

**FERNANDA ERCI DOS SANTOS**

**Identificação do papilomavírus humano em  
gestantes adolescentes por meio da captura híbrida II:  
correlação com a colpocitologia oncótica convencional,  
em base líquida e colposcopia**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Obstetrícia e Ginecologia  
Orientador: Dr. Waldemir Washington Rezende

**São Paulo**

**2006**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Santos, Fernanda Erci dos

**Identificação do papilomavírus humano em gestantes adolescentes por meio da captura híbrida II : correlação com a colpocitologia oncótica convencional, em base líquida e colposcopia** / Fernanda Erci dos Santos. -- São Paulo, 2006.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Obstetrícia e Ginecologia.

Área de concentração: Obstetrícia e Ginecologia.

Orientador: Waldemir Washington Rezende.

Descritores: 1.PAPILOMAVÍRUS 2.GRAVIDEZ 3.ADOLESCENTE  
4.TÉCNICAS CITOLÓGICAS 5.TÉCNICAS COM DOIS SISTEMAS HÍBRIDOS  
6.COLPOSCOPIA

USP/FM/SBD-014/06

A felicidade é muito mais um jeito de ir do que um lugar aonde se chega!

Ed René Kivitz

## **Dedicatória**

---

---

Aos **amigos** de ontem, hoje e sempre!

Ao inseparável companheiro **Nick**, com todo meu amor!

## **Agradecimentos especiais**

---

---

Ao **Professor Doutor Marcelo Zugaib**, responsável agregador da melhor clínica obstétrica do país por me permitir integrar seu grupo, pelo marido atento, incentivador e por acrescer meu trabalho com pinceladas de seu talento.

Ao amigo **Doutor Waldemir Washington Rezende**, pelo apoio, companheirismo, paciência e também pelo privilégio de tê-lo como orientador deste trabalho .

À **Dra. Elsa Aida Gay de Pereyra**, responsável primeira pelo meu aprendizado e interesse em colposcopia e patologia do trato genital inferior e também pelo seu carinho no trato de nossa grande amizade.

## **Agradecimientos**

---

---



À **Dra. Filomena Marino Carvalho**, professora associada da Patologia, por abrir os caminhos para a realização da citologia em base líquida e permitir com isso o desenvolvimento deste trabalho e adquirirmos visão crítica desta técnica.

À **Dra. Carla Guerra Martins Kemp**, por toda dedicação e cuidado no preparo e leitura das lâminas citológicas, demonstrando conhecimento e capacidades ímpares.

Ao **Dr. Antonio de Pádua Gomes da Silva**, professor do departamento de Patologia da Universidade Católica do Paraná, pelo apoio, dedicação e ensinamentos.

Ao **Prof. Dr. Venâncio Avancini Ferreira Alves**, professor titular do departamento de Anatomia Patológica do HCFMUSP, por nos dedicar momentos tão caros e valiosos e de maneira tão carinhosa.

Ao **Dr. Marco Aurélio Knipel Galletta** e **Dra. Adriana Lippi Weissman**, responsáveis pela excelência no atendimento a esse grupo especial de gestantes e pela credibilidade a mim concedida para fazer parte deste grupo.

Aos meus **amigos do HU-USP**, pela valiosa compreensão e ajuda.

Ao meu amigo **Carlos Maganha**, por todo incentivo ao meu crescimento profissional.

À amiga **Camila Helena Sula**, pelo constante incentivo, e colaboração.

Aos meus amigos, **Dr. Pedro Paulo Pereira**, **Dra. Elsa Aida Gay de Pereyra** e **Dra. Rossana P. V. Francisco**, pelas sugestões a essa dissertação, durante o exame de qualificação.

Aos meus queridos amigos e sócios **André Luis Malavasi Longo**, **Alexandre Wan How Tsai** e **Marcelo Graziano Custódio**, pela compreensão e por todo incentivo a minha vida e a minha carreira.

À senhora **Inêz Muras Fuentes Jazra**, secretária da pós-graduação da Disciplina de Obstetrícia da USP, pela sua amizade e competência no auxílio aos pós-graduandos.

Aos queridos amigos **Alan Garcia da Silva**, **Leandro Bertanha** e **Ricardo Tavares**, pela ajuda com a informática.

Aos **funcionários do ambulatório da clínica obstétrica**, toda minha gratidão pelo apoio que me foi dado.

A todos os **residentes da clínica obstétrica do HCFMUSP**, com quem tive grande oportunidade de conviver.

Às secretárias da Obstetrícia e Ginecologia do HU-USP Srta. **Elisa Amaral** e **Anie Aparecida Bernabé Moreira**, por todo auxílio na informática e nas questões da vida pessoal que me permitiram ganhar mais tempo para dedicar-me a este trabalho.

Ao **Dr. Adolfo Liao**, pela ajuda com seu irretocável inglês.

À amiga **Marília Franco**, por dividir comigo momentos especiais da vida.

Ao amigo **Ricardo Heiss**, presença constante na minha vida e decisões acertadas.

À amiga **Maria Delizete Bentivegna Spallicci**, pelo aconhego de sua dedicada amizade.

À **medicina**, que me trouxe tudo de bom que tenho.

Às **minhas queridas gestantes**, motivo maior deste trabalho.

À **minha família**, pelo que sou hoje, fruto do incentivo e apoio que sempre dedicaram aos meus projetos.

Esta dissertação ou tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## **Sumário**

---

---

	página
Lista de abreviaturas e siglas .....	xvi
Lista de gráficos .....	xvii
Lista de tabelas .....	xviii
Resumo .....	xx
<i>Summary</i> .....	xxii
1 Introdução .....	1
2 Objetivos .....	21
3 Métodos .....	23
3.1 Casuística .....	24
3.1.1 Critérios de inclusão .....	25
3.1.2 Critérios de Exclusão .....	25
3.2 Coleta de dados .....	26
3.2.1 Colpocitologia oncótica convencional e em base líquida .....	27
3.2.2 Captura híbrida para HPV Grupo II .....	29
3.2.3 Colposcopia .....	34
3.3 Análise estatística .....	36
4 Resultados .....	37
5 Discussão .....	50
6 Conclusões .....	66
7 Anexos .....	69
8 Referências .....	85

## **Listas**

---

---

## Lista de abreviaturas e siglas

ACOG	American College of Obstetrician and Gynecology
ALTS	The ASCUS and LSIL Triage Study
ASC-US	células atípicas de significado indeterminado
CCO	colpocitologia oncótica
CCO-BL	colpocitologia oncótica em base líquida
CCO-C	colpocitologia oncótica convencional
CH II	captura híbrida II
DNA	ácido desoxirribonucléico
DST	doenças sexualmente transmissíveis
FDA	Food and Drug Administration
HPV	papilomavírus humano
IARC	International Agency for Research on Cancer
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LIE-AG	lesão intra-epitelial de alto grau
LIE-BG	lesão intra-epitelial de baixo grau
NIC	Neoplasia Intra-epitelial Cervical
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	reação em cadeia de polimerase
SES	Secretaria de Estado da Saúde



## Lista de Gráficos

	página
Gráfico 1 - Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da captura híbrida II – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	38
Gráfico 2 - Distribuição das 60 gestantes quanto ao resultado da colpocitologia oncótica –CCO-C- HCFMUSP março de 2004 a fevereiro de 2005 .....	39
Gráfico 3 - Distribuição das 60 gestantes quanto ao resultado da CCO–BL HCFMUSP março de 2004 a fevereiro de 2005 .....	40
Gráfico 4 - Distribuição segundo o resultado da colposcopia das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	41

## Lista de Tabelas

	página
Tabela 1 - Distribuição dos achados citológicos – CCO-C- das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	39
Tabela 2 - Distribuição dos achados citológicos – CCO-BL - das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	40
Tabela 3 - Distribuição Segundo os achados colposcópicos das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	41
Tabela 4 - Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da CCO–C e captura híbrida II– HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	42
Tabela 5 - Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da captura híbrida II e CCO – BL – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	42
Tabela 6 - Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da captura híbrida II e colposcopia – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	43
Tabela 7 - Resultados da estatística KAPPA para a correlação: CH II X CCO-C; CCO-BL; COLPOSCOPIA .....	43
Tabela 8 - Distribuição dos achados da CCO-BL de acordo com a CCO-C – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	44
Tabela 9 - Distribuição dos achados da colposcopia de acordo com a CCO-C – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	44
Tabela 10 - Distribuição dos achados da colposcopia de acordo com a CCO-BL – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	45
Tabela 11 - Resultado da estatística KAPPA para a correlação: CCO-C X CCO-BL; Colposcopia X CCO-C; CCO-BL X Colposcopia .....	45

Tabela 12 - Distribuição dos achados da captura híbrida II de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	46
Tabela 13 - Distribuição dos achados da CCO-C de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	46
Tabela 14 - Distribuição dos achados da CCO-BL de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	47
Tabela 15 - Distribuição dos achados colposcópicos de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005 .....	47
Tabela 16 - Resultado dos testes de associação entre a idade gestacional das adolescentes e os diferentes exames .	48
Tabela 17 - Resultados dos testes de <i>Mann-Whitney</i> para verificar diferença nos valores da captura híbrida II e os demais exames .....	48
Tabela 18 - Sensibilidade e especificidade dos exames para detecção de anormalidades .....	49
Tabela 19 - Resultados da análise conjunta dos dados .....	49

## Resumo

---

---

Santos FE. *Identificação do papilomavírus humano em gestantes adolescentes por meio da captura híbrida II: correlação com a colpocitologia oncótica convencional, em base líquida e colposcopia* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2006. 103 p.

Este estudo prospectivo foi delineado com o objetivo de identificar a presença do papilomavírus humano em gestantes adolescentes por meio da captura híbrida II e correlacionar com os achados da colpocitologia oncótica convencional, em base líquida e colposcopia. O grupo foi constituído por 60 gestantes com idade entre 12 a 18 anos e idade gestacional média de 23 semanas acompanhadas no pré-natal de adolescentes e encaminhadas ao Setor de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia da Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. As pacientes foram submetidas a anamnese, coleta de colpocitologia oncótica, captura híbrida II e colposcopia. A captura híbrida II foi positiva em 51,7%. A colpocitologia oncótica convencional foi normal em 90% e alterada em 10%. Os achados citológicos anormais foram: lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau em 8,3% e carcinoma invasor em 1,7%. A colpocitologia em base líquida foi normal em 90% e alterada em 10%. Os achados citológicos anormais foram: lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau em 8,3% e lesão intra-epitelial escamosa de alto grau em 1,7%. A colposcopia foi satisfatória em todos os casos. Os achados colposcópicos normais foram o epitélio escamoso normal em 20%, epitélio glandular em 18,3% e a zona de transformação normal em 40%. A zona de transformação anormal estava presente em 21,7% dos casos. Os resultados aqui apresentados indicam não existir concordância entre os testes e a captura híbrida II pois os valores de Kappa são muito próximos de zero. Quando os testes são comparados entre si, sem a captura híbrida II encontramos pequena concordância com valores de Kappa próximos a 0,5. Os valores da captura híbrida II para a categoria positiva somente encontram baixa significância estatística quando comparados a categoria anormal na citologia em base-líquida ( $p\text{-value}=0,030$ ). Os resultados ainda mostram serem os testes bastante específicos porém, a sensibilidade quando comparados a captura híbrida II é pequena.

Descritores: 1.PAPILOMAVÍRUS 2.GRAVIDEZ 3.ADOLESCENTE  
4.TÉCNICAS CITOLÓGICAS 5.TÉCNICAS COM DOIS SISTEMAS HÍBRIDOS 6. COLPOSCOPIA

## ***Summary***

---

---

Santos FE. *Human papillomavirus identification by hybrid capture II technique in pregnant teenagers: comparison with conventional, liquid-based Pap test and colposcopic findings* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo", 2006. 103 p.

This prospective study was designed to evaluate the identification of human papillomavirus in pregnant teenagers by hybrid capture II technique and correlate these results with conventional, liquid-based Pap test and colposcopic findings. The study group included 60 pregnant women aged between 12 and 18 years old who were being followed up for their antenatal care at the Department of Obstetrics, Hospital das Clínicas, São Paulo University Medical School. Clinical examination was carried out at a mean gestational age of 23 weeks; specimens were collected for Pap smear and hybrid capture II tests. A colposcopic examination was also performed. Hybrid capture II test for human papillomavirus was positive in 51.7% of the cases. Ninety percent of women showed a normal conventional Pap smear test and 10% had abnormal results such as: low-grade squamous intraepithelial lesion (8.3%) and inductor carcinoma (1.7%). Liquid-based Pap test was normal in 90% of patients and abnormal in 10%, which included low-grade squamous intraepithelial lesion (8.3%) and high-grade squamous intraepithelial lesion (1.7%). Colposcopic examination was satisfactory in all cases. Normal colposcopic findings included: normal squamous epithelium (20%), columnar epithelium (18.3%) and normal transformation zone (40%). Abnormal transformation zone was present in 21.7% of cases. Our results do not show a significant agreement between human papillomavirus identification by hybrid capture II technique and conventional, liquid-based Pap test or colposcopic findings (kappa values close to zero). When comparing conventional, liquid-based Pap test and colposcopic findings, there is a small degree of agreement (kappa values close do 0.5). Association between positive results for human papillomavirus identification by hybrid capture test and abnormal liquid-based Pap test was significant however weak ( $p=0.03$ ). Conventional, liquid-based Pap test and colposcopy are highly specific tests. However sensitivity is low when compared to hybrid capture II test.

