L1 e L2, e a região reguladora não codificadora, LCR (*long control region*) (Sterling & Tyring, 2001). Figura 3.

A expressão das proteínas virais é fortemente regulada e dependente da diferenciação celular (Laimins, 1996). As proteínas E são expressas precocemente no ciclo replicativo do HPV, enquanto nas lesões malignas (neoplasias Intraepiteliais de alto grau e carcinoma) são expressas em maior quantidade as proteínas E6 e E7 (Syrjanem & Syrjanem, 2000).

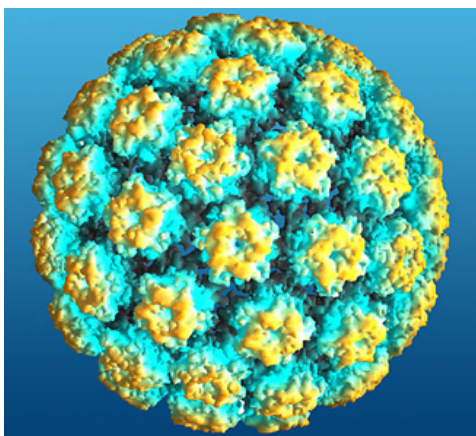


Figura 2 : Ilustração da estrutura viral. Fonte: Howley, 1996

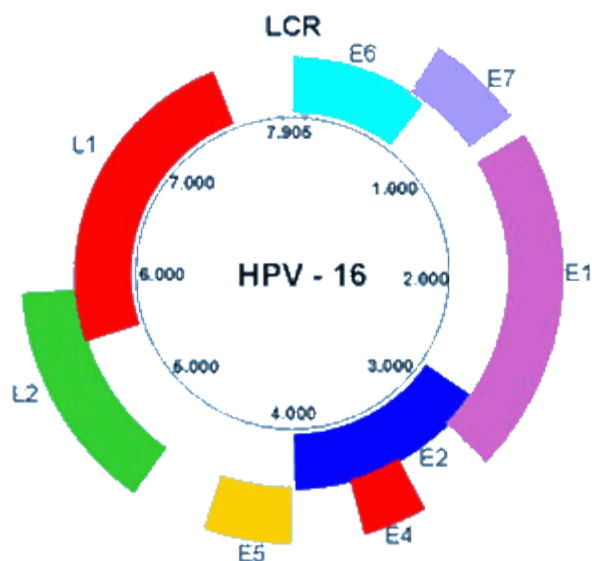


Figura 3 - Representação esquemática do genoma circular do HPV 16. Os genes precoces (E), tardios (L) e a região regulatória (LCR) estão indicados. Fonte: Extraída de Villa, 1997.

2.4 Patogênese

As células infectadas pelo HPV são as células basais do epitélio. Para que haja a infecção pelo HPV é necessário que o epitélio sofra micro traumas para exposição das células basais que ocorrem na pele ou mucosa por contato direto, como resultado, por exemplo, de atividade sexual (Scheineider, 1994; Stubenrauch & Laimins, 1999). Nestas células a expressão genética viral é bastante suprimida, entretanto a limitada expressão das proteínas virais específicas precoces (E5, E6 e E7) resulta em um aumento da proliferação de células infectadas. Em seguida em células das camadas supra basal, a expressão viral tardia (L1 e L2) é iniciada, o genoma viral replicado e a estrutura protéica formada. Nas camadas superiores da epiderme ou mucosa, partículas virais completas são montadas e liberadas. Integração do DNA do HPV ao genoma das células hospedeiras é considerada um importante passo na progressão maligna. Após a infecção, o vírus entra em um período de latência antes do início da formação de tumores (Sterling & Tyring; 2001) (Figura 4).

O sistema imunológico é importante no controle da infecção pelo HPV. Isso pode ser deduzido indiretamente pelo aumento da incidência e a

persistência prolongada de lesões Intraepiteliais cervicais em mulheres imunossuprimidas (Petry,1994). Há também evidências de células T *helper* envolvidos em regressão de lesões e uma concomitante detecção de anticorpos e resposta imune celular contra antígenos de HPV durante o curso da regressão (Zur Hausen, 2002).

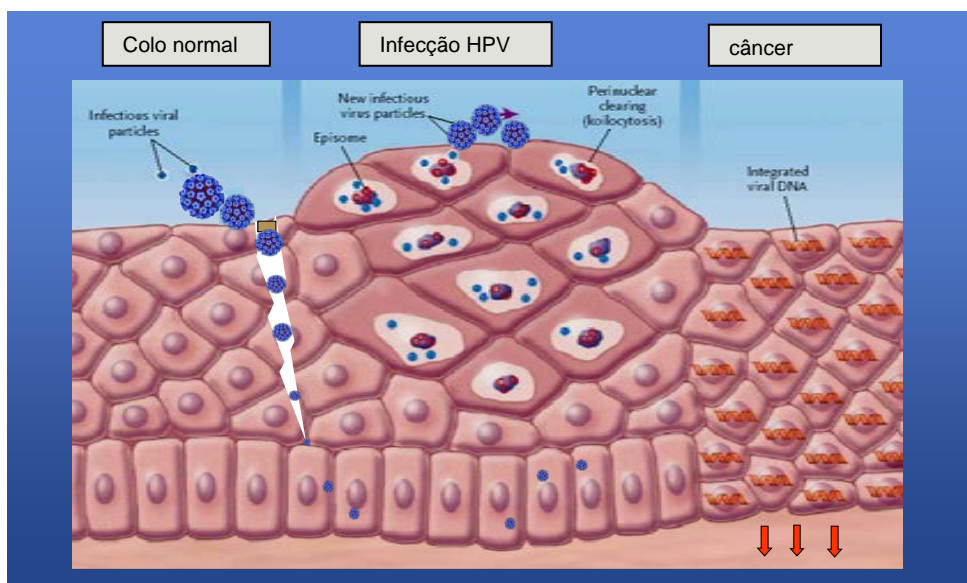


Figura 4: Representação esquemática das células basais do epitélio e a infecção pelo HPV. Adaptado de Goodman & Wilbur.

2.5. Epidemiologia do HPV e do câncer cervical

Estudo epidemiológico sobre a prevalência do HPV no câncer cervical revelou que, dentre os genótipos de HPV encontrados no trato genital, o HPV 16 é o responsável por 50 a 60% de todos os casos desse tipo de câncer, na maioria dos países, seguido pelo HPV 18 (10 a 20%), HPV 45 (4 a 8%) e HPV 31 (1 a 5%). Os cinco genótipos mais comuns de HPV nesse estudo foram: 16, 18, 45, 31 e 33, que são encontrados em 80% dos carcinomas e em 94% dos adenocarcinomas (Bosch et al, 2006). Os genótipos 6, 11 e 42 do HPV estão associados, principalmente, à verrugas, sendo que 90% delas são causadas pelo 6 e 11 (Greer et al, 1995).

Variações geográficas na prevalência dos genótipos de HPV são observadas (Carvalho et al, 2005). A infecção por HPV precede o

desenvolvimento das neoplasias Intraepiteliais cervicais e o HPV está envolvido em aproximadamente 100% dos casos de infecção cervical. A infecção por HPV também está associada a outros tipos de lesões. Aproximadamente 85% dos cânceres anais, 40% dos cânceres de vulva, 70% dos cânceres de vagina e 50% de pênis, 35% do câncer de orofaringe 10% do câncer de laringe e 23% dos cânceres orais. (Paavonen et al, 2000; Clark & Chetty, 2002; Boulet et al, 2008; de Vyst et al, 2009; WHO, 2009).

Estudos de prevalência de HPV em diversas populações em todo mundo tem mostrado grande variação nas taxas de positividade. Em geral, a prevalência é maior em mulheres jovens, quando comparadas com mulheres com mais de 30 anos. A maioria das infecções por HPV em mulheres jovens tem resolução espontânea, em um período aproximado de 24 meses (Molijn et al, 2005). Estudos internacionais em várias regiões tem mostrado um pico de prevalência de infecção por HPV em mulheres com menos de 25 anos, uma diminuição entre mulheres de 35 a 54 anos e um segundo pico após 55 anos (Herrero et al, 2000).

Os fatores de risco para infecção por HPV, identificados em diversos estudos transversais e de coorte incluem o número de parceiros sexuais (ao longo da vida e recentes) (Burk et al, 1996; Winer et al, 2003), idade da primeira relação sexual, fumo (Winkelstein, 1977; Wang et al, 2003), uso de contraceptivos orais (Stone et al, 2002), outras infecções transmitidas sexualmente (*Chlamydia trachomatis*, herpes vírus, etc.) (Smith et al, 2002; Sanjosé et al, 1994). No entanto, as associações desses fatores com o desenvolvimento de câncer cervical parecem não ser causais e sim circunstanciais, uma vez que aumentam a probabilidade de infecção por HPV (Trotier & Franco, 2006).

A infecção persistente por genótipos oncogênicos de HPV está associada ao maior risco de desenvolver lesão persistente e progredir para lesões precursoras do câncer cervical, infecções persistentes associadas à alta carga viral são consideradas fatores de risco para a ocorrência de lesões cervicais persistentes (Xi et al, 2007). A resposta imunológica é um fator

importante no desenvolvimento do câncer cervical, uma vez que mulheres infectadas com HIV tem uma probabilidade, aproximadamente quatro vezes maior de serem infectadas por HPV e maior probabilidade de se tornarem persistentes (Del Mistro & Bianchi,2001) . Fatores genéticos também podem constituir um risco para desenvolvimento de neoplasia. As moléculas de MHC de classe II, que apresentam peptídeos antigênicos às células T CD4+, parecem estar envolvidas na susceptibilidade genética ao desenvolvimento de câncer cervical (Maciag & Villa,1999).

O câncer cervical é a segunda causa de morte por câncer em mulheres de todo mundo. Em muitos países em desenvolvimento, ainda é a principal causa de morte por câncer em mulheres. As regiões consideradas de alto risco são África oriental e ocidental (taxas de incidência superiores a 30 por 100 mil/habitantes), África do Sul (26,8 por 100 mil/habitantes), sul da Ásia Central (24,6 por 100 mil/habitantes), América do Sul (23,9 por 100 mil/habitantes). Os valores são considerados mais baixos na Ásia Ocidental, América do Norte, Austrália e Nova Zelândia (inferiores a seis por 100 mil). (WHO, 2011). Altas taxas anuais de incidência de câncer são relatadas no Brasil. Foi estimado o surgimento de 18.430 casos novos em 2010, com risco estimado de 18 casos em cada 100 mil mulheres. No Espírito Santo, para o ano de 2010, estimou-se uma incidência de 23,78 casos novos de câncer de colo de útero (INCA, 2011). Sua maior incidência se dá em mulheres entre 45 e 49 anos de idade e estima-se que o rastreamento populacional precoce e sistemático e o tratamento das lesões precursoras possam reduzir a mortalidade em até 80%.

O câncer de colo uterino é uma doença de evolução lenta, dessa forma o período de evolução de uma lesão inicial para a forma invasora é de aproximadamente 20 anos. Esse período relativamente longo permite ações preventivas eficientes que podem evitar o quadro evolutivo da doença.

De acordo com o NCI (*National Cancer Institute*), o câncer de colo uterino é o segundo mais comum em mulheres no mundo sendo responsável anualmente por 500 mil casos novos e pelo óbito de 230 mil mulheres por ano. Em países desenvolvidos, a sobrevida média estimada em cinco anos varia de

51 a 66%. Nos países em desenvolvimento, os casos são encontrados em estádios relativamente mais avançados e, conseqüentemente, a sobrevivência é menor, cerca de 41% após cinco anos. A média mundial estimada é de 49% (WHO, 2011).

2.6 Manifestações clínicas

A infecção por HPV pode-se apresentar de diversas formas, desde completamente assintomática e inaparente até forma clínica exacerbada. Quando a infecção é assintomática ela pode ser demonstrada apenas pela detecção do DNA viral (Astori et al, 1998), pois o HPV também pode estabelecer um estado de latência clínica (IARC, 2007).

Os principais diagnósticos de lesões induzidas pelo HPV são feitos no colo de útero, mas outros locais são importantes, como vagina, vulva e ânus. A Neoplasia Intraepitelial Vaginal (NIVA) é causada principalmente pelo HPV, mas também pode surgir com a radioterapia feita para tratamento do câncer de colo uterino. Os fatores de risco da NIVA já são conhecidos há 20 anos e incluem: citologia prévia alterada; história de verrugas genitais, histerectomia precoce; neoplasia cervical; supressão imunológica e radioterapia prévia. Corresponde a 0,5 a 1% de todas as neoplasias Intraepiteliais, apresentando incidência de 0,2 a 0,3 \100.000 mulheres e a média etária de acometimento é de 50 anos (variação de 19 a 86 anos). Ao exame clínico são observadas lesões planas e avermelhadas nas pregas vaginais, ou mesmo lesões mais elevadas e à colposcopia, evidenciam-se lesões acetobranças planas e sobrelevadas (Brinton et al,1990).

A Neoplasia Intraepitelial Vulvar (NIV), é uma doença heterogênea e pode ser causada em 84% dos casos pelo HPV, especialmente em mulheres jovens (NIV escamosa tipo usual), com possibilidade de lesões disseminadas de vulva. Muitos casos de NIV representam casos de lesões multicêntricas do trato genital inferior, a incidência da NIV aumentou nos últimos 20 anos (1992 a 2005) nos Estados Unidos e Holanda. A incidência de NIV usual praticamente dobrou neste período, enquanto que a do câncer escamoso de vulva permaneceu a mesma. As lesões da NIV são em geral, multicêntrica,

multifocais e com elevada taxa de recorrência, ao exame mostram-se frequentemente esbranquiçadas, amarronzadas e avermelhadas, com bordas demarcadas, podendo ser planas ou um pouco sobrelevadas. Podem ser observadas apenas pápulas pigmentadas em mulheres jovens, que podem regredir espontaneamente. As lesões podem ser sutis ou formar placas confluentes difíceis de tratar. As taxas de recorrências da NIV são elevadas. A NIV pode progredir para o câncer. Uma revisão sistemática mostrou que 3,2% das mulheres apresentam carcinoma oculto no momento do diagnóstico da NIV. As verrugas genitais também causam impacto sobre a qualidade de vida. Os efeitos são de longo prazo e as mulheres acometidas tem preocupação com a recorrência, medo de câncer anogenital, diminuição da função sexual, vulnerabilidade psicológica e ansiedade (Herod et al,1996; Jones & Rowan, 2000; Van Seters, 2005; Van de Nieuwenhof, 2009).

2.7. Diagnóstico

O diagnóstico clínico laboratorial é realizado com o objetivo de rastrear o câncer de colo uterino detectando lesões precursoras e prevenindo o câncer invasor com tratamento de mulheres com neoplasias intraepiteliais cervicais graus dois e três.