Descriptors: 1.PAPILLOMAVIRUS 2.PREGNANCY 3.ADOLESCENT  
4.CYTOLOGICAL TECHNIQUES 5.TWO-HYBRID SYSTEM TECHNIQUES  
6.COLPOSCOPY

# 1 Introdução

---

---



---

A América Latina é uma das regiões do mundo onde são encontradas as mais altas taxas de incidência do câncer cervical (Parkin, 2001), juntamente com países da África Sub-Saariana, regiões sul e sudeste da Ásia (Robles et al., 2002). Este tumor ocupa o segundo lugar em frequência e é a terceira causa de mortalidade entre as mulheres (Sankaranarayanan et al., 2001). Excluindo-se o câncer de pele, é o tumor maligno de maior prevalência em mulheres na Bolívia, Equador, Paraguai, Peru, Guatemala, El Salvador, Honduras, México, Nicaragua, Venezuela e Haiti e o segundo na Argentina, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Panamá e outros países Caribenhos (Muñoz, 2004).

Infelizmente, enquanto nos países desenvolvidos observa-se declínio progressivo ao longo de mais de 40 anos, a incidência tem se mantido inalterada ou até sofrido acréscimo na maioria dos países Latino Americanos (Muñoz, 2004).

Inúmeras justificativas contribuem para essa constatação. A principal falha é a ausência de programa organizado para rastreamento populacional aliado às altas taxas de prevalência da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) (Muñoz, 2004).

---

Estudos conduzidos no Brasil, Colômbia, Paraguai e Peru mostram taxas de prevalência do HPV entre 15 e 20% das mulheres sexualmente ativas. A maioria dos casos concentra-se em duas faixas etárias: aquelas com idade inferior a 25 anos, com destaque para as adolescentes, e naquelas com idade entre 35 e 45 anos (Muñoz et al., 2003).

Em países com baixa prevalência de câncer cervical, como os Estados Unidos e alguns países da Europa, observa-se maiores taxas de infecção HPV em mulheres acima de 25 anos, seguindo-se redução progressiva até índices insignificantes em mulheres acima de 40 anos (Dell et al., 2000).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2003, foram diagnosticados mais de 470 mil casos e aproximadamente 288 mil óbitos decorrentes desta doença. Aproximadamente 80% dos casos novos ocorreram nos países em desenvolvimento, sendo 245 mil casos na Ásia, 77 mil na América Latina e 68 mil na África.

Nos Estados Unidos, a incidência dessa neoplasia foi de 10.520 casos, ocasionando 3900 óbitos em 2004 (American Cancer Society, 2004).

No Brasil, o carcinoma do colo do útero representa a quarta causa de morte por câncer nas mulheres, exceto nas regiões Nordeste e Norte onde é a neoplasia maligna mais freqüente (INCA, 2005).

A previsão para a população brasileira para o ano de 2005 é de 20.690 novos casos, representando risco estimado de 22 casos a cada 100

---

mil mulheres (INCA, 2005). Entretanto, considerando-se todas as neoplasias malignas incidentes nas mulheres, o carcinoma do colo uterino apresenta elevado potencial de prevenção e cura (Molano, 2002).

Em 1925, Dr. George Papanicolaou, avaliando células descamadas da vagina, encontrou casos de câncer cervical ainda não diagnosticados e após 16 anos, no decorrer do ano de 1941, essa técnica foi reconhecida e praticada, constituindo método diagnóstico simples, de baixo custo, com possibilidade de utilização ampla em programas de saúde estimulados e subsidiados pelos governantes (Papanicolaou, Traut, 1941<sup>1</sup> apud Waxman, 2005).

A colpocitologia oncótica (CCO) idealizada por George Papanicolaou possibilita o rastreamento do carcinoma cervical e a detecção de lesões pré-cancerosas e o tratamento precoce, resultando em queda nas taxas de mortalidade na população submetida ao rastreamento sistemático. Atualmente, a CCO é indiscutivelmente, o exame preventivo para diagnóstico do carcinoma de colo do útero com melhor relação custo-efetividade (ACOG, 1995).

Durante mais de quatro décadas, o padrão Americano para o rastreamento do câncer cervical tem sido o “esfregaço de Papanicolaou” (American Society of Cytopathology, 2005).

---

<sup>1</sup> PAPANICOLAOU, G.N.; TRAUT, H.F. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1941, v.42, 193-206.

---

Na década de 50, a introdução dos programas de rastreamento das neoplasias malignas do colo uterino e de suas lesões precursoras, utilizando a coleta da CCO em programas governamentais, determinou progressiva redução na mortalidade e na incidência desse tumor (IARC, 2000).

Mesmo com esses avanços, o carcinoma do colo uterino ainda representa importante problema de saúde pública nos países em desenvolvimento, como decorrência das dificuldades para se realizar programas de detecção adequados (Bosch et al., 1995; Franco et al., 2001).

Apesar dos resultados favoráveis e da eficiência comprovada da CCO na redução das taxas de mortalidade por câncer cervical, observam-se algumas limitações técnicas relevantes (American Society of Cytopathology, 2005): relata-se proporção significativa de resultados falsos-negativos (entre 5% e 70%) relacionados ao processo de coleta da amostra e interpretação laboratorial, contribuindo para a persistente e indesejada incidência dessa neoplasia, independente de ampla cobertura da população dos programas de rastreamento (Gay et al., 1985; Koss, 1989; Williams, 1996).

Esses resultados inadequados colocam a CCO sob suspeita de ineficácia relativa, decorrente das limitações próprias do método. As amostras não representativas ou insuficientes, o manuseio, o transporte e o preparo inadequado dos esfregaços, associados à incorreta análise da lâmina, contribuem para os resultados falsos-negativos (Ferenczy et al., 1997).

Considerando-se diferentes avaliadores, analisando as mesmas lâminas, a discordância entre os laudos varia entre 10% e 100%, provocando o questionamento da subjetividade na leitura das lâminas, independente da padronização dos laudos (Santos et al., 2003).

Por sua vez, a infecção por *Trichomonas vaginalis* ou *herpes vírus simples* podem induzir alterações celulares, mimetizando células neoplásicas e acarretando resultados falsos-positivos (Sherman et al., 1997).

A dificuldade em se distinguir reação reparadora, inflamatória e alterações induzidas pelo HPV contribui com aproximadamente 60% a 80% dos resultados inadequados. A falta de características morfológicas definidas que possibilitem a distinção entre célula inflamatória e célula neoplásica ainda persiste (Manos et al., 1999).

A descrição das alterações coilocitóticas, sugerindo a participação destas células na gênese do carcinoma de colo uterino, remonta aos relatos de Koss et al., 1956.

Posteriormente, Meisels e Fortin (1976) e Purola e Savia (1977) concluíram que o efeito citopático induzido pelo HPV corresponde aos achados descritos anteriormente por Koss.

O Sistema de Bethesda, introduzido em 1998 e atualizado em 2001, agregou informações aos conhecimentos adquiridos da história natural do câncer de colo uterino, adaptando novos conceitos e atenuando as

---

dificuldades em relação à classificação proposta por Papanicolaou (Solomon et al., 2002) (**Anexo 1**).

Apesar da inquestionável importância e eficiência do exame colpocitológico, novas propostas para aperfeiçoar o método bem como novos programas de rastreamento têm sido avaliadas (Netto et al., 2002).

Dentre as diversas alternativas apresentadas, em 1996 o *US Food and Drug Administration* (FDA) aprovou método que utiliza meio líquido para conservação e preparo do material coletado, e adequado para rastreamento populacional, aperfeiçoando a qualidade das lâminas (ThinPrep test - Cytoc Corporation, Foxborough, Mass) (Tezuka et al., 1996).

A citologia em base-líquida (CCO-BL) revelou-se importante alternativa para aperfeiçoar a sensibilidade do exame de Papanicolaou. Esta técnica transfere o material celular obtido do colo uterino para meio líquido, com a propriedade de preservar as estruturas morfológicas e moleculares, inclusive as proteínas e os ácidos nucleicos. Esse material é submetido à homogeneização, filtragem e processos técnico-laboratoriais para retirar hemácias, debris, muco e infiltrado inflamatório, possibilitando preparo da lâmina para avaliação citológica (Saslow et al., 2002).

Essa rotina possibilita obtenção de espécime com mínima espessura e uniforme, quase em monocamada e com distribuição celular homogênea na lâmina, facilitando a análise citopatológica (Lee et al., 1997).

Nessas condições, a CCO-BL pode ser considerada um aprimoramento do preparo convencional para o estudo microscópico. A identificação das lesões do colo uterino mantém o padrão morfológico atual (American Society of Cytopathology, 2005).

Em estudo de metanálise, comparando-se diagnósticos citológicos e adequação dos espécimes, Bernstein (2001) conclui que a citologia em meio líquido obtém material de melhor qualidade, facilitando análise e aperfeiçoando a acurácia diagnóstica para as lesões intra-epiteliais de alto (LIE-AG) e baixo grau (LIE-BG).

Pesquisa nacional com 3241 amostras citológicas comparou a citologia convencional com o desempenho do sistema DNACITOLOQ® (DIGENE do Brasil Ltda) e demonstrou-se incremento de 35,2% na sensibilidade para a detecção de alterações citopatológicas. A maior capacidade para detecção de lesões com o sistema DNACITOLOQ® é ainda mais evidente quando se observam os resultados para as lesões de alto grau e câncer. Nessas, o sistema detectou aproximadamente 103% mais casos que o preparo convencional ( $p < 0,0000001$ ) (Girianelli et al., 2004).

Adicionalmente, caso o meio líquido no qual as células são fixadas preserve a reatividade de proteínas, de ácidos nucléicos e de eventuais patógenos, oferecerá material suficiente para realizar, além do estudo citomorfológico (com maiores índices de adequação e de acurácia que os atuais), a pesquisa em citopatologia molecular como hibridizações

---

moleculares *in situ*, testes imunocitoquímicos e determinações de ácidos nucleicos por métodos de biologia molecular (Kahn, 2001).

Nas últimas duas décadas, o aprimoramento das técnicas de biologia molecular contribuiu de forma decisiva para a identificação do HPV nas lesões cervicais, possibilitando a melhor compreensão da história natural do carcinoma de colo uterino e trazendo novas perspectivas para a abordagem preventiva desta doença (Bosch, 2002).

Atualmente, os estudos têm demonstrado a participação do HPV em mais de 98% de todos os casos de câncer cervical invasivo (Walboomers, 1999) .

O HPV é o principal agente causal na gênese do processo neoplásico cervical. Conforme demonstra Muñoz, em artigo publicado no ano de 2000, o encontro de um dos 18 tipos de HPV em praticamente todo carcinoma de células escamosas é evento certo.

Em 1995, o International Agency for Research on Cancer confirma o HPV como agente responsável pela Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC) e câncer invasor do colo uterino. A presença DNA-HPV foi detectada em 99,7% dos cânceres cervicais. O HPV 16 está presente em 50% dos cânceres cervicais e o HPV 18, 31, 41 em outros 30% (Bosch et al., 1995; Walboomers et al., 1999).

Estima-se que aproximadamente 75% da população sexualmente ativa, apresentaria risco de contato com um ou mais tipos de HPV no



---

decorrer da vida. Entretanto, a grande maioria dessas infecções é eliminada pelo sistema imunológico, sem manifestações específicas no hospedeiro (Pereyra et al., 2003).

A relação inequívoca entre a infecção persistente pelo HPV e o desenvolvimento do câncer de colo uterino introduz novas perspectivas na metodologia para seu rastreamento, diagnóstico, tratamento e prevenção (Bosch, 2002).

As técnicas de biologia molecular detectam as seqüências do DNA viral, caracterizando com grande acurácia e eficiência a presença do HPV (Clavel, 1998). Os métodos utilizados podem identificar o DNA viral diretamente (Southern blot, Dot-blot, Virapap, hibridização *in situ* e captura híbrida) ou mediante a detecção da amplificação da seqüência do DNA utilizando técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) (Schiffman, Brinton, 1995; Clavel et al., 1998).

Segundo estudo randomizado, THE ASCUS AND LSIL TRIAGE STUDY (ALTS) conduzido pelo National Cancer Institute (NCI), um único teste DNA-HPV identificou ampla maioria das mulheres com lesões de alto grau, e demonstrou sensibilidade semelhante à colposcopia (ALTS, 2003).

Os testes de biologia molecular têm sido utilizados em pesquisas como métodos associados ou, substituindo o exame citológico no rastreamento inicial (Liaw et al., 2000).

Alguns autores demonstraram que um teste para detecção de DNA-HPV, seria mais sensível para a detecção de lesões de alto grau em relação à repetição anual da citologia, preconizada nos programas clássicos de rastreamento do câncer cervical (Apgar, Brotzman, 1999; Clavel et al., 1999; Manos et al., 1999; Liaw et al., 2000; Meijer et al., 2000; Monsonego, 2000).

A captura híbrida I, substituída pela captura híbrida II (CH II) e a reação em cadeia de polimerase (PCR), representam os métodos capazes de identificar novos sub-tipos virais com maior eficácia. Ambos representam os testes mais utilizados, similares e de boa aplicabilidade (Liaw et al., 2000; Meijer et al., 2000; Munõz, 2004).

A PCR representa o método mais sensível para detectar quantidades mínimas do DNA-HPV, entretanto, seria um método semi-quantitativo, de alto custo, exigindo alta tecnologia para impedir a contaminação do material e sujeito a falhas do diagnóstico (Netto, 2002).

A CH II, aprovada pela FDA no início de 2003, representa teste menos complexo, de execução relativamente rápida, sem insumos radioativos, com hibridização líquida, resultado semi-quantitativo e tem sido usado com maior frequência (Syrjänen, Syrjänen, 2000; Saslow et al., 2002).

Alguns autores demonstram melhor relação entre o custo e o benefício utilizando-se o teste de detecção de HPV realizado através da CH II, comparado à CCO-C, diminuindo as taxas de falsos-negativos, aumentando a sensibilidade e o valor preditivo negativo, reduzindo a necessidade de colposcopia e biópsias, permitindo aumento no intervalo de

---

rastreamento com redução de custos sem queda na eficácia (Sedlacek et al., 1991; Clavel et al., 1999; Monsonego et al., 1999; Meijer et al., 2000; Monsonego, 2000).

A captura híbrida parece representar um exame extremamente importante na prevenção do câncer do colo do útero, pois consegue identificar com exatidão a presença do HPV, antes da detecção de lesão celular propriamente dita. Os estudos têm mostrado sensibilidade em média 30% superior ao exame de Papanicolaou (Digene Brasil, 2005).

Os DNA-HPV testes são recomendados como método de triagem inicial em pacientes onde a citologia mostra presença de células atípicas de significado indeterminado (ASC-US); como seguimento após tratamento; como seguimento para pacientes com citologia anormal e colposcopia normal ou com achados menores; para resolver citologias, colposcopia ou diagnósticos histológicos discordantes (ACOG, 2005).

A positividade do exame está associada à alta probabilidade de doença futura e, quando negativo, infere da redução do risco de doença pré-neoplásica por período mínimo de cinco anos. (Digene Brasil, 2005).

Encontra-se uma sensibilidade de 90% da CH II na detecção de lesões de alto grau comparado com 75% da CCO. Quando a citologia e a CH II foram negativas, o valor preditivo negativo variou entre 97% e 100% (Sedlacek et al., 1991; Apgar, Brotzman, 1999; Clavel et al., 1999; Monsonego et al., 1999; Liaw et al., 2000; Meijer et al., 2000; Monsonego, 2000).

---

As lesões precursoras e o carcinoma do colo uterino acometem principalmente mulheres adultas. Contrariando esse paradigma, observa-se aumento no risco de neoplasia intra-epitelial cervical nas adolescentes com início precoce da atividade sexual (Kahn et al., 1999).

A adolescência, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), representa período cronologicamente delimitado entre os 10 e 20 anos incompletos (Gejer, Reato, 2001).

O Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas considera adolescência a faixa etária compreendida entre os 10 e 19 anos, etapa transitória na evolução do indivíduo, caracterizada pelas transformações físicas e psicológicas que culminam com a desejada maturidade e equilíbrio do indivíduo adulto (ACOG, 1991).

Entretanto, essa fase do desenvolvimento pode ser delimitada em três etapas, facilitando a compreensão: adolescência inicial dos 10 aos 13 anos; adolescência média dos 14 aos 16 anos e adolescência final dos 17 aos 20 anos (Gejer, Reato, 2001).

Constituindo aproximadamente 30% da população mundial, no Brasil, estima-se população de 51 milhões de jovens entre 10 e 24 anos (Ministério da Saúde, 2003).

Em 1998, nasceram 148.019 crianças de mães adolescentes no Estado de São Paulo (20% de todos os partos). No ano passado o número de recém-nascidos foi de 106.737 (17% dos partos). Entre 1998 e 2004, o

---

número de partos de mães entre 10 a 19 anos de idade diminuiu 27,9%, segundo pesquisa feita pela Secretaria de Estado da Saúde (SES), 2005.

A redução dos partos de mães adolescentes em São Paulo ocorreu em todos os sete anos em que a pesquisa foi feita. Esses números acompanham uma tendência nacional recente de queda da gravidez na adolescência, depois de um aumento ao longo das décadas de 1980 e 1990. De acordo com o último Censo, a taxa nacional de grávidas com até 19 anos havia crescido 14,7% entre 1980 e 2000 (SES, 2005).

Seria indispensável ações educativas, prevenindo-se de gestação não desejada, doenças sexualmente transmissíveis (DST), HIV-AIDS, destacando-se a infecção genital pelo HPV, reconhecida como a DST mais freqüente entre os adolescentes e adultos jovens nos Estados Unidos, com prevalência situada entre de 30% a 50% da população (Ho et al., 1998; Moscicki et al., 1998).

Mais de 50% das adolescentes e adultas jovens adquirem HPV dentro de 4 ou 5 anos após a primeira experiência sexual. Dessas adolescentes, mais de 25% irão desenvolver LIE-BG (Moscicki et al., 2001).

A inoculação do HPV durante a relação sexual iniciaria a agressão do epitélio cervical. Como organismo intracelular obrigatório o HPV apresenta tropismo por células metabolicamente ativas (Handsfield, 1997).

Após penetrar nas células, o vírus perde seu invólucro protéico. Seu genoma atinge o núcleo da célula hospedeira e o DNA viral pode ser

---

encontrado na forma episomal, em lesões intra-epiteliais de baixo grau, ou integrado ao DNA do hospedeiro, nas lesões de maior gravidade (Handsfield, 1997).

A maioria das infecções pelo HPV apresenta caráter transitório. Em até 80% dos casos o vírus seria eliminado após alguns meses (Evander et al., 1995; Ho et al., 1998; Franco et al., 1999).

Para Moscicki et al. (2001), nas adolescentes 90-95% das infecções regridem e 95% das LIE-BG também. Adicionalmente, novas infecções são constantes, criando ondas sobrepostas de aquisição e regressão.

O conceito de rápidos e repetidos eventos de aquisição e eliminação explica as baixas taxas de LIE-AG (<1%) e mais baixas ainda de doença invasiva (<0,001%) em adolescentes (Mount et al., 1999).

A infecção persistente favoreceria o desenvolvimento da lesão intra-epitelial escamosa de maior gravidade (Koustky et al., 1992; Moscicki et al., 1998).

A imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano e a decorrente anovulia, com ausência de progesterona, altera o muco cervical quanto à presença de imunoglobulinas, que se reflete na menor espessura, eventualmente reduzindo sua capacidade de atuar como barreira aos agentes sexualmente transmissíveis (Kahn et al., 2002).

Ferguson (1961) publicou estudo pioneiro demonstrando a importância da coleta sistemática da colpocitologia oncótica em

adolescentes sexualmente ativas. Em sua casuística de 1500 esfregaços cérvico-vaginais alterados, jovens com idade inferior a 19 anos representavam 5% dos achados anormais. Segundo o autor, o exame anatomopatológico revelou presença de 20 casos de displasia e 10 casos de carcinoma intra-epitelial do colo uterino.

Sadeghi et al., (1984) realizaram amplo estudo prospectivo avaliando 194.069 pacientes entre 15 e 19 anos. Detectaram CCO alterada em 1,9% das pacientes (neoplasia intra-epitelial cervical e carcinoma *in situ*).

Em estudo prospectivo, analisando 10.296 colpocitologias realizadas em adolescentes na faixa etária entre 10 e 19 anos, demonstrou-se a presença de lesão intra-epitelial escamosa em 3,77% das amostras (Mount, Papillo, 1999).

Analisando-se os resultados do programa nacional de rastreamento do câncer de colo uterino da Noruega, em 510.000 CCO, 20.600 coletadas de adolescentes entre 15 e 19 anos, não houve diferença significativa quanto à prevalência das alterações citológicas compatíveis com NIC 1 entre adolescentes (5%) e mulheres adultas (7%). Entretanto, a prevalência de CCO com NIC 2 e 3 é de 2% nessas adolescentes (Bjorge et al., 1994).

Esses resultados confirmam a necessidade de se incluir as adolescentes em programas de rastreamento, permitindo o diagnóstico precoce das lesões pré-neoplásicas (Bjorge et al., 1994).

No Brasil, TACLA et al. (2000) descreveram o resultado de estudo retrospectivo abrangendo a análise de 3.483 esfregaços cérvico-vaginais de

adolescentes entre 11 e 19 anos. Verificam ainda que 4,4% das amostras apresentavam CCO alterada. Em relação aos resultados alterados, 93% corresponderam a LIE-BG e 7%, a LIE-AG.

Em artigo publicado em 1984, Jones et al. relatam taxa de NIC 3 em 22%. Após intervalo de 10 anos, Economos et al. (1994) encontraram, em sua casuística, diagnóstico de NIC 3 em 13% dos casos.

Os fatores de risco relacionados com a presença genital do HPV incluem o início precoce da atividade sexual, maior número de parceiros sexuais, o tabagismo, o uso de anticoncepcional oral, não utilização de métodos anticoncepcionais de barreira e a infecção por outras DSTs (Moscicki et al., 1989; Edebiri, 1990; Shew et al., 1994).

A metaplasia cervical ocorre fisiologicamente no desenvolvimento fetal tardio, na adolescência e no decorrer da gravidez. Essa metaplasia aumenta a suscetibilidade do epitélio cervical às mutações relacionadas a agentes extrínsecos (Coppleson et al., 1974).

Considerando-se especificamente as adolescentes, a ectopia e a metaplasia imatura ocasionariam relativa vulnerabilidade biológica, facilitando as infecções pelas DSTs, incluindo-se o HPV (Singer, 1975; Gottardi et al., 1984).

Em virtude da necessidade de um método óptico que auxiliasse no diagnóstico do câncer de colo uterino na sua fase inicial, Hinselmann, em 1925, idealizou e produziu o primeiro colposcópico, aparelho que permite



---

identificar, delimitar e diagnosticar os aspectos normais e anormais das mucosas do trato genital inferior (Mossetti, De Palo, 1996).

A partir da introdução da técnica colposcópica, Hinselmann reconheceu e descreveu imagens freqüentemente associadas ao carcinoma invasor denominadas de “áreas matrizes”, termo que posteriormente foi substituído por zona de transformação anormal (Mossetti, De Palo, 1996).

Porém, apesar dos benefícios, a aceitação da colposcopia como importante método diagnóstico das lesões pré-neoplásicas e câncer de colo uterino encontrou resistências que dificultaram sua difusão. Somente a partir da década de 70, com o esclarecimento de suas possibilidades diagnósticas e aplicabilidade clínica, tornou-se instrumento indispensável na avaliação das patologias do trato genital inferior (Mossetti, De Palo, 1996).

Vários autores comprovaram as vantagens da associação da CCO a colposcopia e publicaram seus resultados divulgando o benefício da simultaneidade de tais exames (Navratil et al., 1958; Limburg, 1958; Salvatore et al., 1978).

A terminologia colposcópica introduzida por Hinselmann foi revisada e atualizada no decorrer dos anos. Sua primeira revisão aconteceu no 2º Congresso Mundial de Patologia Cervical e Colposcopia em Graz, na Áustria, em 1975 (Stafl, 1976). Em 1990, durante o 7º Congresso Mundial em Roma, foi aperfeiçoada com a introdução do sistema de graduação que classifica as imagens colposcópicas em “alterações menores e maiores”, baseando-se no aspecto da superfície da lesão, se regular ou irregular; no

---

grau de aceto-reatividade do epitélio; na regularidade ou irregularidade dos vasos; delicadeza ou aspereza do calibre dos vasos; presença de padrão regular ou irregular do mosaico e pontilhado; presença de bordas definidas ou indefinidas da lesão (De Palo, 2000). No 11º Congresso Mundial em Barcelona, em 2002, a classificação foi novamente revisada e atualizada (Walker et al., 2003).

A colposcopia apresenta sensibilidade superior a 90%, apesar da baixa especificidade, que é inferior a 50% (Hoppman et al., 1995). Atualmente, é parte fundamental na avaliação de mulheres que apresentam CCO alterada (Diakomanolis, 2000).

A adolescência é período acompanhado por intensas transformações físicas que também podem ser observadas no colo uterino.

SINGER (1975) destaca a presença de extensas áreas de epitélio colunar na ectocérvice de adolescentes. Comparando os achados colposcópicos em adolescentes, observa predomínio de áreas com epitélio metaplásico imaturo naquelas sexualmente ativas.

As áreas com metaplasia associar-se-iam à maior vulnerabilidade para alterações genéticas, resultando em população de células com potencial neoplásico (Singer, 1975).

Em relação aos achados colposcópicos anormais, Gottardi et al. (1984) demonstraram que a presença de zona de transformação atípica decorre do processo normal de maturação do epitélio cervical. Comparando

adolescentes sexualmente ativas e inativas, verificaram que a zona de transformação atípica é mais freqüente em adolescentes sexualmente ativas, questionando possível influência da atividade sexual na persistência do epitélio atípico.

Esses subsídios sugerem ação de fatores extrínsecos com potencial oncogênico desencadeando a formação e desenvolvimento de lesões precursoras do câncer de colo uterino (Burghart, Östor, 1983).