2.7.1. Exame citopatológico do colo uterino

O resultado da citologia é a primeira informação de que o médico dispõe sobre a existência de uma possível enfermidade cervical. (Cuschieri & Cubie, 2005). Portanto, a realização periódica do exame citopatológico do colo uterino continua sendo a estratégia mais adotada para o rastreamento do câncer do colo uterino (WHO, 2010). O exame citopatológico do útero ou Papanicolaou reduz a incidência do câncer do colo uterino ao permitir a detecção e o tratamento das neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) e do adenocarcinoma in situ (AIS) antes do desenvolvimento do câncer invasivo. Usando a Finlândia como um país que com grande eficiência dos programas de testes de Papanicolaou, o câncer de colo do útero diminuiu 75% ao longo dos últimos 60 anos (Registro de Câncer finlandês, 2010), principalmente porque pelo menos

70% da população participa desse rastreamento. (Quinn et al, 1999; Peto et al, 2004). O Papanicolaou baseia-se na coloração de células epiteliais obtidas da cérvix, na expectativa de que anormalidades nucleares detectáveis sejam representativas de lesões subjacentes definidas histologicamente. A citologia de base líquida é uma técnica alternativa ao teste de Papanicolaou, na qual as células coletadas no colo uterino, ao invés de serem dispostas em lâminas de vidro, são transferidas na própria lâmina de coleta, para um frasco contendo um líquido fixador que é processado no laboratório de citopatologia para obtenção final de um esfregaço em camada única de células, dispostas de maneira uniforme. Está relacionada a uma melhora na qualidade do material e oferece a possibilidade de associação de métodos citológicos e moleculares na mesma amostra (Pinto et al, 2005). Todavia, metanálise conduzida por Arbyn e colaboradores (2008) em estudos controlados, demonstrou ser essa técnica, além de mais cara, não é mais sensível ou mais específica do que a citologia convencional, quando se considerou a detecção de NIC II ou lesão mais grave confirmada pela histologia (Arbyn et al, 2008).

No Brasil, os laudos citológicos cervicais são classificados da seguinte forma (Apêndice 1): Normal: i) Dentro dos padrões de normalidade, no material examinado) ou ii) alterações celulares benignas (reativas ou reparativas). Dentre as alterações benignas, inclui-se inflamação, reparação, metaplasia escamosa imatura, atrofia com inflamação e radiação. (As atipias celulares subdividem-se em: i) células atípicas de significado indeterminado, possivelmente não neoplásicas (ASC-US); ii) células escamosas atípicas, quando não se pode excluir lesão de alto grau (ASC-H); iii) Atipias escamosas, glandulares (AGC) ou de origem indefinida. Quando as lesões ocorrem em células escamosas se dividem em: i) Lesão Intraepitelial de baixo grau (LSIL); ii) Lesão Intraepitelial de alto grau (HSIL); iii) lesão Intraepitelial de alto grau não podendo excluir micro invasão ou carcinoma epidermóide invasor; iv) adenocarcinoma in situ (AIS) e v) Adenocarcinoma invasor. (<http://www.portalsbc.com.br/documentos/nomenclaturalaudos.pdf>).

Em diferentes estudos transversais, o exame citopatológico tem mostrado grande variação na sensibilidade e especificidade na detecção de lesões NIC II

e NIC III, a sensibilidade variou de 31% a 78% e a especificidade variou de 91 a 96% (Sankaranarayanan, 2004)

2.7.2 Colposcopia

A colposcopia permite a visualização das lesões subclínicas do HPV e conseqüentemente, de avaliação da evolução dessas lesões que podem evoluir de pré invasoras a invasoras, possibilitando condutas mais conservadoras das lesões HPV induzidas, além de ser um método de orientação do local a ser realizado a biópsia permitindo que o diagnóstico definitivo seja feito através da histopatologia (Gross & Barrasso, 1999).

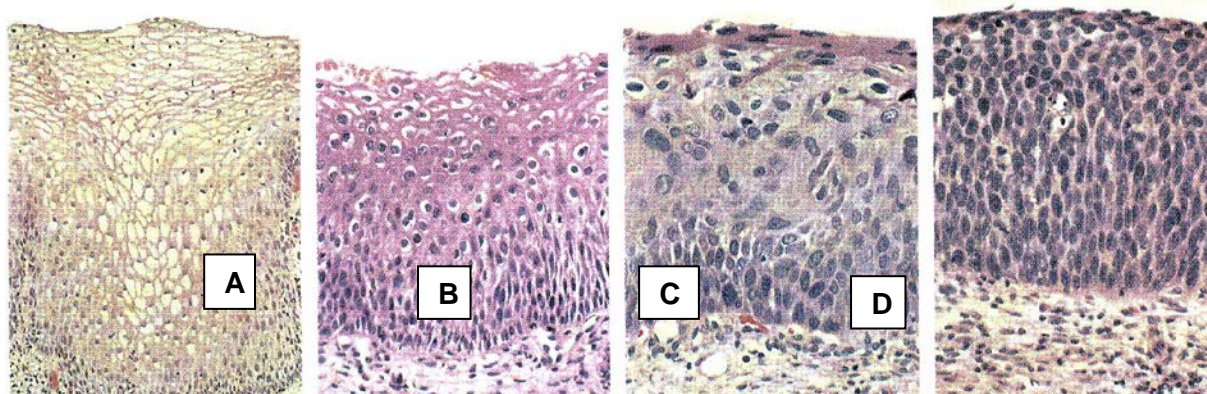
Técnica: Indica-se para um bom exame, um colposcópico binocular com capacidade de ampliação de no mínimo 10 a 15 vezes, é importante também um filtro verde móvel para uma boa distinção de alterações epiteliais e vasculares do colo de útero, deve-se utilizar soro fisiológico para remoção de muco e fluidos vaginais e na sequência utilizar ácido acético de 2 a 5% e aguardar seu efeito adequado até três minutos para a inspeção. Após essa imbrocação, o epitélio cilíndrico apresenta-se como “cachos de uvas” levemente esbranquiçados, enquanto o epitélio metaplásico cora-se de branco, coloração de grande importância na caracterização de atipias. O efeito e o mecanismo do ácido acético parecem estar relacionados com a coagulação das citoqueratinas existentes no citoplasma das células. O diagnóstico colposcópico das alterações pré neoplásicas ou neoplásicas cervicais se baseia no reconhecimento das seguintes características: tonalidade e intensidade do acetobranqueamento, margens e contorno superficial das áreas acetobranças, padrão vascular e da coloração do iodo. A maioria dos índices de gradação colposcópica leva em conta essas características. (Walker et al, 2003). A Nomenclatura colposcópica recomendada pela Associação Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia (ABPTGIC) é a de Rio de Janeiro 2011 (Apêndice 2). Disponível em: <http://www.colposcopy.org.br>

Indicações do exame colposcópico: Colpocitologias alteradas: lesão intraepitelial de baixo grau e alterações de células escamosas de significado

indeterminado em dois exames consecutivos, com intervalo de seis meses, alterações em células glandulares de significado indeterminado; lesão Intraepitelial de alto grau e de carcinoma in situ de colo uterino e alterações celulares compatíveis com carcinoma microinvasor ou invasor. Outras indicações: sinais clínicos de metrorragia e dispareunia, prurido vulvar crônico e condilomatose vulvoperineal, controle pós tratamento de lesões pré invasivas e invasivas em colo, vagina e vulva, aspecto anormal em colo e vagina e pacientes HIV positivas (FEBRASGO, 2010). No diagnóstico das lesões intraepiteliais cervicais é importante a observação das áreas bem delimitadas, densas, opacas, acetobranças, próximas ou contíguas á junção escamo-colunar na zona de transformação, após a aplicação do ácido acético. Em geral, o grau de acetobranqueamento do epitélio está correlacionado com o grau de alteração neoplásica na lesão colposcópica (Coelho et al, 2008).

2.7.3. Exame histopatológico

Quando são observadas lesões colposcópicas faz-se necessário a biópsia para o estudo histopatológico. A biópsia dirigida consiste na coleta de material das lesões suspeitas. Essas regiões podem ser verrugas visíveis ou lesões subclínicas. No colo uterino, pode-se fazer a biópsia a frio com pinças como a de Gaylor-Medina ou com bisturi de alta frequência com eletrodos de tungstênio em alta temperatura. O diagnóstico da infecção por HPV caracteriza-se pela presença de coilocitose (aspecto devido a grandes vacúolos perinucleares), disceratose (ceratinização imperfeita de células epidérmicas isoladas) e discariose (anomalias nucleares, especialmente aumento, hiper Cromatismo, irregularidades da forma do núcleo e aumento do número de núcleos por célula, sem aumento apreciável do citoplasma ou do contorno celular. O estudo histológico, além de identificar as alterações sugestivas de infecção por HPV, possibilita avaliar a gravidade da lesão intraepitelial e neoplásica, como também diagnósticos diferenciais (Carvalho,2004). A Figura 5 mostra lâminas com epitélio escamoso cervical normal, NICI, NICII, NICIII, respectivamente.



UFES/CBM/DP - prmv - ago 2002

Figura 5: Cortes de biópsia de cérvix uterina demonstrando: (A) epitélio escamoso cervical normal, (B) NICI, (C) NICII e(D) NICIII). Fonte: Material do arquivo pessoal de Dr Paulo Roberto Merçon de Vargas, agosto 2002 (CCS-UFES)

2.7.4. Métodos de detecção do HPV

Técnicas de amplificação e hibridização de ácidos nucleicos são usadas desde 1980 para detecção, genotipagem e quantificação da carga viral do HPV. A evidência de que subtipos oncogênicos do HPV são causa necessária para a ocorrência do câncer de colo uterino e de suas lesões precursoras propiciou e impulsionou o desenvolvimento dessas técnicas de detecção de DNA-HPV.

(Castellsagué, 2008; Cox, 2009). Esses testes estão sendo estudados como método de rastreamento, e foi comprovada maior sensibilidade que o teste citopatológico, embora a especificidade seja menor, levando mais mulheres para colposcopia, mas essa limitação pode ser contornada priorizando mulheres com 35 anos ou mais (Cuzick et al,2008).O rastreamento pelo teste DNA-HPV oncogênico em um sistema organizado eficaz pode representar melhora de desempenho, além de possibilitar o aumento do intervalo da coleta de espécimes com segurança (Cox & Cuzick, 2006).

Os testes para detecção do DNA do HPV baseiam-se em três técnicas: PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), Captura Híbrida e Hibridização *In Situ*.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é um método em que se utiliza da síntese enzimática de DNA, determinando amplificação específica e exponencial de um determinado fragmento desse ácido nucléico, milhões de vezes. O DNA a ser estudado pode ser coletado por escova endocervical, lavado vaginal ou fragmento de biópsia fresco ou incluído em parafina. Essa técnica utiliza-se de enzima capaz de sintetizar DNA a partir de apenas uma cópia dessa molécula em reação que inclui aquecimento e resfriamento sucessivos. Essa enzima foi isolada de algas (*Thermus aquaticus*) capazes de sobreviver em altas temperaturas no parque de Yellowstone nos EUA.

A importância do método no diagnóstico das infecções por HPV reside no fato de tratar-se de procedimento simples, rápido, automatizado e extremamente específico. A utilização de duas seqüências de DNA complementares (*primers* ou seqüências iniciadoras) e específicas para um determinado tipo viral permite a amplificação do DNA desejado mesmo que presente em quantidades ínfimas.

A Captura Híbrida é uma técnica molecular extremamente específica e de fácil execução que fornece a tipagem viral por grupos (alto e baixo risco) além de permitir estimativa da carga viral em determinada amostra. Sondas de RNA complementares a áreas específicas do genoma da maioria dos tipos virais são utilizadas. Caso existam partículas virais, os híbridos formados entre o DNA viral e as sondas específicas são capturados na parede do tubo de reação recobertos com anticorpos específicos marcados com fosfatase alcalina.

Entre as técnicas biomoleculares mais validadas para detecção do HPV, está a Captura Híbrida CH2, é uma hibridização que resulta amplificação de sinal. O teste usa sondas de RNA que reagem com DNA alvo de 13 tipos de HPV de alto risco (16,18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68) e cinco de

baixo risco (6, 11, 42, 43 e 44). Como a detecção de tipos de baixo risco não tem muito significado clínico, o teste geralmente é realizado apenas para HPV de alto risco. (Stoler et al, 2007).

A captura híbrida, rotineiramente, pode ser realizada em material colhido por escova e biópsias não incluídas em parafina. A *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o uso desta tecnologia para o rastreamento do câncer do colo do útero em conjunto com o exame citopatológico (Clavel et al, 1999; Cuzick et al, 1999; FDA, 2003; Flores et al, 2003; MSAC, 2003). Este teste também oferece a possibilidade de autocoleta, uma alternativa que permite aumentar a cobertura do exame em regiões de difícil acesso ou com características culturais que levem à resistência ao exame ginecológico. Estudo realizado na Filadélfia mostrou um índice de concordância de aproximadamente 80% entre a autocoleta e aquela realizada por profissionais de saúde (Harper et al, 1999).

A hibridização *in situ* constitui técnica que permite a localização de ácidos nucleicos dentro das células. Da mesma forma que os outros métodos, baseiam-se no pareamento complementar de sondas especificamente projetadas para detectar-se tipo viral específico. As referidas sondas são previamente marcadas com substâncias como biotina ou digoxigenina podendo utilizar-se também de material radioativo se necessário. Sem dúvida nenhuma a maior das vantagens com relação à técnica de hibridização *in situ* diz respeito à possibilidade de detectar-se não somente o tipo viral e a sua localização das áreas infectadas, mas principalmente o estado físico do vírus, se episossomal ou incorporado ao genoma da célula hospedeira.

Os testes de biologia molecular são propostos como estratégia complementar da citologia oncológica na detecção precoce do câncer do colo do útero e de suas lesões precursoras, na triagem mais imediata de pacientes com células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) ou lesão de baixo grau (LSIL) e seguimento de pacientes imunodeprimidas, em especial as infectadas pelo HIV. O teste serviria também para a vigilância pós-tratamento, principalmente nas lesões de alto grau (Rohan et al, 2003).

2.8. Tratamento de lesões genitais causadas pelo HPV

2.8.1. Condiloma acuminado genital e VIN usual

A) aplicação pelo próprio paciente:

1) Imiquimod (creme a 5%): uso tópico externo (não é indicado para uso interno, vaginal e anal). A aplicação deve ser em cada lesão 3 vezes por semana, por um período de 4 a 8 semanas.

2) Podofiloxina (0,5%): uso tópico. Usada em ciclos de 2 vezes ao dia, por 3 dias dando-se um intervalo sem aplicação por 4 dias. Não deve ser usado em gestantes.

B) Aplicação pelo médico:

1) Podofilina a 25% (em tintura de benjoim): uso tópico. Deve-se lavar a região 4 horas após a aplicação

2) Ácido tricloroacético (30 a 90%): uso tópico. Aplicação semanal seriada até a involução das lesões.

3) Remoção cirúrgica: excisão com bisturi, eletrodo ou eletrocautério, permite a confirmação diagnóstica no histopatológico.

4) Crioterapia com nitrogênio líquido: aplicação semanal seriada até a regressão das lesões.

5) Interferon (uso sistêmico ou intralesional): isolado não é melhor que os métodos anteriores

(Passos & Almeida, 2011)

2.8.2. Neoplasia intraepitelial cervical

A escolha do método terapêutico continua na dependência de alguns fatores. Entre eles, o grau histológico da lesão e sua extensão; o envolvimento

endocervical; a idade da paciente, o desejo reprodutivo; a concomitância com outras doenças; e a concomitância com gestação (FEBRASGO, 2010).