No Brasil, Tubaki et al. (2002), avaliam a correlação das imagens colposcópicas na presença de neoplasia intra-epitelial cervical confirmada pela histologia em adolescentes. Analisando a freqüência dos diferentes achados colposcópicos, observa-se epitélio acetobranco em 13% dos casos, mosaico em 6%, pontilhado em 2,6%, área iodo-negativa em 22%.

Considerando-se esses fatos, subsidia-se e justifica-se a importância do rastreamento das lesões precursoras do câncer do colo uterino nas adolescentes com análise criteriosa dos métodos disponíveis na atualidade e possíveis facilidades que possam oferecer.

Correlacionando-se com outros indicadores de saúde pública e informações epidemiológicas associadas, poderíamos reiterar e demonstrar as dimensões do desafio, estimulando os diferentes profissionais da saúde na busca de novos conhecimentos que propiciem atendimento integral à saúde e bem estar das adolescentes.

## **2 Objetivos**

---

---

---

O presente estudo visa :

- ✓ Identificar a presença de HPV de alto risco oncogênico por meio da captura híbrida II em gestantes adolescentes em seguimento no pré-natal do HCFMUSP;
- ✓ Correlacionar os achados da captura híbrida II com achados citológicos e colposcópicos;
- ✓ Identificar a presença de lesões intra-epiteliais neste grupo;
- ✓ Avaliar a frequência de resultados anormais na CCO convencional, CCO em base líquida e colposcopia e a relação entre estes resultados e a CH II;
- ✓ Analisar a validade da associação entre os exames para a detecção das lesões intra-epiteliais nesta faixa etária.

## **3 Métodos**

---

---

### 3.1 - CASUÍSTICA

O estudo foi realizado na Divisão de Clínica Obstétrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo no Ambulatório de pré-natal do Setor de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia.

Foram avaliadas prospectivamente, 60 jovens com idade inferior a 20 anos encaminhadas pelo Ambulatório de Adolescentes da mesma instituição, caracterizando amostragem por conveniência, entre março de 2004 e fevereiro de 2005. A idade das pacientes variou de 12 a 18 anos,  $15,95 \pm 1,31$  (média $\pm$ DP) e idade gestacional média de  $22,97 \pm 7,55$  (média $\pm$ DP) (**Anexo 2**).

Este estudo foi aprovado pela comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (**Anexo 3**).

### 3.1.1 - Critérios de Inclusão

As pacientes foram selecionadas utilizando-se os seguintes critérios de inclusão:

- Idade inferior a 20 anos.
- Gestantes em acompanhamento no pré-natal de adolescentes.
- Idade gestacional > 11 semanas de gestação;
- Ausência de vulvovaginites clinicamente identificáveis no momento do exame;
- Concordância por escrito, com Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Protocolo de Pesquisa, aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa da Diretoria Clínica do HCFMUSP (**Anexo 4**).

### 3.1.2 - Critérios de Exclusão

Foram excluídas gestantes adolescentes que apresentaram o critério abaixo relacionado:



- Colposcopia insatisfatória
  
- Citologia insatisfatória

### 3.2 - COLETA DE DADOS

Todas as pacientes entrevistadas no Ambulatório de Adolescentes, atendendo os critérios mencionados foram encaminhadas ao Setor de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia da Clínica Obstétrica do HCFMUSP.

Na primeira consulta receberam informações sobre os exames e sua importância. Após concordância e assinatura do consentimento livre e esclarecido (**Anexo 4**) pela paciente e responsável legal, foram submetidas a questionário pré-estruturado (**Anexo 5**).

Imediatamente após esses preâmbulos, a paciente era colocada em posição ginecológica para realização dos procedimentos necessários ao estudo.

### 3.2.1 - Colpocitologia Oncótica Convencional e em Base Líquida

O esfregaço colpocitológico foi obtido através da coleta de material ectocervical e endocervical com auxílio de uma escova com cerdas plásticas tipo Triplus (Triplus Brush CB Products Ind. e Com. Ltda) (**Figura 1**).



**Figura 1 -** Escova para coleta da citologia

Utilizou-se uma única escova capaz de alcançar a ectocérvix e endocérvix simultaneamente, sem prejuízo da representação da junção escamo-colunar (JEC).

Retirou-se com bola de algodão ou gaze o excesso de conteúdo vaginal e/ou muco ao redor do colo, para retirar material amorfo.

---

A escova de coleta adentrou o canal, 0,5 a 1,0 centímetro, até que as cerdas menores tocassem a região ectocervical, rodando-a, nessa posição, no mínimo por cinco voltas completas.

Inicialmente essa escova foi raspada sobre uma lamina de vidro e fixado em álcool absoluto, produzindo um esfregaço convencional. Em seguida, essa escova, com o restante do material coletado foi imersa num frasco com líquido preservativo (preserva a morfologia, o DNA, o RNA e as proteínas) que, finalmente, foi agitado por até trinta segundos. O esfregaço convencional e o frasco seguiram para a Divisão de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da FMUSP. O frasco foi processado de acordo com o método do fabricante (AutoCyte). Ambos foram coradas pela técnica de Papanicolaou e Traut (1943).

Os resultados dos achados citológicos foram descritos conforme a classificação de Bethesda 2001 (**Anexo 1**).

Neste trabalho para fins de análise, agrupou-se as categorias dos resultados citológicos, classificados pelo sistema de Bethesda, da seguinte maneira, conforme mostra o **Quadro 1**:

**Quadro 1** - Categorias dos resultados citológicos no trabalho

RESULTADOS CITOLÓGICOS	CATEGORIAS NO TRABALHO
DENTRO DOS LIMITES DA NORMALIDADE, NO MATERIAL EXAMINADO	CITOLOGIA NORMAL
ALTERAÇÕES CELULARES BENIGNAS REATIVAS OU REPARATIVAS	CITOLOGIA NORMAL (INFLAMATÓRIO)
ASC-US	CITOLOGIA ANORMAL
ASC-H	CITOLOGIA ANORMAL
LIE-BG	CITOLOGIA ANORMAL
LIE-AG	CITOLOGIA ANORMAL
CARCINOMA EPIDERMÓIDE INVASOR	CITOLOGIA ANORMAL

### 3.2.2 - Captura Híbrida II para HPV Grupo II

O exame de captura híbrida para detecção do HPV-DNA é um teste de hibridização molecular, que utiliza anticorpos monoclonais na captura de híbridos, usando leitura por quimioluminiscência para detectar qualitativamente a presença de 18 tipos de HPV subdivididos em dois grupos a saber:

**Grupo I:** 6,11,42,43 e 44;

**Grupo II:** 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68.

No Grupo I estão agrupados virus não oncogênicos e no Grupo II os oncogênicos.

Este exame é feito em microplaca, sendo comercializado pela Digene®, através de solução hibridizadora que utiliza anticorpos na captura com amplificação do sinal, sendo analisado por quimioluminiscência.

Espécimes contendo DNA, hibridizam-se com o coquetel de sonda HPV-RNA. O resultado são híbridos DNA-RNA que são capturados sobre a superfície da microplaca com anticorpos específicos para os híbridos DNA-RNA e são detectados por um substrato quimioluminiscente. Múltiplos anticorpos conjugados se ligam em cada híbrido capturado. A luz é emitida e medida pela Unidade de Luz Relativa (RLU) no quimioluminômetro. A intensidade de luz denota presença ou ausência do DNA nos espécimes. A medida RLU igual ou superior ao do *cutoff* indica a presença da sequência específica de HPV-DNA no espécime. RLU menor que o valor do *cutoff* indica ausência da sequência HPV-DNA específico ou em níveis abaixo da detecção do ensaio.

Todos os exames realizados foram obtidos através de esfregaços cérvico-vaginais em Kit coletor específico, tendo decorrido prazo máximo de cinco dias no laboratório desde sua chegada ao mesmo.

Para o início do teste os espécimes ficam em temperatura estável entre 20-25°C. Exames controles negativos e positivos para ambos grupos de HPV são testados em triplicata. Segue-se para a etapa de desnaturação.

**Desnaturação:** Consiste em pipetar o reagente de desnaturação em cada um dos espécimes . Esta reação ocorre em temperatura de  $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e se completa em  $45 \pm 5$  minutos. Segue-se a etapa de hibridização propriamente dita.

**Hibridização:** consiste em pipetar as sondas contendo os anticorpos a serem testados, sendo estas sondas subdivididas em 2 grandes grupos sendo A aquela que contém os de baixo risco e B contendo os de risco intermediário e alto. Esta reação ocorre em temperatura de  $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e se completa em  $60 \pm 5$  minutos. A próxima etapa consiste da captura dos híbridos.

**Captura dos híbridos:** consiste na transferência do conteúdo dos microtubos para as microplacas. Esta reação ocorre em temperatura de  $20-25^{\circ}\text{C}$  e se completa em  $60 \pm 5$  minutos. A seguir passa-se a etapa de detecção dos híbridos.

**Detecção dos híbridos:** consiste na transferência do conteúdo das microplacas para micropoços específicos. Esta reação ocorre em temperatura de  $20-25^{\circ}\text{C}$  e se completa em  $30 \pm 3$  minutos. A seguir passa-se a etapa de amplificação e leitura do sinal.

**Amplificação e leitura do sinal:** consiste em pipetar reagente luminescente específico em cada espécime, incubá-los por 15 minutos em temperatura de  $20-25^{\circ}\text{C}$ . A leitura é realizada no quimioluminômetro da Digene, modelo DML2000.

**Controle de qualidade:** os controles negativo e positivo são testados em triplicata e devem mostrar coeficiente de variação (% CV) menor que 25%. Os resultados da média dos controles positivos (xCP) e a média dos controles negativos (xCN) são usados para calcular a relação da xCP/xCN para cada sonda. Estas relações seguem os seguintes critérios para a validação do teste:

$$XCP/XCN > 2,0$$

Esta relação é calculada para cada caso controle e no caso dessa relação ter falhado o espécime foi desconsiderado da casuística.

### **Interpretação dos resultados**

Espécimes com valores de RLU acima ou igual a 1,0 da sonda A são considerados positivos para um ou mais tipos de HPV: 6, 11, 42, 43 ou 44.

Espécimes com valores de RLU acima ou igual a 1,0 da sonda B são considerados positivos para um ou mais tipos de HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ou 68.

Espécimes com valores de RLU inferiores a 1,0 para ambas as sondas A e B são considerados negativos ou não detectado entre os 18 tipos de HPV testados.

A coleta foi feita com o kit coletor da Digene®, que consta de 01 escova cervical e um tubo com solução conservante.

Para obtenção do esfoliado celular é necessária abstinência sexual de três dias e a paciente não deve estar usando cremes ou ducha vaginal; não efetuou-se exame digital (toque), colposcopia ou assepsia prévia; a presença de sangue (não menstrual) ou de conteúdo vaginal anômalo não altera o resultado do teste.

A coleta de citologia cérvico-vaginal precedeu a da Captura Híbrida®. Introduziu-se a escova cerca de 0,5 a 1,0 cm no canal cervical e rodou-a cinco vezes no sentido horário. A seguir, escovou-se a ectocervix. Imediatamente após a coleta a escova foi inserida no tubo que contém o líquido conservante, a haste da escova quebrada, o tubo fechado e agitado por aproximadamente 30 segundos para homogeneizar a amostra. O material colhido foi enviado ao laboratório o mais breve possível. À temperatura ambiente sua viabilidade é de 15 dias. Quando o tempo decorrido entre a coleta e a chegada ao laboratório for superior a esse período, o espécime deve ser refrigerado à temperatura de 2 a 8 °C (nessa temperatura a amostra fica viável até seis meses). Somente para o teste de Captura Híbrida a amostra poderá ser congelada por até 2 anos.

Para classificar o resultado da CH II e quantificar a carga viral, utilizou-se a razão entre a unidade de quimiluminescência medida, URL, e a média dos calibradores positivos, *cut off*, que tem uma variação e é definido conforme controle do dia. As amostras com emissão de luz maior ou igual ao ponto de corte foram consideradas positivas e aquelas com emissão de luz menor foram consideradas negativas. Nos casos positivos, foram



identificadas as cargas virais medidas em RLU por um quimioluminômetro, sendo que a intensidade da luz é proporcional à carga de DNA-HPV. Neste estudo, utilizamos sondas contendo DNA-HPV dos tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68, considerados de alto risco oncogênico (Sun et al., 1995; Wright et al., 1995; Lörincz et al., 1992).

### **3.2.3 - Colposcopia**

O exame colposcópico foi realizado utilizando o colposcópio da marca DF Vasconcelos, modelo CP-M7, que permite ampliação da imagem em 6 a 40 vezes. A técnica utilizada para a realização da colposcopia foi:

- Introdução de espéculo vaginal
- Inspeção da forma e volume do colo uterino e orifício externo, sem preparo.
- Coleta do esfregaço cérvico-vaginal para a colpocitologia oncológica e coleta de Captura Híbrida II, conforme descrito anteriormente.
- Aplicação do ácido acético a 5% e estudo detalhado da ectocérvice e paredes vaginais. Devido a sua ação coaguladora de proteínas, o ácido acético possibilita a visibilização das áreas com alterações epiteliais que se revelam como imagens colposcópicas anormais.
- Aplicação da solução aquosa iodo-iodetada constituída por iodo metálico, iodeto de potássio e água destilada nas quantidades de 2g, 4g e 100ml, respectivamente, para a realização do teste de

SCHILLER, no qual as células contendo glicogênio se coram de marrom escuro (teste negativo) e aquelas sem glicogênio permanecem claras (teste positivo) (Cartier, 1994).

Os achados colposcópicos foram descritos de acordo com a nomenclatura proposta no 11º Congresso Mundial de Patologia Cervical e Colposcopia, ocorrido em Barcelona em 2002 (**Anexo 6**).

Neste trabalho para fins de análise, agruparam-se as categorias dos achados colposcópicos da seguinte maneira , conforme mostra o **Quadro 2**:

**Quadro 2 -**

ACHADO COLPOSCÓPICO	CATEGORIZAÇÃO NO TRABALHO
EEN	NORMAL
EG	NORMAL
ZTN	NORMAL
ZTA	ANORMAL

EEN = epitélio escamoso normal; EG= epitélio glandular; ZTN= zona de transformação normal; ZTA= zona de transformação anormal

### 3.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Primeiramente, foi realizada análise descritiva das características da amostra através de medidas de frequência e porcentagem. Posteriormente, realizou-se cruzamentos entre os resultados obtidos na CAPTURA HÍBRIDA II com os demais métodos com o intuito de observar as porcentagens de concordância entre eles.

Para responder o objetivo do estudo foram calculados valores de kappa (medida de concordância) (Agresti, 1990) com categorias “normal” e “anormal” de cada teste entre a CAPTURA HÍBRIDA II e os demais métodos.

Para descrever a detecção dos testes nas categorias relacionadas à idade gestacional, foram utilizadas tabelas de contingência (Agresti, 1990). Para verificar a existência de associação entre essas medidas e a detecção dos testes foram utilizados testes exatos de Fisher ou qui-quadrado de homogeneidade (Agresti, 1990)

Para verificar se o valor obtido pela CAPTURA HÍBRIDA II difere entre normal e anormal dos demais testes foram utilizados testes Mann-Whitney (Conover, 1980).

Foram calculadas, também, a sensibilidade e a especificidade (Kirkwood, 1989) de detecção de anormalidades entre os testes.

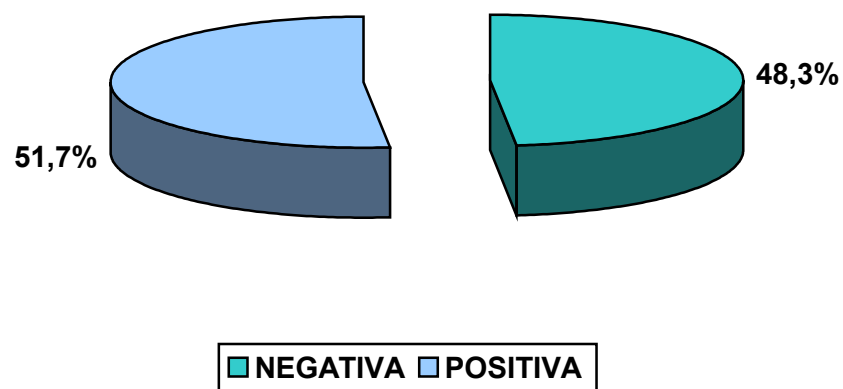
## **5 Resultados**

---

---

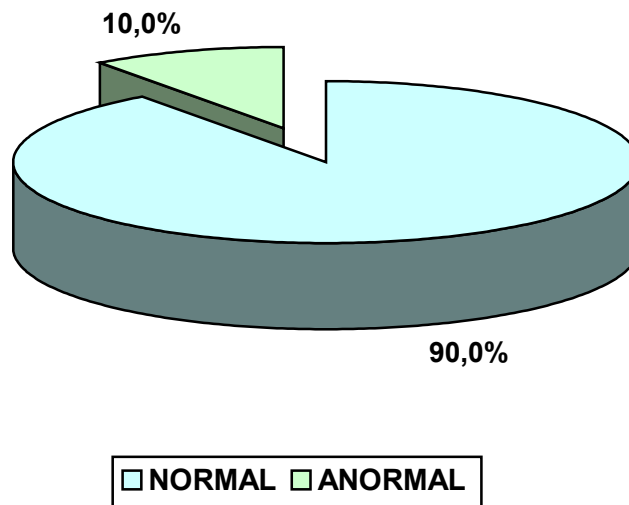
## RESULTADOS DA CAPTURA HÍBRIDA II PARA HPV ONCOGÊNICO (CH II)

**Gráfico 1 -** Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da Captura Híbrida II – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005



## RESULTADO DA COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA CONVENCIONAL (CCO-C)

**Gráfico 2 -** Distribuição das 60 gestantes quanto ao resultado da Colpocitologia Oncótica –CCO-C- HCFMUSP março de 2004 a fevereiro de 2005



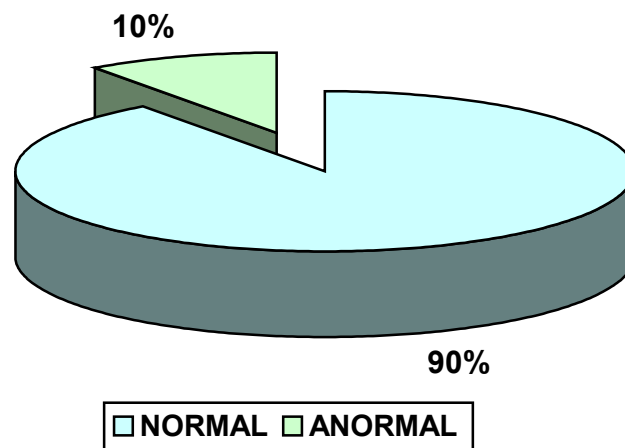
**Tabela 1 -** Distribuição dos achados citológicos – CCO-C - das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

CCO-C	Freqüência	Porcentagem
NORMAL	9	15,0
INFLAMATÓRIO	45	75,0
LIE-BG	5	8,3
CA INVASOR	1	1,7
Total	60	100

**NORMAL:** dentro dos limites da normalidade, no material examinado; **INFLAMATÓRIO:** alterações celulares benignas reativas ou reparativas; **LIE-BG:** lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau; **CA INVASOR:** carcinoma epidermóide invasor

## RESULTADO DA COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA EM BASE-LÍQUIDA (CCO-BL)

**Gráfico 3 -** Distribuição das 60 gestantes quanto ao resultado da CCO-BL HCFMUSP março de 2004 a fevereiro de 2005



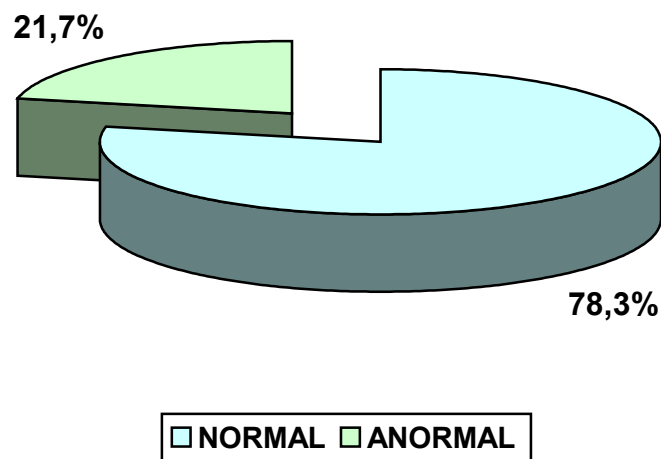
**Tabela 2 -** Distribuição dos Achados citológicos – CCO-BL - das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

CCO-BL	Freqüência	Porcentagem
NORMAL	17	28,3
INFLAMATÓRIO	37	61,7
LIE-BG	5	8,3
LIE-AG	1	1,7
Total	60	100

**NORMAL:** dentro dos limites da normalidade, no material examinado; **INFLAMATÓRIO:** alterações celulares benignas reativas ou reparativas; **LIE-BG:** lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau; **LIE-AG:** lesão intra-epitelial escamosa de alto grau.

## RESULTADOS DOS ACHADOS COLPOSCÓPICOS

**Gráfico 4 -** Distribuição segundo o resultado da colposcopia das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005



**Tabela 3 -** Distribuição segundo os achados colposcópicos das 60 gestantes – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

COLPOSCOPIA	Freqüência	Porcentagem
EPITÉLIO ESCAMOSO NORMAL	12	20,0
EPITÉLIO GLANDULAR	11	18,3
ZONA TRANSFORMAÇÃO NORMAL	24	40,0
ZONA TRANSFORMAÇÃO ANORMAL	13	21,7
Total	60	100



### CORRELAÇÃO ENTRE OS ACHADOS CITOLÓGICOS – CCO-C – NORMAIS E ANORMAIS E CAPTURA HÍBRIDA

**Tabela 4 -** Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da CCO-C e captura híbrida II – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

CCO -C	CAPTURA HÍBRIDA II		Total
	NEGATIVA	POSITIVA	
NORMAL	5 8,3%	4 6,7%	9 15,0%
INFLAMATÓRIO	22 36,7%	23 38,3%	45 75,0%
LIE-BG	1 1,7%	4 6,7%	5 8,3%
CA INVASOR	1 1,7%	0 0,0%	1 1,7%
Total	29 48,3%	31 51,7%	60 100,0%

### CORRELAÇÃO ENTRE OS ACHADOS CITOLÓGICOS – CCO-BL – E O RESULTADO DA CAPTURA HÍBRIDA II

**Tabela 5 -** Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da Captura Híbrida II e CCO-BL – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

BASE-LIQUIDA	CAPTURA HÍBRIDA II		Total
	NEGATIVA	POSITIVA	
NORMAL	10 16,7%	7 11,7%	17 28,3%
INFLAMATÓRIO	18 30,0%	19 31,7%	37 61,7%
LIE-BG	1 1,7%	4 6,7%	5 8,3%
LIE-AG	0 0,0%	1 1,7%	1 1,7%
Total	29 48,3%	31 51,7%	60 100,0%

## CORRELAÇÃO ENTRE OS ACHADOS COLPOSCÓPICOS E O RESULTADO DA CAPTURA HÍBRIDA II

**Tabela 6 -** Distribuição das 60 gestantes segundo os resultados da Captura Híbrida II e Colposcopia – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

COLPOSCOPIA	CAPTURA HÍBRIDA II		Total
	NEGATIVA	POSITIVA	
EPITÉLIO ESCAMOSO NORMAL	5 8,3%	7 11,7%	12 20,0%
EPITÉLIO GLANDULAR	9 15,0%	2 3,3%	11 18,3%
ZONA TRANSFORMAÇÃO NORMAL	11 18,3%	13 21,7%	24 40,0%
ZONA TRANSFORMAÇÃO ANORMAL	4 6,7%	9 15%	13 21,7%
Total	29 48,3%	31 51,7%	60 100,0%

Foram calculados valores de kappa (medida de concordância) com categorias “normal” e “anormal” de cada teste e correlacionou-se a captura híbrida II conforme **tabela 07**.

**Tabela 7 -** Resultados da estatística KAPPA para a correlação

CONCORDÂNCIA		kappa	IC(95%)		p-value
			Inferior	Superior	
CAPTURA HÍBRIDAII X	CCO - C	0,058	-0,089	0,205	0,438
CAPTURA HÍBRIDAII X	CCO - BL	0,123	-0,022	0,268	0,102
CAPTURA HÍBRIDAII X	COLPOSCOPIA	0,149	-0,051	0,349	0,152

### CORRELAÇÃO ENTRE A CCO-C E CCO-BL

**Tabela 8 -** Distribuição dos achados da CCO-BL de acordo com a CCO-C – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

CCO-C	CCO-BL		Total
	NORMAL	ANORMAL	
NORMAL	52 86,7%	2 3,3%	54 90,0%
ANORMAL	2 3,3%	4 6,7%	6 10,0%
Total	54 90,0%	6 10,0%	60 100,0%

### CORRELAÇÃO ENTRE OS ACHADOS COLPOSCÓPICOS E DA CCO-C

**Tabela 9 -** Distribuição dos achados da colposcopia de acordo com a CCO-C – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

CCO-C	COLPOSCOPIA		Total
	NORMAL	ANORMAL	
NORMAL	46 76,7%	8 13,3%	54 90,0%
ANORMAL	1 1,7%	5 8,3%	6 10,0%
Total	47 78,3%	13 21,7%	60 100,0%

## CORRELAÇÃO ENTRE OS ACHADOS COLPOSCÓPICOS E A CCO-BL

**Tabela 10** - Distribuição dos achados da colposcopia de acordo com a CCO-BL – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

CCO-BL	COLPOSCOPIA		Total
	NORMAL	ANORMAL	
NORMAL	46 76,7%	8 13,3%	54 90,0%
ANORMAL	1 1,7%	5 8,3%	6 10,0%
Total	47 78,3%	13 21,7%	60 100,0%

Foram calculados valores de kappa (medida de concordância) para correlacionar entre si os resultados da CCO-BL, da CCO-C e da COLPOSCOPIA.