2.8.2.1. Neoplasia intraepitelial grau I

Em seguimento de dois anos aproximadamente 25% dos casos pode evoluir para NIC II (Solomon et al,2002). Por apresentar altos índices de regressão espontânea, a conduta tem sido expectante, para a maioria dos autores. Recomenda-se o acompanhamento cito-colposcópico de 6\6 meses com nova biópsia somente se houver agravo da imagem colposcópica ou do resultado citopatológico. Após dois anos de acompanhamento, caso não aconteça regressão o tratamento se impõe. Em pacientes jovens com a junção escamo-colunar (JEC) visível tratamentos destrutivos locais ou excisionais são aceitáveis. Caso a lesão penetre no canal endocervical, proceder tratamento excisional (ACOG Practice Bulletin,2008).

2.8.2.2. Neoplasia Intraepitelial de grau II e III

Em pacientes abaixo de 20 anos com neoplasia Intraepitelial grau II (NICII), é possível o acompanhamento cito-colposcópico de 6\6 meses por 2 anos, caso não se perca o seguimento, caso o seguimento seja difícil, ou mulheres acima de 20 anos, ou HIV positivas, ou naquelas em que a lesão penetre o canal endocervical, a excisão da zona de transformação é o tratamento de eleição. Para lesões de grau III (NICIII) o tratamento é a retirada parcial do colo de útero (conização), por técnica de cirurgia de alta frequência, laser de CO2 ou á bisturi frio. O seguimento das pacientes após tratamento da NIC deve ser com controle cito-colposcópico de 6 em 6 meses por 2 anos. Pode-se realizar o teste de DNA-HPV no primeiro controle de 6 meses, se negativo, novos controles podem ser realizados com 1 ano (Lu et al, 2006).

2.8.2.3. Neoplasia cervical invasiva

O tratamento convencional da neoplasia do colo uterino inclui cirurgia ou radioterapia ou uma combinação de ambas. As neoplasias iniciais do colo uterino (estádio I e IIA) podem ser tratadas com qualquer um dos

procedimentos. A radioterapia é o tratamento de escolha uma vez que a doença se disseminou além dos limites do colo uterino e dos fundos de sacos vaginais e a cirurgia não é eficaz. O tratamento da neoplasia do colo uterino com radioterapia com frequência inclui uma combinação de radioterapia externa (para toda a pelve) e radiação intracavitária (na parte central da neoplasia). Adicionando a radiação intracavitária à radioterapia externa resulta num melhor controle e sobrevida, quando comparado com a radioterapia externa exclusiva para a doença avançada localmente, como nos estádios IIB e III.

As mulheres com neoplasia microinvasiva (estádio IA) podem ser tratadas com conização ou histerectomia total ou histerectomia ampliada. As pacientes com neoplasias no estágio IIB e IIA podem ser tratadas com histerectomia radical (Wertheim) e linfadenectomia pélvica ou com radioterapia intracavitária, ou com uma combinação de radioterapia externa e intracavitária. Em determinados casos de carcinoma pequeno em estágio IIB (< 2 cm), faz-se a traquelectomia radical combinada com linfadenectomia laparoscópica para preservar a função reprodutiva da paciente. A radioterapia e a cirurgia produzem resultados semelhantes na neoplasia invasiva em estádios iniciais (IB e IIA). As neoplasias em estádios IIB e III podem ser tratadas com uma combinação de radioterapia externa e intracavitária. Mulheres com doença em estágio IV são tratadas paliativamente com radioterapia externa e/ou quimioterapia.

A quimioterapia concomitante com cisplatina melhorou os resultados da radioterapia na neoplasia do colo uterino avançado. Estudos clínicos aleatórios demonstraram um ganho significativo na sobrevida global e na sobrevida livre de doença para o tratamento baseado na cisplatina administrada simultaneamente à radioterapia (Thomas, 2000). Observou-se um benefício significativo da quimioterapia e radiação em relação tanto à recidiva local quanto à distância. O benefício absoluto com a terapia combinada para a sobrevida global foi de 16%. Baseado nessa evidência, a quimioterapia simultânea com radioterapia surge como um novo padrão de tratamento para a neoplasia avançada do colo uterino.

O estágio clínico da doença ao diagnóstico é o fator preditivo mais importante da sobrevida no longo prazo; taxas de sobrevida também decrescem com a idade. Outros fatores que influem na sobrevida são a saúde geral e o estado nutricional. Pacientes anêmicos respondem mal ao tratamento, assim como pacientes HIV positivas. Vários estudos clínicos e populacionais demonstraram uma sobrevida aos 5 anos uniformemente alta em 75% para as neoplasias do estágio I e a sobrevida diminui bastante com o progredir para os estádios mais avançados (menos de 10% para o estágio IV) (Delgado et al., 1990; Fagundes et al., 1992; Kosary et al, 1994; Gatta et al, 1998; Sankaranarayanan et al, 1998; Denton et al, 2000). Em uma grande série de pacientes com neoplasia do colo uterino, tratadas com radioterapia, demonstrou-se que a frequência de metástase à distância (com maior frequência a gânglios linfáticos paraaórticos, pulmões, cavidade abdominal, fígado e aparelho digestivo) crescia com o progredir do estágio da doença, de 3% no estágio IA a 75% no estágio IVA (Fagundes et al, 1992). Em um estudo de 1.028 pacientes tratadas com cirurgia radical, as taxas de sobrevida correlacionaram-se sistematicamente com o volume tumoral (Burghardt et al, 1992). As taxas de sobrevida aos 5 anos oscilaram entre 91% para pacientes com tumores de menos de 2,5 cm e 70% para aquelas com tumores de 10-50 cm. A sobrevida livre de doença aos três anos variou de 94,6% para tumores em estágio I, menores ou iguais a 5 mm, a 59,5% para tumores em estágio I, maiores ou iguais 21 mm (Delgado et al., 1990). Os estádios clínicos avançados associam-se a uma maior frequência de invasão e disseminação vascular a gânglios linfáticos pélvicos e para aórticos e metástase à distância. (Apêndice 3: Estadiamento da FIGO 2009)

Tratamento	Estadio 0	Estadio IA	Estadio IB	Estadio IIA	Estadio IIB	Estadio III	Estadio IVA	Estadio IVB
Ablação química, electrocauterização, EZT	✓							
Conização	✓	✓						
Histerectomia Total	✓	✓						
Histerectomia radical com linfoadectomia pélvica		✓	✓	✓				
Histerectomia radical com linfoadectomia pélvica + radioterapia e quimioterapia			✓	✓				
Radioterapia Interna	✓	✓						
Radiação Interna e externa			✓	✓				
Radiação Interna + externa + quimioterapia			✓	✓	✓	✓	✓	
quimioterapia								✓
Radioterapia paliativa								✓

Figura 6: Opções de tratamento do câncer cervical de acordo com estadiamento clínico. Fonte: NCI, 2004

2.9. Profilaxia e vacinação

Existem evidências que o uso de condons por homens pode reduzir o risco de HIV na mulher. (Weller et al, 2002) Entretanto a efetividade do preservativo masculino em outras DSTs são mais limitadas. (Zenilman et al, 1995; Holmes et al, 2004). Particularmente, vários estudos tem encontrado que o uso de preservativos por homens não reduz o risco de HPV na mulher. No entanto, um estudo realizado na Universidade de Washington envolvendo jovens de 18 a 22 anos com duração de 5 anos encontrou-se que o uso consistente do preservativo pode reduzir o risco de infecção por HPV de alto e baixo risco e de lesões cervicais e ele deve ser encorajado. (Winer et al, 2006)

Um importante passo na profilaxia do câncer de colo uterino ocorreu com o desenvolvimento da vacina contra o HPV. Vacinas profiláticas são baseadas em partículas semelhantes ao vírus, chamadas VLP (virus like

particles), tem em sua constituição básica apenas a proteína L1 do capsídeo viral. Cinco dessas proteínas formam um capsômero e 72 capsômeros compõem uma VLP, estruturalmente igual ao HPV. Trata-se, portanto de uma vacina não infecciosa e não oncogênica que induz à formação de anticorpos neutralizadores de alta titulação e específicos para o HPV. (Stanley et al, 2006).

Mecanismo e ação das vacinas profiláticas: Uma vez injetadas por via intramuscular, as VLPs levam à formação de anticorpos séricos. Como a maioria dos tipos de câncer surgem na junção escamocolunar (zona de transformação) do colo uterino e nesse local, existe a transudação dos anticorpos séricos para o muco cervical, a ação da vacina se dá pela exsudação direta dos anticorpos séricos formados nos locais de trauma, que expõe as células epiteliais basais à infecção. Cerca de um mês após a terceira dose da vacina, o pico de anticorpos é atingido e partir desse ponto declina progressivamente, mantendo-se durante muito tempo em nível intermediário. A continuidade dessa resposta sustentada de anticorpos é responsabilidade das células plasmáticas de longa vida, localizadas principalmente na medula óssea e formadas por subpopulações heterogêneas que sobrevivem por diferentes períodos. Quando ocorre nova exposição ao vírus, gera-se elevação imediata e expressiva do número de anticorpos (Olsson et al, 2007).

Atualmente, há duas vacinas aprovadas pela ANVISA para infecções e doenças causadas pelos tipos de HPV contidos no produto (www.anvisa.gov.br):

a) Vacina contra HPV oncogênicos tipos 16 e 18 (Cervarix®) GSK: 20 µg cada VLP-L1 de HPV 16-18. Adjuvante: 500µg AL (OH)3+50µg MLP= ASO4. Faixa etária: 10 a 25 anos. Posologia: 3 doses (0-1- 6 meses).

b) Vacina quadrivalente recombinante contra HPV tipos 6,11,16 e 18 (Gardasil®) MSD: HPV 6 e 18: 20µg HPV 11 e 16: 40µg, Adjuvante: 225µg Sulfato Hidroxissulfato de AL. Posologia: 3 doses (0 - 2- 6 meses).

A vacina quadrivalente contra vírus 6,11,16 e 18 da MSD foi aprovada em 2006 e conta com 4 VLP (6,11,16,18). Assim confere proteção contra condilomas acuminados (verrugas anogenitais) e ao mesmo tempo para neoplasias intraepiteliais e câncer de vulva, de vagina, decolo de útero e de anus. Em setembro de 2009 e em maio de 2011, respectivamente a agência americana que regula drogas e alimentos (FDA) e a ANVISA aprovaram o uso também em homens de 9 a 26 anos de idade. Na Europa, o EMEA, aprovou a extensão do uso para mulheres de até 45 anos de idade. Um estudo de fase II multicêntrico, randomizado, duplo cego e controlado com placebo foi realizado com objetivo de avaliar a eficácia da vacina quadrivalente (HPV6,11,16,18) na redução da incidência de infecções persistentes por HPV 6,11,16 e 18 e doenças relacionadas, incluindo lesões intraepiteliais cervicais, câncer de colo uterino e lesões genitais de condiloma acuminado. Segundo essas premissas, a vacina quadrivalente recombinante contra HPV (6,11,16 e 18) mostrou sua eficácia na prevenção de NIC II, NICIII ou AIS pelos tipos incluídos na vacina, em mulheres de 9 a 26 anos de idade. Da mesma forma, constatou-se eficácia igualmente elevada na prevenção de NIV, NIVA e de condilomas pelos tipos incluídos, em mulheres adultas (Kjaer S. et al, 2009). Mostrou ainda eficácia de 74,9% na prevenção de NIA 2 pelos tipos 6,11,16 e 18 de HPV, de 63,7% para NIA grau 3 e de 90,4% de lesões genitais externas (Palefsky, 2010).

A vacina contra HPV oncogênicos, 16 e 18 da GSK, está aprovada desde 2008, para uso no Brasil, ela possui duas VLPs (16 e 18), tem eficácia comprovada para neoplasias intra-epiteliais cervicais e câncer cervical, em um estudo randomizado, duplo-cego em mulheres jovens intitulado: Estudo PATRICIA (*Papilloma Trial Against Cancer In Young Adults*) foi observado eficácia também contra lesões associadas a HPVs de tipos não vacinais como proteção cruzada individual aos vírus HPV 31, 33 e 45 (Paavonen et al, 2009).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Determinar a prevalência e os fatores de risco associados para lesões de alto grau e câncer de colo uterino em mulheres atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical e Colposcopia do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (HUCAM).

3.2. Objetivos específicos

- Descrever o perfil clínico, citológico, colposcópico e histopatológico das mulheres atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical do HUCAM.
- Determinar a prevalência de *Chlamydia trachomatis*.
- Determinar a prevalência da infecção por HPV.
- Determinar a frequência e distribuição dos genótipos de HPV nas lesões cervicais.

4. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo descritivo em corte transversal conduzido em mulheres atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical e Colposcopia do HUCAM no período de Abril de 2010 a outubro de 2011. O público atendido no ambulatório é constituído de pacientes com alterações no exame citopatológico ou com outras indicações para colposcopia (condiloma acuminado genital, lesões vulvares, vaginais ou de colo uterino que sugiram neoplasias ou lesões pré-neoplásicas) encaminhadas do ambulatório de Ginecologia do HUCAM, assim como de outros municípios vizinhos que não possuem serviço de colposcopia.

4.1 População

Foram convidadas a participar do estudo mulheres de 18 a 59 anos que foram atendidas no Ambulatório de Patologia cervical no período do estudo, encaminhadas para investigação de alteração na citologia ou outra indicação para colposcopia. Foram excluídas as que estavam grávidas e as que tinham algum tipo imunossupressão (HIV/AIDS, tratamento quimioterápico, etc.) ou eram hysterectomizadas.

4.2 Cálculo do tamanho da amostra:

A variável de desfecho do estudo foi a prevalência de lesões cervicais de alto grau e câncer de colo uterino diagnosticadas pelo exame histopatológico. O tamanho da amostra foi calculado para estimar a taxa de prevalência de lesão cervical de alto grau e câncer de colo uterino em mulheres atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical, com um intervalo de 95% de confiança de tamanho bilateral de 0,5%. Tomou-se como base para cálculo uma taxa de 5% (Correa et al, 2012) aceitando uma variabilidade de +/- 2,5% o que gerou um número de 291 mulheres. Supondo uma perda de 10%, o tamanho de amostra final foi de 321 mulheres.

4.3 Procedimentos

4.3.1. Coleta de dados e espécimes:

Entrevista face-a-face, com duração de aproximadamente 20 minutos, foi realizada utilizando um questionário padronizado e validado em estudo piloto contendo dados sócio-demográficos, epidemiológicos e clínicos. Após a entrevista, foi realizado teste rápido para HIV com aconselhamento e exame ginecológico para coleta de espécime cervical para realização de citologia cervical, captura híbrida para HPV e *Chlamydia trachomatis* e material para pesquisa de DNA de HPV por PCR. A colposcopia foi realizada de acordo com as normas do Ministério da Saúde. (Anexo 1: Questionário)

4.3.2. Citologia cervical para diagnóstico de câncer cervical ou lesões precursoras do câncer foram realizadas usando espátula longa de Ayre e escova tipo *cito-brush* de canal, colhendo amostra do raspado da ectocérvice e endocérvice. O material foi disposto em fina camada, por esfregaço, em uma lâmina de vidro devidamente identificada, que foi transferida de imediato a um frasco contendo líquido fixador (álcool hidratado) sendo a posteriori encaminhadas ao Serviço de Patologia do HUCAM/UFES para leitura. As lâminas foram coradas pelo método de Papanicolaou, e os laudos foram liberados com base descritiva na nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos de acordo com as normas do Ministério da Saúde. As amostras obtidas foram classificadas em três grupos com relação aos laudos citopatológicos cervicais. O grupo I (G1): amostras com diagnóstico citopatológico descrito como: Dentro dos limites da normalidade no material examinado, alterações celulares benignas incluindo inflamação, reparação, metaplasia escamosa imatura, atrofia com inflamação ou radiação. O grupo II (G2): Amostras com diagnóstico citopatológico alterado com atipias celulares incluindo: LSIL compreendendo efeito citopático pelo HPV, NICI, ASC-US, ASC-H e AGC. O grupo III (G3): Amostras com diagnóstico citopatológico alterado com atipias celulares incluindo: HSIL compreendendo NICII e NIC III.

4.3.3. Colposcopia:

As colposcopias foram realizadas em aparelho da marca Olympus, modelo OCS-3, por um único profissional. Foi utilizado soro fisiológico para remoção de muco e fluidos vaginais e na sequência utilizou-se ácido acético de 2 a 5% aguardando seu efeito adequado até três minutos para a inspeção, o laudo seguiu as nomenclaturas colposcópicas Barcelona 2002 e Rio de Janeiro 2011. As biópsias (quando necessárias) foram realizadas com pinças de Gaylor-medina de 3 e 5mm. O material foi encaminhado, devidamente identificado, ao Serviço de Patologia do HUCAM/UFES sendo todos os laudos liberados seguindo as normas do Ministério da Saúde. As pacientes que tiveram o resultado da colposcopia dentro dos padrões de normalidade tiveram a citologia repetida após seis meses e em caso de novamente alterados foram submetidas à investigação do canal com cirurgia de alta frequência. (Apêndice 2: Nomenclatura RJ 2011 e Apêndice 4: Terminologia Barcelona 2002).

4.3.4 Pesquisa de HPV e de *Chlamydia trachomatis*:

4.3.4.1 Captura Híbrida:

Pesquisa diagnóstica de *Chlamydia trachomatis* e HPV de alto e baixo risco por meio de Captura Híbrida (QIAGEN). Esse teste é de hibridização em microplaca com amplificação de sinal através da detecção por quimioluminescência para detectar qualitativamente *Chlamydia trachomatis* (Captura híbrida 2^{V2®}) e HPV (Captura híbrida 2^{V2®}). O transporte das amostras foi realizado em condições de baixas temperaturas após terem sido protocoladas e encaminhadas ao Laboratório de virologia no NDI.

4.3.4.2 Reação em Cadeia pela Polimerase

Escovado cervical foi também obtido e acondicionado em tampão tris-EDTA pH 7,2 a -70°C para extração de DNA e pesquisa de HPV por PCR utilizando iniciadores degenerados e tipado por RFLP utilizando-se o kit QIAamp DNA Mini Kit™ (QIAGEN), conforme instruções do fabricante. Pesquisa de HPV por PCR foi realizado utilizando dois conjuntos de iniciadores não degenerados, PGMY09/11 seguido por tipagem por *Restriction Fragment Length*

Polymorphism (RFLP), conforme descrito por Bernard et al. (1994) e *Reverse Linear Blotting* (RLB), conforme protocolo realizado no Instituto Malbran-Buenos Aires, Argentina, implementados no Laboratório de Virologia-NDI. Todas as amostras positivas na triagem acima foram caracterizadas quanto ao tipo de HPV presente. Para isso foi realizado o método de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) que detecta mais de 40 tipos que infectam a região anogenital. Os padrões de digestão obtidos foram comparados aos descritos na literatura (Bernard et al, 1994).

4.4 Seguimento e resultados dos exames

Foi agendada uma consulta de retorno, aproximadamente duas semanas após o dia da entrevista, para as participantes do estudo. Esta consulta teve como objetivo entregar os resultados dos exames e fazer o aconselhamento sobre os resultados dos testes e como prevenir as infecções. Em alguns casos, uma segunda visita ocorreu uma ou duas semanas mais tarde a fim de se confirmar os resultados.

4.5. Análise estatística

Todas as informações foram codificadas e armazenadas anonimamente em um banco de dados criado para este fim. Foi utilizado o programa estatístico SPSS (*Statistical Pacckage for the Social Sciences*) versão 17.0. Foi realizada análise descritiva, incluindo distribuição de frequência para variáveis qualitativas e cálculo de média e desvio-padrão (DP), mediana e distância interquartil (DIQ) para variáveis quantitativas. A taxa de prevalência de lesão cervical de alto grau foi estimada pela presença do diagnóstico confirmado pelo exame histopatológico, sendo calculado o correspondente intervalo de confiança de 95%. As associações com as variáveis demográficas foram testadas por meio de testes de qui-quadrado, com correção de Yates ou teste de Fisher, quando apropriado. Foi utilizada análise multivariada de regressão logística para estimar o efeito de uma variável, ao mesmo tempo em que se controla o efeito das demais, na probabilidade de apresentar lesão cervical de

alto grau/câncer cervical. *Odds Ratios* e intervalos de confiança foram calculados na análise. Também foram calculadas as sensibilidades e especificidades da citologia e da colposcopia para o diagnóstico de lesão cervical de alto grau/ câncer cervical.

4.6 Aspectos éticos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP-CCS-UFES) número 086/09 (Anexo 2). Todas as informações relatadas pelas participantes somente foram utilizadas para a proposta da pesquisa e a confidencialidade dos dados foi protegida durante todo o tempo.

5. RESULTADOS

Entre as 321 mulheres selecionadas, 291 participaram do estudo, o que representa 90,7% da amostra inicialmente selecionada. Foram excluídas do estudo pacientes que não aceitaram responder o questionário, aquelas que tinham imunodepressão conhecida (câncer, uso de corticóides, teste rápido para HIV positivo, gestantes e Lupus) ou eram hysterectomizadas.

A mediana de idade foi de 38 anos (DIQ: 30- 48 anos), sendo que 154 (52,9%) mulheres tinham entre 30 e 49 anos. A análise do local de residência das 291 mulheres incluídas nesse estudo revelou os seguintes resultados: 73 pacientes (25%) residiam em Vitória, 52 eram de Cariacica (18%), 39 da Serra (13%), 30 de Vila Velha (10%) e 128 (44%) de outros municípios do interior do estado do Espírito Santo.

5.1. Prevalência de lesões cervicais

Com relação ao exame citopatológico, 72 casos (24,7%) apresentaram resultados negativos para neoplasia com apenas alterações benignas, constituindo o grupo G1. 169 amostras (58,1%) pertenciam ao grupo G2 e 50 (17,2%) ao grupo G3. A Figura 7 mostra os resultados estratificados das citologias.

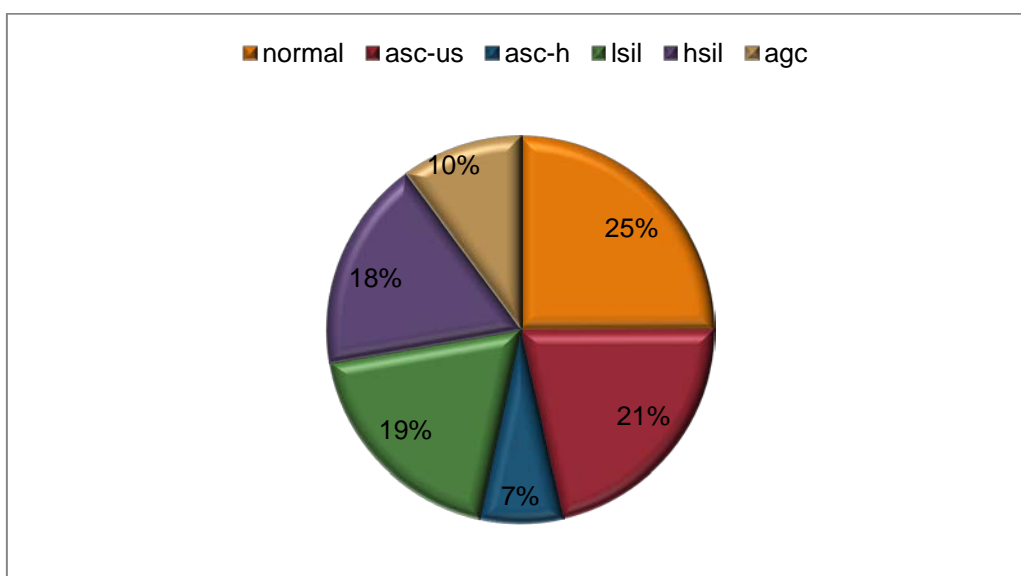


Figura7: distribuição dos resultados citopatológicos do colo uterino

Quando se considerou o resultado do exame histopatológico, a prevalência do diagnóstico de lesões de alto grau/câncer cervical foi de 18,2% (IC95%:13,8%-22,6%), sendo 48 (16,5%) casos de lesão de alto grau (NIC II, NIC III\ca *in situ*) e 5 (1,7%) casos de carcinoma invasor.

5.2 Distribuição dos casos de lesão de alto grau/câncer cervical de acordo com dados demográficos, comportamentais e clínicos

Um total de 74 (25,4%) mulheres tinha até quatro anos de estudo, 178 (61,2%) eram casadas e em 83 (28,5%) a renda familiar era de até três salários mínimos. Houve diferença estatística entre os grupos somente em relação à idade. A tabela 1 mostra os dados demográficos correlacionados com o diagnóstico de lesão de alto grau/câncer cervical.

Tabela 1: Dados demográficos segundo diagnóstico de lesão de alto grau/câncer cervical entre as pacientes atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical do HUCAM, 2011 (N=291)

Variáveis	Lesão de alto grau/câncer cervical		Valor p
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
Idade (anos)			
19-29	11 (20,8)	60 (25,3)	0,037
30-49	36 (67,9)	119 (49,8)	
>=50	6 (11,3)	59 (24,9)	
Escolaridade (anos)			
0-4	16 (30,2)	58 (24,5)	0,684
5-8	13 (24,5)	61 (25,7)	
>=9	24 (45,3)	119 (49,8)	
Estado marital			
Solteira	10 (18,9)	53 (22,4)	0,065
Casada	39 (73,6)	138 (58,2)	
Separada/viúva	4 (7,5)	46 (19,4)	
Renda familiar			
Até 3 SM*	42 (79,2)	166 (69,6)	0,161
Mais 3 SM	11 (20,8)	72 (30,4)	

* SM= salário mínimo Brasileiro (em 2011=R\$545,00)

Cento e oito mulheres (37,1%) eram fumantes, onze (3,8%) informaram usar drogas ilícitas, trinta e oito (13,1%) tiveram o primeiro coito antes dos 15 anos, duzentos e vinte e uma (75,9%) tiveram mais de um parceiro na vida, vinte (6,9%) tiveram mais de um parceiro nos últimos 12 meses, duzentos e vinte (75,6%) disseram não usar preservativos, noventa (30,2%) referiram ter prática sexual anal, quarenta e seis (15,8%) relataram DST prévia. A tabela 2 descreve os dados comportamentais das pacientes atendidas no HUCAM, de acordo com o diagnóstico de lesão de alto grau/câncer cervical. O tabagismo e a prática de coito anal foram mais frequentes entre as mulheres com lesão de alto grau/câncer cervical.

Tabela 2: Dados comportamentais segundo diagnóstico de lesão de alto grau/câncer cervical das pacientes atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical do HUCAM, 2011 (N=291)

Variáveis	Lesão de alto grau/câncer cervical		Valor p
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
Tabagismo			
Sim	26 (49,1)	81 (34,2)	0,042
Não	27 (50,9)	157 (65,8)	
Uso drogas ilícitas			
Sim	4 (7,5)	7 (3,0)	0,121
Não	49 (92,5)	231 (97,0)	
Idade 1o coito			
<15 anos	11 (20,8)	211 (88,6)	0,070
>=15 anos	42 (79,2)	27 (11,4)	
No parceiros/ vida			
Mais 1 parceiro	45 (84,9)	176 (73,8)	0,089
1 parceiro	8 (15,1)	62 (26,2)	
No parceiros/ultimo ano			
Mais 1 parceiro	1 (1,9)	19 (8,0)	0,140
1 parceiro	52 (98,1)	219 (92,0)	
Uso preservativos			
Não	41 (77,4)	182 (76,4)	0,878
Sim	12 (22,6)	56 (23,6)	
Prática coito anal			
Sim	26 (49,1)	63 (26,6)	0,003
Não	27 (50,9)	175 (73,4)	
História DST			
Sim	6 (11,3)	40 (16,9)	0,317
Não	47 (88,7)	198 (83,1)	

Na tabela 3 estão descritos os dados clínicos das pacientes, de acordo com o diagnóstico de lesão de alto grau/câncer cervical. Ter quatro filhos ou mais, PCR positiva para HPV e presença de HPV de alto risco na captura híbrida foram fatores associados à lesão cervical de alto grau/câncer cervical.

Tabela 3: Dados clínicos de acordo com o diagnóstico de lesão de alto grau/câncer cervical entre as pacientes atendidas no Ambulatório de Patologia Cervical do HUCAM, 2011 (N=291)

Variáveis	Lesão de alto grau/câncer cervical		Valor p
	Presente n (%)	Ausente n (%)	
História de gravidez			
Sim	49 (92,3)	195 (81,9)	0,094
Não	4 (7,7)	43 (18,1)	
Idade 1o gestação*			
<15 anos	1 (2,1)	4 (2,1)	0,997
>=15 anos	48 (97,9)	191 (97,9)	
Número filhos			
Nenhum	5 (9,4)	48 (20,3)	0,030
1-3 filhos	33 (62,3)	154 (64,6)	
>=4 filhos	15 (28,3)	36 (15,2)	
Pesquisa Clamídia**			
Positiva	2 (3,8)	12 (5,6)	0,478
Negativa	51 (96,2)	220 (94,4)	
PCR para HPV**			
Positivo	47 (88,7)	112 (48,1)	0,000
Negativo	6 (11,3)	121 (51,9)	
HPV alto risco (CH)**			
Positivo	44 (83,0)	76 (32,6)	0,000
Negativo	9 (17,0)	157 (67,4)	
HPV baixo risco (CH)**			
Positivo	6 (11,3)	19 (8,2)	0,435
Negativo	47 (88,7)	214 (91,8)	

* Referente as 244 mulheres que engravidaram ** Referente as 286 mulheres que foram testadas por captura híbrida para clamídia e HPV e PCR para HPV. CH=captura híbrida

5.3. Análise multivariada dos dados demográficos, comportamentais e clínicos em relação ao resultado da citologia

Na análise multivariada foram incluídos as variáveis preditoras que apresentaram significância menor ou igual a 0,150. No modelo final de regressão logística, ter idade entre 30-49 anos [OR=4,4 (IC95%:1,01-19,04)]; história de tabagismo [OR=2,43 (IC95% 1,14-5,18)]; a prática de coito anal [OR=2,35 (IC95% 1,10-5,03)] e ter teste de Captura de Híbridos para HPV de alto risco positivo [OR=11,23 (IC95% 4,79-26,36)] permaneceram independentemente associados à lesão de alto grau/câncer cervical.