**Tabela 11** - Resultado da estatística KAPPA para a correlação

CONCORDÂNCIA		kappa	IC(95%)		p-value
			Inferior	Superior	
CCO-BL X	CCO-C	0,630	0,297	0,963	<0,001
COLPOSCOPIA X	CCO-C	0,451	0,165	0,737	<0,001
CCO-BL X	COLPOSCOPIA	0,451	0,165	0,737	<0,001

## CAPTURA HÍBRIDA II E IDADE GESTACIONAL

**Tabela 12 -** Distribuição dos achados da Captura Híbrida II de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

IDADE GESTACIONAL	CAPTURA HÍBRIDA II		Total
	NEGATIVA	POSITIVA	
1º trimestre	1 50,0%	1 50,0%	2 100,0%
2º trimestre	21 58,3%	15 41,7%	36 100,0%
3º trimestre	7 31,8%	15 68,2%	22 100,0%
Total	29 48,3%	31 51,7%	60 100,0%

## CCO-C E IDADE GESTACIONAL

**Tabela 13 -** Distribuição dos achados da CCO-C de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

IDADE GESTACIONAL	CCO-C		Total
	NORMAL	ANORMAL	
1º trimestre	1 50,0%	1 50,0%	2 100,0%
2º trimestre	32 88,9%	4 11,1%	36 100,0%
3º trimestre	21 95,5%	1 4,5%	22 100,0%
Total	54 90,0%	6 10,0%	60 100,0%

## CCO-BL E IDADE GESTACIONAL

**Tabela 14 -** Distribuição dos achados da CCO-BL de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

IDADE GESTACIONAL	CCO-BL		Total
	NORMAL	ANORMAL	
1º trimestre	2 100,0%	0 0,0%	2 100,0%
2º trimestre	32 88,9%	4 11,1%	36 100,0%
3º trimestre	20 90,9%	2 9,1%	22 100,0%
Total	54 90,0%	6 10,0%	60 100,0%

## COLPOSCOPIA E IDADE GESTACIONAL

**Tabela 15 -** Distribuição dos achados colposcópicos de acordo com a idade gestacional – HCFMUSP – São Paulo – março 2004 a fevereiro 2005

IDADE GESTACIONAL	COLPOSCOPIA		Total
	NORMAL	ANORMAL	
1º trimestre	1 50,0%	1 50,0%	2 100,0%
2º trimestre	27 75,0%	9 25,0%	36 100,0%
3º trimestre	19 86,4%	3 13,6%	22 100,0%
Total	47 78,3%	13 21,7%	60 100,0%

## ASSOCIAÇÃO ENTRE A IDADE GESTACIONAL E OS DIFERENTES TESTES

**Tabela 16 -** Resultado dos testes de associação entre a idade gestacional das adolescentes e os diferentes exames

ASSOCIAÇÃO	Qui-quadrado	gl	p-value
Idade gestacional X Captura híbrida II	3,85	2	0,146#
Idade gestacional X CCO-C	4,33	2	0,115#
Idade gestacional X CC0-BL	0,29	2	0,864#
Idade gestacional X Colposcopia	2,02	2	0,365#

## TESTE DE MANN-WHITNEY

**Tabela 17 -** Resultados dos testes de *Mann-Whitney* para verificar diferença nos valores da Captura Híbrida II e os demais exames

EXAME	Categoria	Captura híbrida II					p-value
		Mediana	Média	DP	Mínimo	Máximo N	
CCO-BL	NORMAL	0.75	221.30	518.81	0.12	2421.83 54	<b>0.030</b>
	ANORMAL	860.09	926.11	1000.97	0.55	2038.09 6	
CCO-C	NORMAL	1.02	206.06	511.13	0.12	2421.83 54	0.052
	ANORMAL	1272.13	1063.28	910.25	0.28	2038.09 6	
COLPOSCOPIA	NORMAL	0.70	244.14	579.97	0.12	2421.83 47	0.055
	ANORMAL	55.42	463.99	706.68	0.28	2038.09 13	

## SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE

**Tabela 18 -** Sensibilidade e especificidade dos exames para detecção de anormalidades

EXAMES		SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE
CH II X	CCO-C	12.90%	93.10%
CH II X	CCO-BL	16.13%	96.55%
CH II X	Colposcopia	29.03%	86.21%
CC0-C X	CCO-BL	66.67%	96.30%
CC0-C X	Colposcopia	83.33%	85.19%
CCO-BL X	Colposcopia	83.33%	85.19%

## ANÁLISE CONJUNTA DOS DADOS

**Tabela 19 -** Resultados da análise conjunta dos dados

		CAPTURA HÍBRIDA II	
		NEGATIVA	POSITIVA
CCO-C	NORMAL	27	27
	ANORMAL	2	4
CCO-BL	NORMAL	28	26
	ANORMAL	1	5
COLPOSCOPIA	NORMAL	25	22
	ANORMAL	4	9



## **5 Discussão**

---

---

A infecção genital pelo HPV é considerada a doença sexualmente transmissível mais comum em adolescentes e jovens, com prevalência que varia de 30% a 50% (Ho et al., 1998; Moscicki et al., 1999; Moscicki et al., 1998).

Os estudos epidemiológicos demonstram que a incidência é mais elevada entre 16 e 25 anos, sugerindo que a infecção ocorre freqüentemente logo após o início da atividade sexual. Destacam também, o declínio após os 30 anos, como consequência da provável imunidade adquirida a diferentes tipos de HPV, assim como a menor exposição a novos parceiros (Schiffman, Brinton, 1995).

Não existem dados na literatura sobre a incidência deste vírus nesta população específica durante o período gestacional mas, em nosso estudo realizado com 60 gestantes adolescentes com idade entre 12 e 18 anos e idade gestacional média de 23 semanas demonstrou taxa de incidência de HPV ainda mais elevada do que aquelas propostas pela literatura especializada para essa faixa etária. Encontramos 51,7% (31 casos) de positividade pela captura híbrida II para vírus oncogênicos.

Arena et al. (2002), revisando a literatura, encontraram dados discordantes sobre ser maior a positividade do HPV durante a gestação,

porém, os dados publicados apontam para este grupo maior positividade no segundo e terceiro trimestres da gravidez.

Quando segmentados os dados positivos para a captura híbrida em nossos achados tivemos 96,8% no segundo e terceiro trimestres da gestação, estando os dados de acordo com a literatura.

A possível transmissão vertical de HPV no pré-natal (intra-uterina) ou no decorrer do trabalho de parto (intra-parto e perinatal) pode incorrer na presença de HPV ou condiloma no prepúcio e cavidade oral dos recém nascidos ou mais raramente evoluir como papilomatose laríngea juvenil. (Kawana et al., 2003; Yoshpe, 1995).

Em pesquisa recente Bruck et al. (2005) analisaram epitélio cervical de fetos provenientes de aborto em gestantes com infecção pelo HPV e lesão intra epitelial cervical. O material fetal foi submetido a teste por hibridização *in situ*, utilizando sonda de largo espectro para detecção do DNA-HPV. Em 10 fetos, provenientes de gestantes com perda fetal no segundo trimestre da gestação, portadoras do HPV, 2 foram considerados positivos pela presença de reatividade intracelular focal. Nos casos controle nenhuma reatividade foi detectada, demonstrando a possibilidade da infecção fetal decorrente da exposição intra-uterina pelo HPV.

Outros autores encontraram o DNA-HPV no sincíotrofoblasto em de material obtido de abortos espontâneos e em sangue do cordão umbilical de recém nascidos com mães infectadas pelo HPV (Hermonat et al., 1997). Por outro lado, EPPEL et al. não detectaram o DNA-HPV em vilosidade corial ou

---

tecido placentário obtido por biópsia trans-abdominal de mulheres com infecção pelo HPV (Eppel et al., 2000).

Nossa pesquisa foi desenvolvida com a pretensão de correlacionar captura híbrida II com a CCO-C, CCO-BL e colposcopia, permitindo a identificação do HPV ou suas lesões em gestantes adolescentes.

Apesar do nosso enfoque na detecção do carcinoma de colo uterino ou lesões precursoras, a presença do HPV concomitante com a gravidez e as repercussões no feto e no recém-nascido merecem investigação.

As adolescentes, precocemente expostas a infecção genital pelo HPV, além da morbidade pelas lesões intra-epiteliais ocasionadas pelo vírus, considerando-se a elevada prevalência observada nessa casuística, também apresentam risco de transmissão fetal ou perinatal da infecção.

Nossa preocupação com a detecção da presença do HPV nas gestantes adolescentes e a alta incidência relativa observada (51,7%), apesar da pequena amostragem (60 gestantes) torna-se relevante quando surpreendemos apenas 10% de alterações na CCO-C, perdendo-se a oportunidade de detecção do vírus nessa faixa etária, prolongando-se atuação viral sem possibilidade de orientação ou seguimento adequado e eventual tratamento das doenças.

Nossa pesquisa corrobora com essa preocupação e determina a necessidade de estudos avaliando as conseqüências da eventual

---

patogênese tardia ocasionada pela infecção fetal intra-útero ou neonatal pelo HPV.

O rastreamento e diagnóstico de infecção genital pelo HPV nas gestantes poderá representar indicação formal da vacina em idade precoce, similar à indicação de vacina para hepatite B ou quimioprofilaxia do recém-nascido de mães HIV positivo.

Casos aparentemente inexplicáveis de carcinoma do colo uterino avançado, diagnosticados em idade muito precoce poderiam estar relacionados a essa exposição perinatal. Nosso desconforto diante desses diagnósticos poderá ser reduzido diante de medidas profiláticas para recém-nascidos de mães portadoras do HPV.

Provavelmente, considerando-se que a duração da proteção conferida pela vacina contra o HPV não é conhecida, esta não seria aconselhável para imunização de crianças.

A disponibilidade de uma vacina eficaz, proporcionando imunidade contra o HPV exigirá protocolos para indicação das pacientes potencialmente beneficiadas, racionalizando sua utilização, otimizando a relação custo e benefício.

A pesquisa do HPV nas adolescentes grávidas, facilitaria a logística para identificação daquelas mulheres sexualmente ativas, não contaminadas e constituindo grupo de risco apropriado para vacinação.

Considerando-se o HPV como infecção sexualmente transmitida seria desejável induzir imunidade no período mais próximo possível ao início da atividade sexual, situação extremamente difícil de se determinar, mesmo nos países desenvolvidos.

São descritas ainda como intercorrências no ciclo grávido-puerperal gerados pela presença do HPV a maior incidência de infecção, corioamnionite, rotura prematura de membranas e deiscência da episiorrafia (Arena et al., 2002).

Não existem informações precisas e conclusivas sobre a influência da gravidez na progressão da neoplasia intra-epitelial cervical; parece que predomina a regressão espontânea dessas lesões no pós-parto (Arena et al., 2002).

Encontramos CH II positiva em 51,7% das pacientes e apenas 10% de CCO anormal, fato que pode caracterizar infecção recente, sem repercussão epitelial significativa nessa faixa etária, independente da presença dos sub-tipos de alto risco.

Para Moscicki et al., (2001) nas adolescentes 90-95% das infecções regridem e 95% das LIE-BG também. Adicionalmente, novas infecções são constantes, criando ondas sobrepostas de aquisição e regressão.

O conceito de rápidos e repetidos eventos de aquisição e eliminação explica as baixas taxas de LIE-AG (<1%) e mais baixas ainda de doença invasiva (<0,001%) em adolescentes (Mount et al., 1999).

A infecção persistente favoreceria o desenvolvimento da lesão intra-epitelial escamosa de maior gravidade (Koustky et al., 1992; Moscicki et al., 1998).

Mais de 50% das adolescentes e adultas jovens adquirem HPV dentro de 4 ou 5 anos após a primeira experiência sexual. Dessas adolescentes, mais de 25% irão desenvolver LIE-BG (Moscicki et al., 2001).

A inoculação do HPV durante a relação sexual iniciaria a agressão do epitélio cervical. Após penetrar nas células, o vírus perde seu invólucro protéico. Seu genoma atinge o núcleo da célula hospedeira e o DNA viral pode ser encontrado na forma episomal, em lesões intra-epiteliais de baixo grau, ou integrado ao DNA do hospedeiro, nas lesões de maior gravidade (Handsfield, 1997).

A maioria das infecções pelo HPV apresenta caráter transitório. Em até 80% dos casos o vírus seria eliminado após alguns meses (Evander et al., 1995, Ho et al., 1998, Franco et al., 1999).

Os conhecimentos sobre a história natural da infecção pelo HPV adquiridos até o momento indicam que aproximadamente 70% da população sexualmente ativa tiveram contato com o vírus no decorrer da vida (Syrjänen et al., 1990). Apesar da alta prevalência, a evolução para o câncer do colo uterino é rara, sugerindo o caráter transitório da infecção pelo HPV e a necessidade de outros co-fatores que auxiliem na carcinogênese cervical (Hildesheim et al., 1994; Franco et al., 1999).

Na adolescência, a maioria das infecções HPV regride espontaneamente (Hildesheim et al., 1993; Moscicki et al., 1998). No entanto, estudos na literatura têm demonstrado que adolescentes sexualmente ativas apresentam risco aumentado para aquisição do vírus e desenvolvimento de alterações citológicas, que podem eventualmente progredir para carcinoma in situ e câncer invasivo (Koutsky et al., 1992; Ho et al., 1998). Acredita-se que o início precoce da atividade sexual, múltiplos parceiros, antecedentes de DST (doença sexualmente transmissível), tabagismo e a vulnerabilidade biológica do colo uterino das adolescentes contribua para o aumento da suscetibilidade a infecções sexualmente transmissíveis, incluindo o HPV (Moscicki et al., 1989; Shew et al., 1994).