5.4. Associação dos resultados da citologia com os da colposcopia e histopatológico

A colposcopia foi dentro dos padrões de normalidade em 55,3% dos casos, sugestiva de lesão de baixo grau em 24,1%, sugestiva de lesão de alto grau em 11,7%, foi insatisfatória em 8,6% dos casos e sugestiva de invasão em 0,3% (Tabela 4). A sensibilidade do exame colposcópico para lesões de alto grau/câncer cervical, quando comparada com o exame histopatológico, foi de 51,0% e a especificidade foi de 91,4%.

Tabela 4 : Associação entre o resultado da citologia oncológica e da colposcopia

		colposcopia n (%)					Total
		negativo	insatisfatória	LSIL	HSIL	invasão	
citologia n (%)	negativo	58(80,5)	7(9,7)	5(6,9)	2(2,8)	0	72 (24,7)
	ASCUS	33(53,2)	7(11,3)	21(33,9)	1(1,6)	0	62(21,3)
	ASC-H	7(35,0)	4(20,0)	3(15)	6(30,0)	0	20(6,9)
	AGC	19(65,5)	3(10,3)	7(24,1)	0	0	29(10)
	LSIL	31(57,4)	3(5,5)	16(29,6)	4(7,4)	0	54(18,5)
	HSIL	12(24,0)	0	16(32)	21(42,0)	1	50(17,2)
	ASCUS\AGUS	1(25)	1(25,0)	2(50,0)	0	0	4(1,4)
	Total	161 (55,3)	25 (8,6)	70 (24,1)	34 (11,7)	1 (0,3)	291 (100,0)

No total das 134 pacientes que foram submetidas à biópsia do colo uterino o resultado do exame histopatológico foi negativo para neoplasia ou NIC em 29,9%, NIC I foi observado em 30,6%, NIC II em 22,4%, NICIII\ Ca *in situ* em 13,4% e Ca invasor em 3,7%. Os resultados mostram que mesmo pacientes com citologias negativas para neoplasias tiveram a biópsia com lesões intraepiteliais cervicais; essas biópsias foram realizadas por haver lesões ao exame colposcópico. As biópsias foram negativas em 51,6% das citologias ASC-US, em 53,8% das citologias AGC e em 100% das citologias ASC-US + AGC. No entanto em 90% dos casos biopsiados as citologias ASC-H tiveram lesão: 45,5% NIC III\ca *in situ*, 18,2% Ca invasor, 9,1% NIC II e também 18,2% NIC I. Entre as citologias HSIL (NICII\NICIII), 90,7 % dos casos também tinham lesões intraepiteliais cervicais, inclusive com três casos de carcinoma invasor (7,0%).

Setenta e duas pacientes (24,7%) tinham idade inferior a 30 anos, e 38 delas (55,8%) foram submetidas à biópsia de colo uterino, apenas 11 (15,3%) tiveram resultado NIC II ou NICIII no estudo histopatológico e nenhuma delas tiveram câncer invasivo. A Tabela 5 mostra a associação entre o resultado do exame histopatológico com a citologia. A sensibilidade do exame citológico para lesões de alto grau/câncer cervical, quando comparada com o exame histopatológico, foi de 34,6% e a especificidade foi de 71,5%.

Tabela 5: correlação entre o resultado da citologia e do exame histopatológico da biópsia do colo uterino

Citologia n (%)	Histopatologia n (%)					Total
	negativa	NICI	NICII	NICIII\ca in situ	Ca invasor	
Negativa	6 (15)	3 (7,3)	2 (6,7)	0	0	11 (8,2)
ASC-US	16(40)	12(20,0)	3(10,0)	0	0	31 (23,0)
ASC-H	1(2,5)	2 (4,9)	1 (3,3)	5 (27,8)	2 (40,0)	11 (8,2)
AGC	7(17,5)	4 (9,8)	1 (3,3)	1 (3,3)	0	13 (9,7)
NIC I	4(10,0)	8 (19,5)	9 (30)	2 (11,0)	0	23 (17,2)
NIC II\ NICIII	4 (10,0)	12 (29,0)	14(46,7)	10 (55,6)	3 (60,0)	43 (32,1)
ASCUSIAGC	2 (5,0)	0	0	0	0	2 (1,5)
TOTAL	40 (100)	41(100,0)	30 (100,0)	30 (100,0)	18 (100,0)	134(100)

5.5 Resultados da pesquisa de HPV e *Chlamydia trachomatis*

A PCR para pesquisa de HPV foi positiva em 154 pacientes (55,9%) dos casos. Na captura híbrida, 4 2% tinham HPV de alto risco e 9,1% HPV de baixo risco. O teste de captura híbrida para *Chlamydia trachomatis* foi positivo em 4,9% das amostras.

Analisando os genótipos de HPV entre os três grupos de citopatológicos, no grupo G1 foram observadas 43 amostras (63,2%) com resultados negativos para HPV e 25 (36,8%) com resultados positivos, sendo que 17(89%) estavam infectadas por HPV de alto risco e dois (11%) por HPV de baixo risco. No grupo G2, 78 (47,3%) casos foram HPV negativos e 87 (52,7%) HPV positivos, sendo HPV de alto risco em 63 (77%) e 19 (33%) de HPV de baixo risco. No grupo G3 apenas três (6,1%) casos foram negativos contra 46 (93,9%) positivos, a maioria 40(89%) foi HPV de alto risco e cinco (11%) de HPV de baixo risco.

Entre os 154 casos de DNA de HPV identificado, 120 (75%) estavam infectadas por genótipos oncogênicos. Dos 160 genótipos detectados, 120 (75%) eram HPV de alto risco e 40 (25%) de HPV de baixo risco). O HPV 16 foi identificado em 35 casos, sendo o mais frequente (12%), seguido do 31 (2,4%), 35, 52 e 58 (2,1%), 18 e 62 (1,4%), 6, 26, 33, 53, 82 e 89 (1,0%), 51, 66, 67, 73 e 84 (0,7%) e finalmente 11, 42, 45, 56, 59, 61, 69, 70, 72 e 92 (0,3%). A Tabela 6 descreve a relação dos genótipos de acordo com a grupo citológico.

O teste de HPV foi positivo em 42% das pacientes com biópsias negativas, 76,9% das pacientes com biópsias NIC I, 82,75% das biópsias NIC II, 94,44% das biópsias NICIII\Ca *in situ* e 100% das pacientes com carcinoma invasor. Um total de 66,7% dos casos de NICIII\Ca *in situ* foram relacionados ao HPV 16, os HPV não oncogênicos 6 e 11 só foram encontrados em biópsias NIC I. Vinte e quatro casos de biópsias foram por tipos de HPV não classificados (x), inclusive um caso de carcinoma invasor. Cinco casos eram de carcinoma invasor: dois por HPV 16, um por HPV 31, um por HPV 73 e outro por HPV não classificado (x).

Tabela 6: Tipos de HPV detectados por PCR, distribuídos de acordo com o resultado da citologia.

HPV	Citologia n(%)			Total*
	Grupo I	Grupo II	Grupo III	
Negativo	43	78	3	124
6	0	1	2	3
11	0	1	0	1
16	4	17	16	37
18	1	3	0	4
26	1	1	2	4
31	1	7	2	10
33	0	1	2	3
35	0	4	2	6
42	0	1	0	1
45	1	0	0	1
51	0	0	4	4
52	0	4	3	7
53	1	2	1	4
54	1	0	1	2
56	0	1	0	1
58	0	5	2	7
59	0	0	1	1
61	1	3	0	4
62	1	4	0	5
66	0	2	1	3
67	1	1	0	2
69	0	1	0	1
70	1	1	0	2
72	0	1	0	1
73	0	1	2	3
82	0	0	3	3
84	0	2	0	2
89	1	4	0	5
92	0	1	0	1
X	13	29	9	51

*Os resultados não somam 100%, pois mais de um tipo de HPV foi encontrado em alguns casos.

6. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo descrever a prevalência de lesões cervicais pré-neoplásicas e neoplásicas em mulheres atendidas em Ambulatório de Patologia Cervical em Vitória. Foram encontradas 18,2% de lesões intraepiteliais de alto grau/câncer de colo uterino em pacientes sem diagnóstico anterior de câncer ou co-morbidades. Esta prevalência é mais alta que a descrita em uma revisão sistemática que incluiu três grandes estudos mostrando uma variação de lesão intraepitelial de alto grau de 6 a 12% realizada por Correa e colaboradores em 2012 e em concordância com a prevalência descrita em ambulatório de Patologia Cervical no Rio de Janeiro de 19,3% por Cytryn e colaboradores em 2009, que assim como no nosso serviço recebe pacientes referenciadas por alterações citológicas para colposcopia e tratamento de lesões precursoras do câncer de colo uterino. Um estudo realizado em 2009 na cidade de Vitória por Lima e colaboradores encontrou uma taxa de 0,9% de lesões intraepiteliais de alto grau em pacientes de uma clínica de DST.

O câncer cervical de células escamosas se desenvolve a partir de lesões pré-cancerosas bem definidas, que podem progredir para doença invasiva, se não forem precocemente diagnosticadas e tratadas. Alguns fatores inerentes ao HPV influenciam o risco para progressão de NIC e o desenvolvimento de câncer cervical, tais como, genótipo com persistência e integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro (Ho et al, 1995). Outros fatores de risco de câncer cervical incluem vários aspectos do comportamento sexual (como número de parceiros e idade da primeira relação sexual), tabagismo, uso de contraceptivos orais, além de HPV de alto risco e outras DSTs. (Ervin et al, 2000). Entre os fatores de risco para Lesões Intraepiteliais de Alto Grau encontrados neste estudo, estão: ter entre 30 e 49 anos de idade, tabagismo, relatar prática de coito anal, e ter resultado positivo para HPV de alto risco.

A idade mediana de início da vida sexual é de cerca de 16 anos na maioria dos países. Os adultos jovens sexualmente ativos representam a parcela da população com maior risco de adquirir HPV conforme estudo

epidemiológico que mostra que a prevalência de HPV é mais alta entre as mulheres jovens sexualmente ativas (Herrero et al, 2000). Estudo caso controle realizado com mulheres atendidas no ambulatório de Patologia Cervical do Hospital Antônio Pedro no Rio de Janeiro da Universidade Federal Fluminense evidenciou como fatores de riscos para lesão cervical apresentarem: idade acima de 31 anos, HPV de Alto Risco, baixa escolaridade, ter três filhos ou mais e tabagismo. (Pereira et al, 2007). A associação entre o intercurso sexual anal e lesões intra epiteliais cervicais e câncer é controversa na literatura e a maioria dos estudos não encontrou associação (Law et al,1991; Rohan et al, 1991).

Neste estudo, pacientes com menos de 30 anos apresentaram menor frequência de lesões de alto grau e nenhum caso de câncer. Um estudo de coorte transversal conduzido em Campinas com 54.338 exames citopatológicos de rotina foi descrito apenas uma caso com diagnóstico citológico de carcinoma invasivo na faixa etária de 20 a 24 anos; porém, no exame histológico foi confirmado diagnóstico de carcinoma *in situ* (Freitas, 2006). Sabendo que o câncer de colo de útero leva, aproximadamente 10 anos para se desenvolver a partir do início da vida sexual, a ocorrência de carcinoma invasivo em mulheres muito jovens é rara e não constitui evidência suficiente para alterar as recomendações e a política de saúde pública do Ministério da Saúde, que preconiza que sejam rastreadas mulheres a partir de 25 anos. (Saddugor, 1948; Barron,1978).

Nossos resultados mostram que mesmo pacientes com citologias negativas para neoplasias tiveram a biópsia com lesões intraepiteliais cervicais. Um estudo conduzido na Colômbia mostrou que resultados citopatológicos com inflamação têm no resultado histopatológico uma prevalência de lesões intra epiteliais cervicais semelhantes aos resultados de ASC-US (Duarte, 2004).

Neste estudo, as citologias ASC-US em mais de 50% foram negativas quando submetidas à biópsia de colo de útero. No entanto as citologias ASC-H, em 90% dos casos submetidos à biópsia tiveram lesão. Estudo no ambulatório de Patologia Cervical do Instituto Fernandes Figueira no Rio de Janeiro mostrou que a prevalência de lesões NIC II/III na citologia ASC-H foi de 19,3%

e o risco destas lesões foi maior entre as pacientes com citologia ASC-H comparado às pacientes com citologia ASC-US (1,9%) a divisão em subcategorias do diagnóstico ASC se mostrou com boa capacidade para discriminar a presença de lesões pré invasivas (Cyntrin et al, 2008).

A associação da colposcopia, da citologia oncótica e da histologia constitui o chamado “tripé diagnóstico” e permite realizar o diagnóstico das lesões neoplásicas e pre-neoplásicas em mais de 90% das vezes (CDC, 2006). Isto é importante, pois na literatura, as estimativas de sensibilidade e especificidade do exame citológico em mulheres em geral apresentam resultados divergentes (Cuzick et al, 2006; Anderson et al, 2006; Arbyn et al, 2009; Raposo et al, 2011). Para mulheres em geral, metanálises estimam que a sensibilidade do exame citológico aproxima-se de 55% (Cong et al, 2007; Koliopoulos et al, 2007; Arbyn et al, 2008). Assim como em nosso estudo, onde foi encontrada uma sensibilidade de 31,8% e especificidade de 95,5%, similar ao reportado por Raposo e colaboradores (2011) que encontraram uma baixa sensibilidade e alta especificidade da citologia estudando mulheres infectadas pelo HIV no Rio de Janeiro (Raposo et al, 2011).

Citologia, colposcopia e histologia constituem três métodos importantes e complementares para o estudo do colo uterino e suas lesões. Achados diferentes, em sua maioria não constituem erros, mas discrepâncias atribuíveis à resolução peculiar de cada método e de cada profissional. Dessa forma não se deve falar em acurácia, porque não há um diagnóstico correto, nem se pode forçar o patologista a concordar com um diagnóstico baseado em imagem subjetiva. O que é desejável é avaliar a reprodutibilidade inter e intra-observadores que motiva a ajustes de critérios e comparação com a evolução do caso. (Vargas, 2008).

Um estudo na Costa Rica detectou um pico de prevalência de infecção por HPV em mulheres com menos de 25 anos, uma diminuição entre mulheres de 35 a 54 anos e um segundo pico após 55 anos (Herrero et al, 2000). Em nosso estudo, que apresentou mediana de início da relação sexual aos 17 anos. Foi possível observar que a percentual de positividade do teste do HPV

foi maior nas pacientes com idade inferior a 30 anos (63%) quando comparadas àquelas com mais de 49 anos (40%). Dentre as amostras analisadas 55,9% apresentaram resultados positivos para HPV. Estudo internacional multicêntrico com dados de 15 áreas geográficas em quatro continentes com mulheres entre 15 e 74 anos a prevalência de HPV variou de menos de 5% a mais de 15% em países da América Latina (Bosch et al, 2006).

A prevalência do HPV varia entre 27 e 70% na população em geral conforme a população em estudo e os métodos de detecção do HPV utilizados. (Saslow et al, 2007). No geral, os resultados indicam que cerca de 50% das mulheres estão infectadas por HPV, caracterizando um problema mundial de saúde pública. Um estudo no Rio de Janeiro descreveu uma prevalência de 50,1%, variando de 25% entre mulheres com citologia dentro dos padrões da normalidade a 100% nas mulheres com lesões intraepiteliais de alto grau. Em estudo em 2006 no Espírito Santo incluindo mulheres HIV positivas e negativas em Centro de Referência em DST, a prevalência foi de 40,7% nas pacientes HIV negativas e 56,2% nas HIV positivas (Lima et al, 2009).

Em nosso estudo foi encontrado uma positividade para o HPV de 76,9% das pacientes com biópsias NIC I, 82,75% das biópsias NIC II, 94,44% das biópsias NICIII\Ca *in situ* e 100% das pacientes com carcinoma invasor. Um estudo semelhante na Venezuela mostrou que o DNA HPV foi identificado em 68% das LSIL, 95% das HSIL e 98,7% de câncer cervical (Correnti et al, 2011).

Faz-se importante enfatizar que uma parte das infecções por HPV é eliminada espontaneamente. Estudos recentes, utilizando tecnologia de detecção molecular, sugerem que o *clearance* ocorre em até um ano em aproximadamente 70% das mulheres infectadas e em até dois anos em 90% (Canadian Guidelines on Sexually Transmitted Infections, 2006).

Em nosso estudo, quase 70% dos casos de NICIII\ca *in situ* foram relacionados ao HPV 16. Os HPV não oncogênicos 6 e 11 só foram encontrados em biópsias NIC1.

Existe atualmente um interesse crescente no desenvolvimento e no uso de vacinas contra os HPV. No Brasil, dois tipos de vacinas já estão sendo comercializados e outras vacinas estão em fase de teste com vários subtipos de HPV (6,11,16,18,31,33,45,52,58). O conhecimento da prevalência dos genótipos de HPV na população é fundamental na escolha dos subtipos de HPV que serão incluídos nas vacinas. O HPV 16 é o genótipo de alto risco mais prevalente nos casos de câncer do colo de útero. A IARC divulgou resultados de uma análise sobre a distribuição mundial de genótipos em 15.613 mulheres citologicamente normais em que o genótipo mais comum foi o HPV 16, seguidos pelos HPV 42, 58, 31,18, 56, 81, 35, 33, 45 (Clifford et al, 2005). Em nosso estudo o HPV 16 também foi o mais prevalente seguido do 31, 35, 52, 58, 18, 62, 6, 26, 33, 53, 82, 89, 51, 66, 67, 73, 84, 11, 42, 45, 56, 59, 61, 69, 70,72 e 92.

O HPV 18 é conhecido como um tipo prevalente em todo o mundo. É o segundo tipo mais comum associado ao câncer cervical e mais fortemente detectado em adenocarcinoma cervical. No entanto, poucos casos deste tipo (1,7% do total da amostra) foram detectados em nosso estudo. Recentes pesquisas também relataram a frequência relativamente baixa deste tipo na região sudeste como é o caso de um estudo em mulheres jovens assintomáticas de escolas públicas do Rio de Janeiro (Oliveira et al, 2010).

A Organização Mundial de Saúde estima que a cada ano haja 100 milhões de casos novos de *Chlamídia Trachomatis* no mundo. (WHO, 2011). A prevalência varia conforme o tipo de população estudada. A idade é o principal fator de risco. Uma revisão sistemática de *Chlamídia Trachomatis* em mulheres assintomáticas europeias estimou a prevalência de 17% em grupos de atendimentos a mulheres jovens. (Wilson,et al 2002). Em uma coorte com mulheres acima de 30 anos em Denwork, Netherlands and UK a prevalência foi entre 2 e 6 %. (Andersen et al, 2002; Van Berger et al, 2005). Em nosso estudo encontramos que 4,9% das pacientes foram positivas para *Chlamídia Trachomatis* no teste da captura Híbrida, o que pode ser justificado pela faixa etária das pacientes estar na maioria entre 30 a 49 anos.

As limitações do presente estudo incluíram o tamanho e a peculiaridade da amostra, que limita as inferências às mulheres atendidas em Ambulatório de Patologia Cervical. Além disso, o estudo descritivo em corte transversal não é o ideal na avaliação da associação do resultado da citologia com dados epidemiológicos e clínicos. Entretanto, sua aplicação se justifica, porque implementar a assistência à saúde dessas mulheres é importante para demonstrar a susceptibilidade da população ao câncer cervical. A possibilidade de ter ocorrido viés de resposta por parte das mulheres não pode ser descartada devido à tendência de se dar respostas socialmente aceitáveis. A falta de acurácia a respeito de dados sobre frequência dos comportamentos de risco também não podem ser excluídas. Por outro lado, a alta taxa de participação no estudo demonstra que programas de prevenção de DST e de câncer cervical podem ser implementados com sucesso para serviços confidenciais e reservados para mulheres atendidas em ambulatório de patologia cervical.

A evidência de que subtipos oncogênicos do HPV são causa necessária para a ocorrência do câncer de colo uterino e de suas lesões precursoras propiciou e impulsionou o desenvolvimento das técnicas de detecção de DNA-HPV (Castellsagué, 2008; Cox, 2009). Esses testes estão sendo estudados como método de rastreamento, e foi comprovada maior sensibilidade que o teste citopatológico, embora a especificidade seja menor, levando mais mulheres para colposcopia, mas essa limitação pode ser contornada priorizando mulheres com 35 anos ou mais (Cuzick et al, 2008). O rastreamento pelo teste DNA-HPV oncogênico em um sistema organizado e eficaz pode representar melhora de desempenho, além de possibilitar o aumento do intervalo da coleta de espécimes com segurança (Cox & Cuzick, 2006).

Encontramos que quase a metade das pacientes com citologia ASC-US tiveram o teste de HPV negativos, foram submetidas à colposcopia e mais de 50% dos casos o resultado foi “dentro dos padrões de normalidade” e quando submetidas à biópsia mais da metade foi negativa para lesão de NIC ou câncer. Além disso, quase metade das pacientes era do interior do estado

(44%), onde não existe um serviço de Patologia Cervical, realizar o teste de HPV nessas pacientes, diminuiria a necessidade de repetição excessiva de citopatológicos, deslocamentos onerosos de pacientes para outra cidade com serviço especializado e colposcopias desnecessárias com consequente biópsias invasivas e sobre-tratamentos que causam desgaste físico e emocional a essas pacientes. Além do mais reduziria as filas de espera nos serviços especializados de colposcopia dando a chance de pacientes com lesões mais importantes serem diagnosticadas mais precocemente.

Os programas de prevenção do câncer de colo uterino existem e têm mostrado sucesso em evitar a progressão da doença (Hakama, 1986; IARC, 2004). Embora isto seja animador, ainda há muito trabalho a ser feito para identificar intervenções inovadoras que remetam às influências sociais, culturais e ambientais da infecção por HPV e câncer cervical no Brasil. Este estudo enfatiza a importância das estratégias de prevenção e assistência e a necessidade de expansão e adequação dos serviços de saúde para o controle do câncer cervical. Aproveitar o momento em que a mulher busca atendimento ginecológico pode ser uma boa estratégia de atenção integral, devendo abordar não somente aspectos clínicos de doença, como suas práticas, conhecimentos e prevenção de uma forma ampla.

7. CONCLUSÕES

- É alta a prevalência de Lesão Intraepitelial de alto grau e câncer (18,2%), sendo 16,5% lesão de alto grau e 1,7% casos de carcinoma invasor em mulheres atendidas no ambulatório de patologia cervical do HUCAM.
- Os fatores de risco associados à Lesão intraepitelial de alto grau foram ter idade entre 30 e 49 anos, ser tabagista, relatar prática de coito anal e ter resultado positivo para HPV de alto risco.
- O achado histopatológico mais frequente foi NIC I. Tanto a citologia quanto a colposcopia apresentaram baixa sensibilidade e alta especificidade para o diagnóstico de lesões cervicais de alto grau.
- A prevalência de *Chlamídia trachomatis* foi de 4,9% e não teve relação com aumento de lesões intraepiteliais de alto grau ou câncer.
- Alta prevalência de infecção pelo HPV de alto risco (41,9%). O HPV mais frequente foi o 16 e o HPV 18 foi pouco frequente.
- Um total de 66,7% dos casos de NICIII\ca *in situ* foram relacionados ao HPV 16. Os HPV não oncogênicos 6 e 11 só foram encontrados em biópsias NIC1. Um total de 60% dos casos de câncer invasor encontrados em nosso estudo foi por tipos não incluídos nas vacinas profiláticas contra HPV comercializadas.

8. PERSPECTIVAS

- Realizar estudo de seguimento dessas pacientes para avaliar a persistência do vírus HPV e correlacionar com possíveis lesões cervicais.
- Avaliar possível clareamento do vírus HPV após tratamento das lesões cervicais na população do estudo.
- Comparar os dados obtidas com população de mulheres HIV + .
- Pesquisar outros prováveis focos do vírus HPV nessa população como anus e boca.

9. REFERÊNCIAS

- American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin nº. 99. Management of abnormal cervical cytology and histology. *Obstet Gynecol.* 2008, 112(6):1419-1444.
- Andersen Gynecol. 2008,112(6):1419-1444.B, Olesen F, Moller J, Ostergaard L. Population-based strategies for outreach screening of urogenital *Chlamydia trachomatis* infections: a randomized, controlled trial. *J Infect Dis.* 2002;185:252–258.
- Anderson J, Paramsothy P, Heilig C, Jamieson D, Shah K, Duerr A. Accuracy of Papanicolaou test among HIV-infected women. *Clin Infect Dis* 2006; 42:562
- Associação Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia ABPTGIC. Terminologia Colposcópica Barcelona, 2002 e Nomenclatura Colposcópica Rio de Janeiro,2011. Disponível em: <http://www.colposcopy.org.br>
- Astori G, Lavergne D, Benton C, Hockmayr B, Egawa K, Garbe C, de Villiers EM. Human papillomaviruses are commonly found in normal skin of immunocompetent hosts. *J. Invest. Dermatol* 1998, 110: 752-755.
- Arbyn M et al. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition- summary document. *Ann Oncol.* 2010; 21(3):448-458.
- Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers A, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2008; 111: 167-77.
- Barron BA, Cahill MC, Richart RM. A statistical model of natural history of cervical neoplastic disease: duration of carcinoma *in situ*. *Gynecol Oncol.* 1978;6(2): 196-205.
- Bernard HU, Chan SY, Manos MM, Ong CK, Villa LL, Delius H, Peyton DL, Bauer HM, Wheeler CM. Identification and assesment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction

fragment length polymorphisms, nucleotide sequence and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis*, 1994, 170:1077-1085.

Berumen J, Ordonez RM, Lazcano E, Salmeron J, Galvan SC, Estrada RA, et al. Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case –control study. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(17): 1325-1330.

Bornstein J, Bentley J, Bosze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, Perrotta M, Prendiville W, Russell P, Sideri M, Strander B, Torne A, Walker P. 2011 IFCPC colposcopic nomenclature. In preparation for publication

Bosch FX, Qiao YL, Castellsagué X. The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 2006, 94 (supplement 1): S8- S21.

Brasil. Ministério da Saúde. Sistema de informação do câncer de colo uterino e sistema de informação do câncer de mama. Disponível em <http://www.datasus.gov.br/siscam/index>.

Brinton, LA. et al. Case-control study of in situ and invasive carcinoma of the vagina. *Gynecol Oncol*. 1990; 38; 49-54.

Burghardt, E, Baltzer, J., Tulusan, A.H., & Haas, J. Results of surgical treatment of 1028 cervical patients studied with volumetry. 1992; *Cancer*, 70, 648-655.

Camara GN, Cerqueira DM, Oliveira AP, Silva EO, Carvalho LG, Martins CR. Prevalence of human papillomavirus types in women with pré-neoplastic and neoplastic cervical lesions in the Federal District of Brazil. *Memórias do Inst Oswaldo Cruz*. 2003, 98(7): 879-883.

Carvalho MO, Carestiato FN, Perdigão PH, Xavier MP, Silva K, Botelho MO, Oliveira LH, Cavalcanti SM. Human papillomavirus infection in Rio de Janeiro, Brazil: a retrospective study. *Braz J infect Dis*. 2005, 9(5): 398-404.

Carvalho JJM. Manual Prático do HPV. Instituto Garnet 2004, 64-65.

Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cancer. *Gynecol Oncol*. 2008; 110(3 suppl 2):S4-7.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). USA. Workowski KA, Berman SM, Sexually transmitted diseases treatment guideline, 2006. MMWR recomm Rep. 2006 Aug 4;55 (RR-11):1-94.

Chaturvedi AK, Brinkman JA, Gaffga AM, Mire KM, Clark RA, Braly PS, Dunlap K, Beckel TE, Hammons AF, Kissinger PJ, Hagensee ME. Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from three clinical settings. *J Med Virol* .2005, 75:105-113.

Clarke B, Chetty R. Postmodern cancer: the role of human immunodeficiency virus in uterine cervical cancer. *Mol Pathol*. 2002 Feb; 55(1):19-24. Review.

Clavel C, et al; Hybrid Capture II-based human papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518 women. *Br J Cancer*, 1999, 80(9): 1306-1311.

Correnti M, Medina F, Cavazza M E, Rennola A A, Fernandes A. HPV type distribution in cervical carcinoma, low- grade squamous intra epithelial lesion in Venezuela women. *Gynecol Oncol*. 2011 Jun 1;121(3):527-31.

Cong X, Cox D, Cantor S. Bayesian meta-analysis of Papanicolaou smear accuracy. *Gynecol Oncol* 2007; 107:S133-7.

Corrêa FM, Russomano FB, Oliveira CA. Colposcopic triage methods for detecting cervical intraepithelial neoplasia grade 3 after cytopathological diagnosis of low-grade squamous intraepithelial lesion: a systematic review on diagnostic tests. *Sao Paulo Med J*. 2012; 130(1):44-52

Cox JT. History of the use of HPV testing in cervical screening and in management of abnormal cervical screening results. *J Clin Virol* 2009; 45 (suppl 1): S3-S12.

Cox JT, Cuzick J. HPV-DNA testing in cervical cancer screening: from evidence to policies. *Gynecol Oncol*. 2006; 103(1):8-11.

Cuschieri KS, Cubie HA. The role of human papillomavirus testing in cervical screening. *J Clin Virol*. 2005. Vol 32, Supplement , S 34-42.

Cuzick J; Sasieni P; Davies P; Adams J; Normand C; Frater A et al. A systematic review of the role the human papillomavirus testing with a cervical screening programme. *Health Technol Assess*; 1999, 3(14), 214 p

Cuzick J, Clavel C, Petry K, Meijer C, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; 119: 1095-101.

Cytryn A, Russomano FB, Camargo MJ, Zardo LM, Horta NM, Fonseca Rde C, Tristão MA, Monteiro AC. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia grades II/III and cervical cancer in patients with cytological diagnosis of atypical squamous cells when high-grade intraepithelial lesions (ASC-H) cannot be ruled out. *Sao Paulo Med J.* 2009;127 (5):283-7.

De Boer MA, Peters LA, Aziz MF, Siregar B, Cornain S, Vrede MA, Jordanova ES, Fleuren GJ. Human papillomavirus type 18 variants: histopathology and E6/E7 polymorphisms in three countries. *Int J Cancer.* 2005 Apr 10;114(3):422-5. Erratum in: *Int J Cancer.* 2005 May 10; 114(6):1016

Delgado G, Bundy B, Zaino R, Sevin BU, Creasman WT, Major F. Prospective surgical pathologic study of disease-free interval in patients with stage IB squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. 1990, *Gynecol Oncol* , 38, 352-357.