Apesar da importância da CCO como exame preventivo eficiente para o diagnóstico do carcinoma de colo do útero as pacientes jovens, com início precoce da atividade sexual não apresentam alterações clínicas, colpocitológicas ou lesões identificáveis pela colposcopia.

Em nossa casuística, as gestantes que mereceriam orientação específica e tratamento precoce das alterações potencialmente desencadeadas pelo HPV seriam restritas respectivamente a 10% com a CCO-C; 10% quando utilizando-se CCO-BL; 21,7% pela colposcopia contra 51,7% das gestantes identificadas como portadoras do HPV pela CH II.

Nessas condições, seguindo-se a rotina habitual de pré-natal, ou seja, apenas a CCO-C, somente 10% das adolescentes poderiam ser triadas para propedêutica complementar utilizando-se a colposcopia.



Aquelas gestantes avaliadas pela colposcopia identificariam lesões inespecíficas como mosaico e pontilhado, associadas a CCO com lesão de baixo grau, sem merecer maior atenção, considerando-se que habitualmente a maioria dessas lesões deve regredir no pós-parto.

Na ausência de detecção do HPV de alto risco, poderíamos inferir em prejuízo irrecuperável decorrente da potencial persistência da infecção, ausência de orientação ou seguimento dessas pacientes.

Nossa casuística demonstrou que o teste para detecção de DNA-HPV, apresenta sensibilidade muito superior para a demonstrar a presença do HPV em relação a CCO-C, CCO-BL ou colposcopia apesar da baixa especificidade comparativa (conforme tabela 19).

Dados divulgados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos confirmam a importância da colpocitologia oncológica no rastreamento das lesões precursoras e do câncer de colo uterino em mulheres com menos de 30 anos. Os resultados da análise de 31.569 amostras revelam presença de 8,0% de ASC-US, 9,4% de LIE-BG, 2,1% de LIE-AG e menos de 0,1% de alterações compatíveis com carcinoma de células escamosas (Kahn et al., 1999).

A importância da coleta periódica da colpocitologia oncológica em adolescentes sexualmente ativas pauta-se em diversos relatos na literatura que demonstram taxa elevada de alterações citológicas compatíveis com lesão intra-epitelial escamosa nas adolescentes e, por vezes, superior à observada em mulheres adultas (Björge et al., 1994; Mount, Papillo, 1999).

Postula-se que muitas das lesões escamosas de alto grau diagnosticadas na fase adulta, possivelmente, advêm de alterações de menor gravidade adquiridas e não detectadas na adolescência (Kahn et al., 2001).

A CCO utilizando-se a espátula de Ayre e escova endocervical, obrigatória na primeira consulta do pré-natal, representa uma triagem inicial e pode indicar a presença do HPV.

A presença de alterações citológicas sugestivas de malignidade na adolescência foi descrita pela primeira vez na literatura por Ferguson no início dos anos 60. Desde então, numerosos estudos foram realizados com o intuito de avaliar a prevalência das alterações citológicas em adolescentes sexualmente ativas. Os resultados revelam taxas de alterações citológicas variáveis, todavia sempre indicando valores significativos (Wallace, Slankard, 1973; Snyder et al., 1976; Feldman et al., 1976; Hein et al., 1977; Sadeghi et al., 1984; Economos et al., 1994; Hassan et al., 1997; Edelman et al., 1999; Mount, Papillo, 1999; Tacla et al., 2000).

No presente estudo, segundo o Sistema de Bethesda para classificação citológica, verificou-se colpocitologia oncótica (convencional e em base líquida) anormal em 10% dos casos.

Quanto à distribuição dos achados citológicos alterados, foram diagnosticados, em nosso estudo, presença de 8,3% de LIE-BG e CARCINOMA EPIDERMÓIDE INVASOR em 1,7% (1 caso) através da citologia convencional. Já, através da CCO-BL, os achados citológicos

corresponderam aos mesmos 8,3% de LIE-BG e 1,7% de LIE-AG (tabelas 1 e 2).

A citologia em base líquida foi introduzida com a proposta de aperfeiçoar a qualidade das lâminas, melhorando sua sensibilidade facilitando a análise citopatológica, melhorando a acurácia diagnóstica (Bernstein, 2001). Esta técnica usa a transferência do material celular obtido do colo uterino para um meio líquido com a propriedade de preservar as estruturas morfológicas e moleculares, inclusive as proteínas e os ácidos nucléicos. Esse meio-líquido é então submetido à homogeneização, filtragem e processos técnico-laboratoriais para retirada de hemácias, debris, muco e infiltrado inflamatório, possibilitando o preparo de lâminas mais adequadas para avaliação citológica (Saslow et al., 2002).

Comparando-se os achados normais entre as duas técnicas encontramos na citologia convencional 15,0% de resultados NORMAL, 75,0% de INFLAMATÓRIO contra 28,3% de resultados NORMAL e 61,7% de INFLAMATÓRIO. Essa diferença na identificação de alterações reativas poderia ser explicada pela técnica de preparo da lâmina obtida pelo meio líquido, que eliminando artefatos para produzir melhor nitidez das células, removeria conjuntamente elementos de identificação do processo inflamatório. Esta parece também ter sido a explicação para a diferenciação entre o achado de carcinoma invasor (CCO-C) versus LIE-AG (CCO-BL).

Apesar dessas constatações pudemos observar através da tabela 18 que quando comparamos os valores da CH II POSITIVA com a CCO-C,

colposcopia e CCO-BL esta última é a única que apresentou alguma significância estatística: p-value = 0,030.

Considerando-se a facilidade e o baixo custo da CCO-C, nessa casuística, não se justifica a realização da CCO-BL como propedêutica de rotina. Não observamos informações adicionais ou resultados que justifiquem sua realização em substituição ou em adição à CCO-C ou CH II.

Nossos dados também demonstraram que dentre os achados anormais o predomínio da LIE-BG em adolescentes, estando de acordo com outros relatos da literatura, como o de Economos et al. (1994) que avaliando 315 adolescentes encontraram LIE-BG em 62% e LIE-AG em 38%. Em nosso meio TACLA et al. em 2000, constatam presença de LIE-BG em 93% e LIE- AG em 7% dos casos.

A despeito da alta prevalência de alterações citológicas nas adolescentes, nota-se que o seu grau de severidade é menor com relação de 68 LIE-BG:1 LIE-AG, conforme concluem Acladius e Mandal (2000).

Quanto à proposta de analisar os achados colposcópicos normais e correlacioná-los à colpocitologia oncológica, fundamenta-se na hipótese da vulnerabilidade da zona de transformação. Acredita-se que a presença de epitélio glandular e o processo de metaplasia favoreçam a ação de patógenos sexualmente transmissíveis, incluindo o HPV (Singer, 1975).

Os hormônios estrogênio e progesterona atuam sobre as estruturas que compõem o colo uterino e os diferentes epitélios que o revestem.

---

Estimulam o aumento da estrutura da fibromusculatura do colo uterino, a hiperplasia do epitélio colunar e o edema estromal durante a fase final do desenvolvimento intra-uterino, puberdade, gestação e uso de anticoncepcional oral (Singer, 1975; Critchlow et al., 1995).

Desde os estudos de Singer, em 1975, tem-se conhecimento do predomínio do epitélio colunar na ectocérvice das adolescentes. As significativas alterações hormonais relacionadas à puberdade promovem mudanças no pH vaginal e desencadeiam o processo de metaplasia escamosa, originando a zona de transformação, tradicionalmente reconhecida como área onde se iniciam os processos neoplásicos (Singer, 1975).

Com o intuito de averiguar esta particularidade, Moscicki et al. (1989) compararam adolescentes com neoplasia intra-epitelial cervical a grupo controle. Constatou que 80% das adolescentes com diagnóstico de NIC apresentavam 20% ou mais da ectocérvice recoberta por epitélio colunar comparado a somente 42% do grupo controle.

Outro estudo realizado por Moscicki et al. (1999) revelou que o aumento de 10% da área referente à zona de transformação, eleva em três vezes o risco de desenvolvimento de LIE-BG. Essa observação sugere que a imaturidade do epitélio metaplásico contribui de forma significativa no aumento do risco de infecção pelo HPV, refletindo o reconhecido tropismo do HPV por células metabolicamente ativas, normalmente presentes nas zona de transformação.

Essa área de vulnerabilidade da cérvix adolescente pode ser constatada neste estudo através dos achados freqüentes de: EPITÉLIO GLANDULAR em 18,3%, ZONA DE TRANSFORMAÇÃO NORMAL em 40% e ainda mais significativos 22% de ZONA DE TRANSFORMAÇÃO ANORMAL. Nota-se com esses achados, somados à presença do HPV de alto risco oncogênico terreno fértil para a desestruturação epitelial cervical.

Quando analisamos esses resultados, verificamos que em apenas 9 das 31 pacientes com CH II positiva apresentavam colposcopia ANORMAL. Analisando-se os dados contidos na tabela 8, podemos concluir que a concordância de achados entre a CH II e a colposcopia é baixa pois os valores de Kappa são próximos de zero . Porém, quando analisadas sob o ponto de vista de 'área de vulnerabilidade' da cérvix encontramos vírus oncogênico presente em área susceptível em 24 casos (EG=2; ZTN=13 e ZTA=9) .

A evolução das lesões precursoras para outras de maior gravidade em adolescentes é raro. Entretanto, dados da literatura revelam aumento da prevalência de câncer invasivo em jovens. Encontrou-se um caso de invasão em nossos dados, posteriormente confirmado por biópsia mas, tratava-se de adenocarcinoma de células claras, tumor esse onde o vírus HPV não tem ação indutora.

O genoma do vírus, integrando-se ao cromossomo de células susceptíveis, desativaria genes supressores, proporcionando condições para

---

evidenciarmos as doenças cervicais clinicamente relevantes (Munõz, 2000; Werness et al., 1990).

No estado atual de conhecimento, considerando-se a infecção persistente pelo HPV como o principal agente etiológico envolvido nesse processo, seria altamente recomendável introduzir a detecção do vírus como rotina, para a maioria das adolescentes sexualmente ativas e, obrigatoriamente, para todas as adolescentes grávidas no decorrer do pré-natal.

A detecção do DNA-HPV pode ser realizada em qualquer fase da gravidez, enquanto que a colposcopia torna-se duvidosa e tecnicamente mais difícil a partir do 3º trimestre.

Esse aumento indesejado na incidência de anormalidades no epitélio cervical nessa faixa etária decorre de múltiplos fatores relacionados ao início precoce da atividade sexual e infecção genital pelo HPV (Moscicki et al., 1998).

Em mulheres adultas, a infecção genital pelo HPV pode apresentar cura espontânea na maioria dos casos. Entre 70 e 90% das infecções devem regredir após 12 a 24 meses. Entretanto, a progressão ou potencial regressão das lesões cervicais ocasionadas pelo HPV em adolescentes permanece obscura (Evander et al., 1995; Moscicki et al., 1998).

---

Os estudos de citologia anormal em adolescentes mostram que as adolescentes raramente apresentam carcinoma *in situ* e praticamente não tem câncer invasor (Mount, Papillo, 1999; Sadeghi, 1984).

A incidência de carcinoma invasor foi de zero por 100 000 entre os 10 e 14 anos e entre 15-19 anos; e de 1,7 por 100 000 entre os 20 e 24 anos de idade (Ries et al., 2002).

Apesar desses baixos índices de doença cervical mais agressiva, o aumento na prevalência do HPV poderá resultar em aumento desses índices nas próximas décadas, hipótese que exige pró-atividade na procura de metodologias para diagnóstico precoce e medidas preventivas, direcionadas para grupos de risco específicos, resultando na redução na incidência de doenças com maior efetividade.

Em nosso meio, face às dificuldades em se realizar exames de prevenção na população mais carente, o pré-natal deve ser considerado momento oportuno para pesquisa do HPV, possibilitando diagnóstico precoce das lesões e momento para conscientização da importância de tratamento e seguimento dessas pacientes.



## **6 Conclusões**

---

---

O presente estudo permitiu as seguintes conclusões:

- 1) Identificamos o HPV de alto risco oncogênico por meio da captura híbrida II em 51,7% das pacientes avaliadas.
- 2) Dos casos com captura híbrida II positiva (51,7%), 45% foram considerados normais à citologia convencional ; 46,7% apresentaram-se normais à citologia em base-líquida e 41,6% não demonstraram anormalidades à colposcopia.
- 3) Identificamos 8,3% de lesões intra-epiteliais e um caso (1,7%) apresentou diagnóstico de carcinoma de células claras.
- 4) Os achados citológicos normais foram observados na maioria das pacientes (90%) através das duas técnicas citológicas realizadas.  
Em ambos os métodos citológicos os resultados anormais foram idênticos no que se refere a lesão intra-epitelial escamosa de baixo-grau (8,3%), em um caso o diagnóstico foi carcinoma invasor na citologia convencional e quando analisada pela citologia em meio líquido o diagnóstico foi de lesão intra-epitelial de alto grau.

Quanto aos achados colposcópicos normais (78,3%) predominaram a zona de transformação normal (40%), seguido do epitélio escamoso normal (20%) e epitélio glandular (18,3%).