Del Mistro, L Chieco Bianchi. HPV-related neoplasias in HIV-infected individuals. *Eur J Cancer* .Vol 37, (10), July 2001, Pages 1227-35.

Denton, A.S, Bond, S.J, Matthews, S., Bentzen, S.M., & Maher, E.J. (2000) National audit of the management and outcome of carcinoma of the cervix treated with radiotherapy in 1993. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*, 12, 347-353.

de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004, 324:17-27.

de Vuyst, H. et al. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. *Int J Cancer*. 2009; 124: 1626-36.

Duarte HG, Romero JA, Schmalbach JE. Association between the cervico-vaginal inflammatory cytology and the intraepithelial cervical lesion in patients from a sexual and reproductive health clinic in Bogotá, Colombia, 1999-2003. *Rev Salud Publica (Bogotá)*. 2004 Sep-Dec; 6(3):253-69.

Ervin A. *et al.* Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am J ObstetGynecol*, 2000; 182:257-264.

Fagundes H, Perez CA, Grigsby PW, Lockett MA. Distant metastases after irradiation alone in carcinoma of the uterine cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1992;24(2):197-204.

Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. *Virus Taxonomy: The Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. 2005. Academic Press, 1162 pp. Elsevier.

FDA. FDA Approves Expanded Use of HPV Test. P03-26. March 31, 2003.

URL: <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2003/NEW00890.html>

FEBRASGO, Manual de Orientação Trato Genital Inferior, 2010 (Neoplasia Intra-epitelial cervical tratamento), pag.167; disponível no site: <HTTP\\www.febrasgo.org.br>.

Flores Y; Bishai D; Lazcano E; Shah K; Lorincz A et al. Improving cervical cancer screening in Mexico: Results from the Morelos HPV Study. *Salud Publica Mex*, 2003, 45 (Supl. 3): S388-398

Franco EL, Harper DM. Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control. *Vaccine*. 2005 Mar 18;23(17-18):2388-94.

Garland SM, Skinner SR, Brotherton JM. Adolescent and young adult HPV vaccination in Australia: achievements and challenges. *Prev Med.* 2011 Oct 1;53 Suppl 1:S29-35.

Gatta, G., Lasota, M.B., & Verdecchia, A. (1998) Survival of European women with gynaecological tumours, during the period 1978-1989. EUROCCARE Working Group. *Eur. J. Cancer*, 34, 2218-2225.

Greer CE, Wheeler CM, Ladner MB, Beutner K, Coyne MY, Liang H, et al. Human papillomavirus (HPV) type distribution and serological response to HPV type 6 virus-like particles in patients with genital warts. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(8):2058–2063

Gissmann L, zur Hausen H. Partial characterization of viral DNA from human genital warts (*Condylomata acuminata*). *Int J Cancer.* 1980, 25 (5): 605-609.

Gissmann L, zur Hausen H. Human papillomavirus DNA: physical mapping and genetic heterogeneity. *Proc Natl Acad Sci*, 1976, 73:1310-1313.

Goodman A, Wilbur DC. Case records of the Massachusetts General Hospital. Weekly clinicopathological exercises. Case 32-2003. A 37-year-old woman with atypical squamous cells on a Papanicolaou smear. *N Engl J Med.* 2003 Oct 16;349(16):1555-64.

Gross GE, Barrasso R. Infecção por papillomavírus humano. Atlas clínico de HPV. Porto Alegre: Artmed, 1999.

Hakama M. Implications of screening on the biology of cervical cancer. *Nowotwory.* 1986 Jan-Mar; 36(1):1-5.

Harper DM; Hildesheim A; Cobb JL et al. Collection devices for human papillomavirus. *J Fam Pract*, 1999, 48 (7): 531-5.

Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman M E, Hutchinson M, Morales J, Balmaceda I, Greenberg M D, Alfaro M, Burk R D, Wacholder S, Plummer M, Schiffman M. Population-Based Study of Human Papillomavirus Infection and

Cervical Neoplasia in Rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* (2000) 92 (6): 464-474.

Herod, JJ. et al. Vulvar intraepithelial neoplasia with superficially invasive carcinoma de vulva. *Br J Obstet Gynecol*. 1996;103:453-6.

Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Romney S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Nat Cancer Inst*. 1995; 87:1365-71.

Ho GYF, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338: 423-8.

Holmes KK, Levine R, Weaver M. Effectiveness of condoms in preventing sexually transmitted infections. *Bull World Health Organ* 2004;82:454-61.

Howley PM, Lowy DR. Papillomaviruses. In: Knipe D M, Howley P M, Griffin D E, Lamb R A, Martin M A, Roizman B, Straus S E (ed). *Fields Virology*, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Huang SZ, Sheng M, Zhao JQ, Qiu XK, Zeng YT, Wang QS, HE MX, Zhu JM, Liu WP, Li WW. Detection of Sicke cell gene by analysis of amplified DNA sequences. *Yi Chuan Xue Bao* 1989,16: 475-82.

IARC. Human Papillomaviruses. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 1995, Vol 64:1-378.

IARC. Human Papillomaviruses. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 2007. Vol 90:1-636.

INCA (Brasil). Coordenação de Prevenção e Vigilância. 2006. Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais e Condutas Preconizadas – Recomendações para profissionais de saúde. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 2006; 52(3): 213-236. Disponível no endereço: <http://www.inca.gov.br>.

INCA, 2010. Instituto Nacional do Câncer (Brasil), Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção a Saúde. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativas 2010: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro 2010. Disponível no endereço: <http://www.inca.gov.br>

Kosary, C.L. FIGO stage, histology, histologic grade, age and race as prognostic factors in determining survival for cancers of the female gynecological system: an analysis of 1973-87 SEER cases of cancers of the endometrium, cervix, ovary, vulva, and vagina. *Semin. Surg. Oncol.* 1994, 10, 31-46.

Koutsky LA, Ault KA, Wheeler CM, et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. *N Engl J Med* 2002;347:1645-1651

Lima, BMC, Golup EJ, Mattos TA, Freitas LB, Spano LC, Miranda AE. Human Papillomavirus in women with and without HIV 1 infection attending in STI clinic in Vitoria, Brazil. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)*. 2009; 8(5) 286-90.

LANL-Los Alamos National Laboratory, US 1997. <http://hpv-web.lanl.gov>. HPV Sequence Database. HPV Compendium part I, p. 1-7.

Lu CH, Liu FS, Kuo CJ, Chang CC, Ho ES. Prediction of persistence or after conization for cervical intraepithelial neoplasia III. *Obstet Gynecol* 2006; 107:830-835.

Jones, RW. Rowan, DM. Spontaneous regression of vulvar intraepithelial neoplasia 2-3. *Obstet Gynecol.* 2000; 96:470-2.

Kjaer S et al. A pooled Analysis of Continued Prophylact Efficacy of quadrivalent Human Papillomavirus (Types 6\11\16\18) Vaccine against High-grade Cervical and external genital lesions. *Cancer Prev Res* 2009, 2: 868-878.

Koliopoulos G, Arbyn M, Martin-Hirsch P, Kyrgiou 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. *Gynecol Oncol* 2007; 104:232-46.

Laimins LA. Human papillomaviruses target differentiating epithelium for virion production and malignant conversion. *Semin Virol* 1996, 7: 305-313.

Law CL, Thompson CH, Rose BR, Cossart YE. Anal intercourse: a risk factor for anal papillomavirus infection in women? *Genitourin Med.* 1991 Dec, 67(6): 464-8.

Lorenzato F, Ho L, Terry G, Singer A, Santos LC, De Lucena Batista R, Lubambo T. The use of human papillomavirus typing in detection of cervical neoplasia em Recife (Brazil). *Int j Gynecol Cancer*, 2000, 10(2):143-150.

Mac Donald N, Wong T. Canadian guidelines on sexually transmitted infections, 2006. *CMAJ.* 2007 Jan 16; 176(2):175-6.

Maciag PC, Villa LL. Genetic susceptibility to HPV infection and cervical cancer. *Bras J Med Biol Res.* 1999 ,32(7): 915-922.

Medical Services Advisory Committee (MSAC). *Human papillomavirus testing for cervical screening.* Assessment report, MSAC, Austrália, May 2003, 75 p.In: <http://www.msac.gov.au/>

Ministério da Saúde, Instituto nacional do Câncer (INCA). Diretrizes Brasileiras para rastreamento do câncer do colo uterino. Rio de Janeiro 2011. <http://www.inca.gov.br>.

Mohan S, Ind T. Cervical screening in England and Wales: an update. *Curr Opin Obstet Gynecol.*2004 Dec;16(6):491-6.

Molijn A, Kleter B, Quint W, Van Doorn Lj. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*, 2005, 32: S43-51.

Muñoz N, Human papillomavirus and cancer: The epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2000, 19: 1-5.

Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer *N Engl J Med.* 2003; 348: 518–527.

Olsson et al. Induction of immune memory following administration of a prophylact quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6\11\16\18 L1 virus like particle (VLP) vaccine. *Vaccine*. 2007 jun 21, 25 (26):4931-9.

Paavonen J, Halttunen M, Hansson BG, Nieminen P, Rostila T, Letinen M. Prerequisites for human papillomavirus vaccine trial: results of feasibility studies. *J Clin Virol*, 2000, 19(1-2): 25-30.

Palefsky J. Efficacy of the quadrivalent vaccine against external genital lesions due to 14 HPV types in men (SS18-5) and quadrivalent HPV vaccine efficacy against anal intraepithelial neoplasia in men having sex with men(SS19-2). Presented at EUROGIN 2010, 20 fev.

Passos MRL, Almeida Filho GL. Atlas de DST e Diagnóstico diferencial, 2011. Revinter, Rio de Janeiro. Pag 211-12

Pecorelli S, Figliani L, Odicino F. Revised FIGO staging for carcinoma of the cervix. *Int J Gynecol Obst* 2009; 105:107-8.

Pereira CR, Rosa ML, Vasconcelos GA, Faria PC, Cavalcanti SM, Oliveira LH. Human papillomavirus prevalence and predictors for cervical cancer among high-risk women from Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Gynecol Cancer*. 2007 May-Jun; 17(3):651-60.

Peto J, C Gilham, J Deacon, C Taylor, C Evans, W Binns, M Haywood, N Elanko, D Coleman, R Yule, M Desai. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer*. 2004 August 31; 91(5): 942–953.

Petry KU, Scheffel D, Bode U, et al. Cellular immunodeficiency enhances the progression of papillomavirus-associated cervical lesions. *Int J Cancer*, 1994, 57: 836-840.

Pinto AP, Baggio HCC, Guedes GB. Sexually-transmitted viral diseases in women: clinical and epidemiological aspects and advances in laboratory diagnosis. 2005. *Braz J Infect Dis*, 9(3): 241-250.

Quinn M, et al. Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ*. 1999; 318; 904.

Raposo LM, Velasque L, Luz PM, Friedman RK, Cytryn A, Andrade AC, Vanni T, Brasil PE, Russomano F, Veloso VG, Grinsztejn B, Struchiner CJ. Desempenho do exame citológico e da captura híbrida II no rastreamento de lesões intra-epiteliais escamosas de alto grau em mulheres HIV+ . *Cad Saude Publica*. 2011; 27(7):1281-91.

Rohan T, Mann V, McLaughlin J, Harnish DG, Yu H, Smith D, Davis R, Shier RM, Rawls W. PCR-detected genital papillomavirus infection: prevalence and association with risk factors for cervical cancer. *Int J Cancer*. 1991 Dec 2; 49(6) 856-60.

Rohan TE; Burk RD; Franco EL. Toward a reduction of the global burden of cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol*, 2003; 189(4 Suppl): S37-9.

Sadugor MG, Palmer JP. Age, incidence, and distribution of 4,652 cases of carcinoma of the cervix. *Am J Obstet Gynecol*. 1948; 56:680-6.

Sanjosé S, Muñoz N, Bosch FX, Reimann K, Pedersen NS, Orfila J, Ascunce N, Gonzalez LC, Tafur L, Gili M et al. Sexually transmitted agents and cervical neoplasia in Colombia and Spain. *Int J Cancer*, 1994, 56(3): 358-363.

Sankaranarayanan R, Wesley R, Somanathan T, Dhakad N, Shyamalakumary B, Amma S, ParkinDM, Nair NK. Performance of visual inspection after acetic acid application (VIA) in the detection of cervical cancer precursors. 1998, *Cancer*, 83, 2150-56

Sankaranarayanan R, Shastri SS, Basu P, Mahé C, Mandal R, Amin G, Roy C, Muwonge R, Goswami S, Das P, Chinoy R, Frappart L, Patil S, The role of low-level magnification in visual inspection with acetic acid for the early detection of cervical neoplasia. *Cancer Detect Prev*, 2004, 28(5): 354-51.

Schneider A. natural history of genital papillomavirus infections. *Intervirology*, 1994, 37(3-4): 201-214.

Smith JS, Robinson NJ. Age specific prevalence on infection with herpes simplex virus types 2 and 1: a global review. *J Infect Dis* 2002; 186: 23-28.

Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, Castellsagué X, Meeijer CJ, Van den Brule AJ, Franceschi S, Ashley R; IARC. Multicentric cervical cancer study group. Herpes simplex virus -2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(21): 1604-1613.

Solomon D et al. Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002; 287(16):2114-9.

Stanley, M et al. Chapter 12; Prophylact HPV vaccines: underlying mechanisms. *Vaccine*. 2006;24. Suppl.3:s3\106-13.

Stone KM, Karem KL, Sternberg MR, et al. Seroprevalence of HPV16 in the United States, 1991-1994. Presented at the 18th International Papillomavirus Conference, Barcelona, Spain, July 23–28, 2000.

Stubenrauch F, Laimins LA. Humans papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Semin Cancer Biol* 1999, 9: 379-386.

Syrjänen KJ, Syrjänen SM. Papillomavirus infections in human pathology. New York. John Wiley & Sons LTD, 2000.

Thomas L. Contributions of imaging to radiation therapy planning for uterine cervix carcinoma. *Cancer \Radiotherapie* volume 4, Issue 2, 2000, pages 127-32.

Trotier H, Franco EL. Human papillomavirus and cervical cancer: Burden of illness and basis for prevention. *Am J Manag Care* 2006;12(17 Suppl): S462-72.

UICC (2002). *Classificação TNM de tumores malignos*. Sexta ed. John Wiley & Sons: New York. TNM está disponível no endereço <http://www.uicc.org>

van de Nieuwenhof, HP. et al. Vulvar squamous cell carcinoma development after diagnosis of VIN increases with age. *Eur J Cancer*. 2009; 45:851-6.

Van Bergen J, Gotz H, Richardus J, Hoebe C, Broer J, Coenen A. Prevalence of urogenital *Chlamydia trachomatis* increases significantly with level of urbanization and suggests targeted screening approaches: results from the first national population based study in the Netherlands. *Sex Trans Infect*. 2005; 81: 17– 23.

Van Seters, M, van Beurden M, de Craen AJ. Is the assumed natural of vulvar intraepithelial neoplasia III based on enough evidence? A systematic review of 3322 published patients. *Gynecol Oncol*. 2005;97: 645-651.

Vargas PRM. Diagnóstico Histológico das Neoplasias Escamosas Intraepiteliais e Invasivas. *Câncer do Colo do útero*. São Paulo, Tecmedd, 2008; 321-39.

Villa LL. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Adv Cancer Res*, 1997, 71: 321-41.

Walker P, Dexeus S, De Palo G, Barrasso R, Campion M, Girardi F, et al. 2003. International terminology of Colposcopy: An update Report from the International Federation for cervical Pathology and Colposcopy: *Obstet Gynecol*. 101(1): 175-177.

Wang SS, Schiffman M, Shields TS, Herrero R, Hildesheim A, Bratti MC, et al. Seroprevalence of human papillomavirus-16, -18, -31, and -45 in a population-based cohort of 10,000 women in Costa Rica. *Br J Cancer*. 2003; 89(7):1248– 1254.

Weller S, Davis K. Condom effectiveness in reducing heterosexual HIV transmission. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002; 1: CD003255.

Wilson J, Honey E, Templeton A, et al. EU Biomed Concerted Action Group. A systematic review of the prevalence of *Chlamydia trachomatis* among European women. *Hum Reprod Update*. 2002;28:385–394.

Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: rates and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003;157:218-226 [Erratum, *Am J Epidemiol* 2003;157:858.]

Winer RL, Hughes JP, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat NB, Holmes KK, Koutsky LA, Condom Use and the Risk of Genital Human Papillomavirus Infection in Young Women. *N England J Med*, June 22, 2006 vol. 354 n°. 25; pag: 2645-54.

Winkelstein W Jr. Smoking and cancer of the uterine cervix: hypothesis. *Am J Epidemiol*. 1977 Oct; 106(4):257-9.

Xi LF, Kiviat NB, Wheeler CM, Kreimer A, Ho J, Koutsky LA. Risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 after loop electrosurgical excision procedure associated with human papillomavirus type 16 variants. *J Infect Dis*. 2007 May 1; 195(9):1340-4.

World Health Organization (WHO). Prevention and control of sexually transmitted infections: draft global strategy. Disponível em: http://www.who.int/reproductive-health/docs/stis_strategy.pdf. Acessado 6 de abril, 2011.23. Increasing Chlamydia positivity.

World Health Organization (WHO). ICO Information Centre on Human Papilloma Virus (HPV) and Cervical Cancer. Human papillomavirus and related cancers in Brazil. Disponível em: www.who.int/hpvcentre. Acesso em: 20 out. 2011. (Summary Report 2010).

Zenilman JM, Weisman CS, Rompalo AM, et al. Condom use to prevent incident STDs: the validity of self-reported condom use. *Sex Transm Dis* 1995; 22:15-21.

zur Hausen H. Human papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer* 2002, 2: 342-350.

zur Hausen H. Papillomavirus infections a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Oct 9;1288(2):F55-78. Review

10. Apêndice

Apêndice 1: Classificações cito-histopatológicas utilizadas no Brasil

Classificação citológica de Papanicolaou (1941)	Classificação histológica da OMS (1952)	Classificação histológica de Richart (1967)	Classificação Citológica Brasileira (2006)
Classe I	-	-	-
Classe II	-	-	Alterações benignas
-	-	-	Atipias de significado indeterminado
Classe III	Displasia leve	NIC I	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL)
	Displasia moderada e acentuada	NIC II e NICIII	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL)
Classe IV	Carcinoma <i>in situ</i>	NIC III	HSIL AIS
Classe V	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor

Fonte: INCA, 2006

Apêndice 2:

Nomenclatura IFCPC 2011

Presidente do Comitê de Nomenclatura: Dr. Jacob Bornstein

Terminologia colposcópica do colo uterino IFCPC 2011¹			
Avaliação Geral	<ul style="list-style-type: none"> • Colposcopia adequada ou inadequada (especificar o motivo sangramento, inflamação, cicatriz, etc) • Visibilidade da junção escamocolunar: completamente visível, parcialmente visível e não visível • Zona de transformação Tipo 1, 2 ou 3 		
Achados colposcópicos normais	Epitélio escamoso original <ul style="list-style-type: none"> • Maduro • Atrófico Epitélio colunar <ul style="list-style-type: none"> • Ectopia Epitélio escamoso metaplásico <ul style="list-style-type: none"> • Cistos de Naboth • Orifícios (glândulas) abertos Decidua na gravidez		
Achados colposcópicos anormais	Princípios gerais	Localização da lesão : Dentro ou fora da ZT e de acordo com a posição do relógio Tamanho da lesão : Número de quadrantes do colo uterino envolvidos pela lesão e tamanho da lesão em porcentagem do colo uterino	
	Grau 1 (Menor)	Epitélio acetobranco tênue, de borda irregular ou geográfica	Mosaico fino, Pontilhado fino
	Grau 2 (Maior)	Epitélio acetobranco denso, Acetobranqueamento de aparecimento rápido, orifícios glandulares espessados	Mosaico grosseiro, Pontilhado grosseiro Margem demarcada, Sinal da margem interna Sinal da crista (sobrelevado)
	Não específico	Leucoplasia (queratose, hiperqueratose), erosão, captação da solução de lugol: positiva (corado) ou negativa (não corado) (teste de Schiller negativo ou positivo)	
Suspeita de invasão	Vasos atípicos Sinais adicionais: vasos frágeis, superfície irregular, lesão exofítica, necrose, ulceração (necrótica), neoplasia tumoral/grosseira.		
Miscelânea	Zona de transformação congênita, condiloma, pólipos (ectocervical/endocervical), inflamação, estenose, anomalia congênita, seqüela pós-tratamento, endometriose.		

Bornstein J, Bentley J, Bosze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, Perrotta M, Prendiville W, Russell P, Sideri M, Strander B, Torne A, Walker P. 2011 IFCPC colposcopic nomenclature. In preparation for publication

Apêndice 3: Estadiamento FIGO 2009.

Estádios

0	Carcinoma in situ (carcinoma pré-invasor)
I	Carcinoma da cérvix confinado ao útero (extensão ao corpo deve ser desprezada)
IA	Carcinoma invasor, diagnosticado somente pela microscopia. Todas as lesões visíveis macroscopicamente – mesmo com invasão superficial – são Estádio IB
IA1	Invasão estromal de até 3 mm em profundidade e 7 mm ou menos de extensão horizontal
IA2	Invasão estromal maior que 3 mm e até 5 mm em profundidade com uma extensão horizontal de 7mm ou menos
IB	Lesão clinicamente visível, limitada ao colo, ou lesão microscópica maior que IA2.
IB1	Lesão clinicamente visível com 4cm ou menos em sua maior dimensão
IB2	Lesão clinicamente visível com mais de 4 cm em sua maior dimensão
II	Tumor que invade além do útero, mas não atinge a parede pélvica ou o terço inferior da vagina
IIA	Sem invasão do paramétrio
IIA1	Lesão clinicamente visível com 4 cm ou menos em sua maior dimensão
IIA2	Lesão clinicamente visível com mais de 4 cm em sua maior dimensão
IIB	Com invasão do paramétrio
III	Tumor que se estende à parede pélvica, compromete o terço inferior da vagina, ou causa hidronefrose ou exclusão renal
IIIA	Tumor que compromete o terço inferior da vagina, sem extensão à parede pélvica
IIIB	Tumor que se estende à parede pélvica, ou causa hidronefrose ou exclusão renal
IVA	Tumor que invade a mucosa vesical ou retal, ou que se estende além da pélvis verdadeira

Fonte: Pecorelli S, et al 2009.

Apêndice 4: Terminologia Colposcópica Barcelona 2002.

1. Achados colposcópicos normais:

- Epitélio escamoso original
- Epitélio colunar
- Zona de transformação

2. Achados colposcópicos anormais:

- Epitélio aceto-branco plano
- Epitélio aceto-branco dens
- Mosaico fino
- Mosaico grosseiro
- Pontilhado fino
- Pontilhado grosseiro
- Iodo parcialmente positivo
- Iodo negativo
- Vasos atípicos

3. Alterações colposcópicas sugestivas de câncer invasivo

4. Colposcopia insatisfatória

- Junção escamocolunar não visível
- Inflamação severa
- Atrofia severa
- Trauma
- Cérvix não visível

5. Miscelânea

- Condiloma
- Queratose
- Erosão
- Inflamação
- Atrofia
- Decidua
- Pólipo

Características específicas

Características colposcópicas sugestivas de alterações metaplásicas:

1. Superfície lisa com vasos finos, de calibre uniforme.
2. Alterações aceto-brancas leves.
3. Área iodonegativa ou parcialmente positiva com solução de Lugol.

Características colposcópicas sugestivas de alterações de baixo grau (alterações menores):

1. Superfície lisa com borda externa irregular.
2. Alteração aceto-branca leve, que aparece lentamente e desaparece rapidamente.
3. Área iodonegativa, frequentemente com parcial captação de iodo.
4. Pontilhado fino e mosaico fino regular.

Características colposcópicas sugestivas de alterações de alto grau (alterações maiores):

1. Superfície lisa com borda externa bem marcada.
2. Alteração aceto-branca densa, que aparece rapidamente e desaparece lentamente, podendo apresentar um branco nacarado que lembra o de ostra.
3. Área iodonegativa (coloração amarelo-mostarda) em epitélio densamente aceto-branco.
4. Pontilhado grosseiro e mosaico de campos largos e irregulares e de tamanhos diferentes.
5. Aceto-branqueamento denso no epitélio colunar pode indicar doença glandular.

Características colposcópicas sugestivas de câncer invasivo:

1. Superfície irregular, erosão, ou ulceração.
2. Aceto-branqueamento denso.
3. Pontilhado grosseiro e irregular e mosaico grosseiro de campos largos desiguais.
4. Vasos atípicos.

Fonte: IFPCPC. Disponível em www.colposcopy.org.br

11. ANEXOS

Anexo 1: QUESTIONÁRIO

Número do prontuário :

Bairro/Município de Residência :

Naturalidade :

USO DE CIGARROS E DROGAS

Você fuma? 1. sim 2. Não

Quantos cigarros?

1. Irregularmente, de tempo em tempo 2. Menos de 5 cigarros por dia
 3. De 5 à 20 cigarros por dia 4. Mais de de 20 cigarros por dia (mais de um maço)

Se não, você já fumou?

1. Sim, 1 ou 2 vezes 2. Sim, regularmente 3. Não, nunca

Durante a semana que passou, você bebeu alguma bebida alcoolica (cerveja, vinho, aperitivos, etc)?

1. Não 2. Uma vez 3. Várias vezes 4. Ficou bêbada

Você utiliza algum medicamento do tipo?

1. Para dormir 2. Para ansiedade e stress 3. Antidepressivos

4. Excitantes 5. Não Se sim, qual? _____

Você já utilizou algum outro tipo de droga?

1. Não 2. Cola, éter 3. Cocaina 4. Crack 5. Remédios 6. Outras _____

Você já utizou droga injetável ?

1. Sim 2. Não 3. NR

INFORMAÇÃO CONTRACEPTIVA

Você utiliza algum método contraceptivo?

1. Pilula 2. Preservativo 3. DIU 4. Muco cervical/billings 5. Temperatura
 6. Tabela

7. Diafragma 8. Pilula do dia seguinte 9. Preservativo feminino 10. Não

Você e seu parceiro utilizam preservativos ? 1. Sim 2. Não

Se sim, com que frequência vocês fazem uso do preservativo ?

1. sempre 2. Às vezes 3. Raramente 4. Nunca

HISTORIA SEXUAL E REPRODUTIVA

Qual era sua idade quando você teve a primeira relação sexual? |_|_| anos

Qual era a idade de seu parceiro/a? |_|_| anos

Você tem ou já teve relação sexual anal ? 1. Sim 2. Não 3. NR

Você já teve relação sexual com outra mulher ? 1. Sim 2. Não 3. NR

Em média, quantas relações você tem (ou tinha) por semana? |_|_|_|

Quantos parceiros sexuais masculinos você já teve na vida? |_|_|_|

Quantos parceiros sexuais masculinos você teve nos últimos 12 meses? |_|_|_|

Você já engravidou?

1. Nunca 2. Uma vez 3. Várias vezes

Se sim, qual era sua idade na primeira gravidez ? |_|_| anos

Número : filhos () Abortos espontâneos () Abortos provocados ()

Você está grávida? 1. sim 2. Não

SAUDE, DST E AIDS

Qual foi a última vez que você fez exame ginecológico (preventivo) ?

Você sabe dizer se você já teve alguma doença transmitida sexualmente ? 1. Sim 2. Não

Se sim, qual ? _____-

Como você descobriu essa doença/infeção ?

1. Seu parceiro lhe disse que estava infectado
2. Você apresentou sintomas que a levaram procurar um serviço de saúde
3. Durante uma consulta de rotina ou por outro motivo

Na ocasião dessa doença você procurou

1. Ninguém 2. Um médico/ Unidade do PSF 3. Uma farmácia 4. Serviço de DST
 Você avisou a seu parceiro que você tinha uma DST ? 1. Sim 2. Não

Após o diagnóstico da DST você utilizou mais frequentemente o preservativo ?

1. Sim 2. Não

Após o diagnóstico da DST você reduziu sua atividade sexual? 1. Sim 2. Não

Você saberia dizer se seu parceiro : 1. Tem outras parceiras 2. Usa drogas 3. Já esteve preso

4. História de DST 5. É HIV positivo 6. Outras _____

Você já fez o teste anti-HIV ? 1. Sim 2. Não

Se sim, quando ?

1. Por iniciativa própria
2. Durante uma hospitalização
3. Durante o pré-natal
4. Durante atendimento em clínica DST
5. Em outras circunstâncias

Você tem algum dos seguintes sintomas ?

1. Dor pélvica 2. Sangramentos genitais frequentes 3. Coceiras na vagina 4. Corrimentos
5. Adenopatia inguinal (inguas na virilha) 6. Ardência ao urinar 7. Ferida genital
8. Outras : _____

RESULTADOS EXAMES:

Citologia :

Colposcopia :

Biópsia de colo:

Captura híbrida para Chlamydia:

Captura híbrida para HPV:

Observações:

Anexo 2: Aprovação Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 05 de novembro de 2009.

Da: Profa. Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof^a. Angélica Espinosa Barbosa Miranda
Pesquisadora Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **"Lesões cervicais precursoras de câncer colo uterino e associação com papilomavírus humano, vírus associado ao adenovírus e chlamydia trachomatis em mulheres atendidas no ambulatório de patologia cervical do hospital universitário Cassiano Antônio de Moraes"**.

Senhora Pesquisadora,

Informamos a Vossa Senhoria que, o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa registrado no CEP com o nº **086/09**, intitulado: **"Lesões cervicais precursoras de câncer colo uterino e associação com papilomavírus humano, vírus associado ao adenovírus e chlamydia trachomatis em mulheres atendidas no ambulatório de patologia cervical do hospital universitário Cassiano Antônio de Moraes"** e o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido acima, em Reunião Ordinária realizada em 04 de novembro de 2009.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra "c".

Atenciosamente,

Prof^a Dr^a Ethel Leonor Noia Maciel
COORDENADORA
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Ciências da Saúde/UFES