Encontrou-se zona de transformação anormal em 21,7% dos casos.

- 5) A análise estatística dos dados não demonstrou benefícios utilizando-se a associação dos exames realizados neste trabalho. Neste contexto parece que a citologia oncótica convencional poderia associar-se à captura híbrida para ampliar a identificação de pacientes de risco.

## **7 Anexos**

---

---

## ANEXO 1

### SISTEMA DE BETHESDA 2001

**TIPO DE ESPÉCIME:** indicar se a amostra foi obtida por método convencional ou em meio líquido

#### ADEQUAÇÃO DO ESPÉCIME

- Satisfatória para efeitos de avaliação (descreve a presença ou ausência do componente endocervical/ zona de transformação/endocervical ou qualquer outro fator que limite a qualidade)
- Insatisfatório para avaliação (especificar a razão)
- Espécimen rejeitado/não processado (especificar a razão)
- Espécimen processado e examinado, mas insatisfatório para avaliação da anormalidade epitelial devido à (especificar a razão)

#### CLASSIFICAÇÃO GERAL (opcional)

- Negativo para lesões intra-epiteliais ou malignidade
- Anormalidade de célula epitelial: ver interpretação/resultado (especificando se escamosas ou glandulares)
- Outro: ver interpretação/resultado (por exemplo, células endometriais em mulheres > 40 anos de idade)

#### INTERPRETAÇÃO/RESULTADO

##### Negativo para lesão intra-epitelial ou malignidade

##### Microrganismos:

- *Trichomonas vaginalis*
- Microrganismos fúngicos morfológicamente consistentes com *Candida* spp
- Alterações na flora sugestivas de vaginose bacteriana
- Bactérias morfológicamente consistentes com *Actinomyces* spp.
- Alterações celulares consistentes com Herpes simplex virus

**Outros resultados não-neoplásicos (Opcional):**

- Mudanças celulares reativas associadas com inflamação (incluindo reparo típico), radiação, DIU; células glandulares pós-histerectomia; atrofia

**OUTROS** Células endometriais ( em mulheres > 40 anos de idade)

**ANORMALIDADES CÉLULAS EPITELIAIS****CÉLULA ESCAMOSA**

- Células escamosas atípicas - de significado indeterminado (ASC-US)  
- não se pode excluir HSIL (ASC-H)
- Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (inclui: HPV/displasia leve/NIC 1)
- Lesão intra-epitelial de alto grau (inclui displasia moderada e severa, CIS/NIC 2 e NIC3)  
- com características suspeitas de invasão (se houver suspeita de invasão)
- Carcinoma escamoso

**CÉLULA GLANDULAR**

- Atípica - células endocervicais (SOE ou especificar nas observações)  
- células endometriais (SOE ou especificar nas observações)  
- células glandulares (SOE ou especificar nas observações)
- Atípica - células endocervicais ou glandulares, favorecendo neoplasia
- Adenocarcinoma endocervical *in situ*
- Adenocarcinoma - endocervical, - endometrial, - extra-uterino, - sem outra especificação

**OUTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS: (especificar)**

## ANEXO 2

NOME:	RGHC	IDADE	CH II	ID GESTACIONAL	G	PN	PC	AB
JFS	13644560f	16	410,36	15,00	1	0	0	0
JAS	13652295h	12	188,35	30,14	1	0	0	0
MFMP	13660038b	16	26,68	18,42	1	0	0	0
GVS	13661227d	14	0,34	15,00	1	0	0	0
VFF	13672174g	16	375,97	13,85	1	0	0	0
TMF	13573688d	16	0,7	23,71	3	0	1	1
NSF	13616196d	16	0,8	30,00	1	0	0	0
ESM	13618869e	15	0,42	14,00	1	0	0	0
GSS	13621415c	16	42,75	25,00	1	0	0	0
BAM	13652964a	17	0,17	33,00	2	0	0	1
KST	1886154k	17	314,22	32,00	1	0	0	0
AMLS	6038038i	17	136,55	26,00	1	0	0	0
RLG	13662428a	16	0,19	11,71	1	0	0	0
ESC	13560860i	17	802,67	32,00	2	0	1	0
KSG	13441389f	17	0,3	21,00	2	1	0	0
AMG	13659868j	15	0,12	22,57	1	0	0	0
VDF	13568778f	17	0,43	24,00	2	1	0	0
OAJ	13602007e	17	0,28	36,00	1	0	0	0
MAM	13613435d	16	1,23	32,00	1	0	0	0
AFB	13647752f	12	0,3	14,71	1	0	0	0
DSS	6034906d	16	0,29	22,00	1	0	0	0
RDJ	13653395j	18	0,22	19,00	1	0	0	0
LLAS	13643347g	18	0,33	14,85	3	0	1	1
GVA	13655483a	17	0,53	14,00	1	0	0	0
TCSS	6073392h	16	0,12	21,00	1	0	0	0
NCDFG	13648418h	15	15,08	23,57	1	0	0	0
RCM	13646445a	17	0,17	25,00	1	0	0	0
SCF	6105023j	15	6,92	23,14	1	0	0	0
RTS	13612644j	16	0,32	30,00	1	0	0	0
LBO	3046997f	17	1151,37	34,00	1	0	0	0
BFA	4052489k	17	1,24	35,00	1	0	0	0
AFGF	13639614e	17	0,28	17,00	1	0	0	0
KCNR	13642255d	14	0,64	18,00	1	0	0	0
EOR	13624775b	17	2,22	30,57	1	0	0	0
GSC	13648419g	18	2421,83	16,00	1	0	0	0
LHSO	13655487h	16	0,22	20,00	1	0	0	0
BSC	13597159k	17	0,14	21,42	2	0	0	1
PGV	13661220k	16	0,13	14,14	1	0	0	0
RSR	13652368j	16	3,06	25,71	1	0	0	0
AAC	13654596g	16	173,66	34,14	1	0	0	0
CBP	2578790j	16	2,88	33,00	1	0	0	0
CLS	6031153f	17	21,93	35,00	1	0	0	0
ABP	1930570b	14	2248,49	13,00	1	0	0	0
BDO	13668087c	17	1454,59	12,28	2	0	0	1
LSB	13672364b	15	0,37	25,00	1	0	0	0
APAP	3250635d	17	0,15	13,14	1	0	0	0
TO	13550621a	16	1664,75	20,57	2	0	0	1
JSMS	13655274k	17	0,34	14,00	1	0	0	0
JPS	9982561j	13	14,53	22,00	1	0	0	0
AVB	13620945a	15	0,38	22,00	1	0	0	0
VAA	13492075a	16	623,25	17,00	2	1	0	0
FVL	13640338b	16	150,17	34,85	1	0	0	0
ACR	3120412b	16	471,57	21,85	1	0	0	0
AMPS	429206975	16	879,51	11,71	1	0	0	0
LFS	13616942b	13	1,32	39,00	1	0	0	0
DLS	3384892b	16	1796,51	23,00	1	0	0	0
KJBS	13633535j	15	0,55	31,14	1	0	0	0
SAC	5267196c	16	2038,09	15,00	1	0	0	0
LAL	13641281d	15	55,42	22,00	1	0	0	0
ECM	13640945k	17	0,28	24,00	1	0	0	0

## ANEXO 3



## ANEXO 4

Anexo 4

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

(Instruções para preenchimento no verso)

**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL**

1. NOME DO PACIENTE .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M  F
- DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
- ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE .....
- CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....
2. RESPONSÁVEL LEGAL .....
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE : .....SEXO: M  F
- DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....
- ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
- BAIRRO: ..... CIDADE: .....
- CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

**II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA**

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA :RASTREAMENTO DO HPV EM GESTANTES ADOLESCENTES UTILIZANDO A CITOLOGIA CONVENCIONAL E EM BASE LÍQUIDA , COLPOSCOPIA E CAPTURA HÍBRIDA: COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS E ESTUDO DE PREVALÊNCIA.
- PESQUISADOR: Fernanda Erci dos Santos
- CARGO/FUNÇÃO: Médico Pós-graduando INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 97.620
- UNIDADE DO HCFMUSP: Clínica Obstétrica.
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
- SEM RISCO  RISCO MÍNIMO  RISCO MÉDIO
- RISCO BAIXO  RISCO MAIOR
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 1 ANO

Estamos convidando você a participar desta pesquisa, onde, fazendo exames simples, indolores, que não causam nenhum mal ao seu bebê. Procuraremos descobrir se você possui infecção pelo vírus HPV relacionado ao câncer do colo uterino. Os benefícios para você são a possibilidade de detecção precoce da presença do vírus e acompanhamento preventivo rigoroso para evitar chances de câncer de colo do útero no futuro e tentar evitar a transmissão deste vírus para seu bebê. Em qualquer momento você pode ter os resultados dos exames feitos neste estudo e tirar qualquer dúvida que aparecer sobre o tipo de exame que está sendo feito. **Você também pode desistir a qualquer momento do seu consentimento**

**sem prejudicar o seu atendimento neste hospital.** Todos os seus dados e exames vão ser guardados em segredo. Se acontecer algum prejuízo na sua saúde ou na de seu filho por causa da pesquisa, você terá garantido o tratamento neste hospital.

**INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

FERNANDA ERCI DOS SANTOS – Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 10º andar sala 10083 Tel: 30696209 ou 30696242 (Pronto socorro de Obstetrícia – HCFMUSP)

**CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO**

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_ .

\_\_\_\_\_  
assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

\_\_\_\_\_  
assinatura do pesquisador  
(carimbo ou nome Legível)

## ANEXO 5

**PATOLOGIA DO TRATO GENITAL INFERIOR E  
COLPOSCOPIA  
GRUPO ADOLESCENTES**

NOME:.....  
RGHC:.....  
IDADE:.....ANOS D.N.: ...../...../.....  
ENDEREÇO: .....  
CEP:..... TELEFONE: .....

RAÇA:       BRANCA ( )  
              NÃO-BRANCA ( )

ESCOLARIDADE: PRIMEIRO GRAU ( )               COMPLETO ( )  
                  SEGUNDO GRAU ( )                INCOMPLETO ( )  
                  SUPERIOR                       ( )

SITUAÇÃO CONJUGAL: SOLTEIRA ( )  
                          CASADA ( )  
                          OUTROS ( )

VOCÊ JÁ USOU ALGUM TIPO DE MÉTODO PARA EVITAR GRAVIDEZ?

SIM ( )

NÃO ( )

QUAL? (MARQUE TODOS QUE JÁ TENHA USADO)

NÃO, NUNCA USEI ( )

PÍLULAS ( )

CAMISINHA ( )

INJEÇÕES ( )

DIU ( )       DIAFRAGMA ( )

OUTROS ( ) .....

IDADE DA PRIMEIRA MENSTRUÇÃO:.....ANOS

IDADE DA PRIMEIRA RELAÇÃO SEXUAL: .....ANOS

COM QUANTOS PARCEIROS VOCÊ MANTEVE RELAÇÕES  
SEXUAIS:.....ANOS.

## **ANEXO 6**

### **Classificação colposcópica internacional (IFCPC, Barcelona 2002)**

#### **I. Achados colposcópicos normais**

Epitélio pavimentoso original

Epitélio cilíndrico

Zona de Transformação Normal

#### **II. Achados colposcópicos anormais**

##### **1) Dentro da zona de transformação**

- Epitélio acetobranco plano
- Epitélio acetobranco denso\*
- Mosaico fino
- Mosaico grosseiro\*
- Pontilhado fino
- Pontilhado grosseiro\*
- Parcialmente positivo ao Iodo
- Iodo negativo\*
- Vasos atípicos\*

\* Alterações maiores

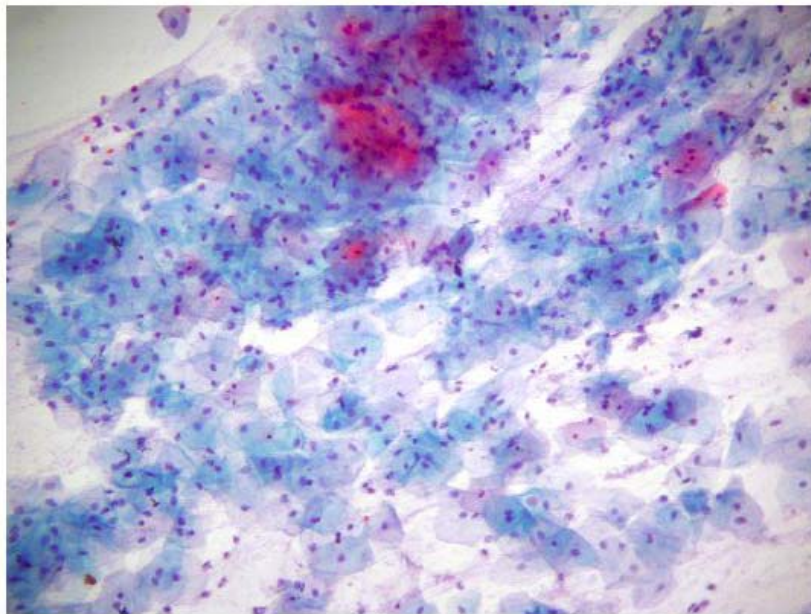
#### **III. Características colposcópicas sugestivas de câncer invasor**

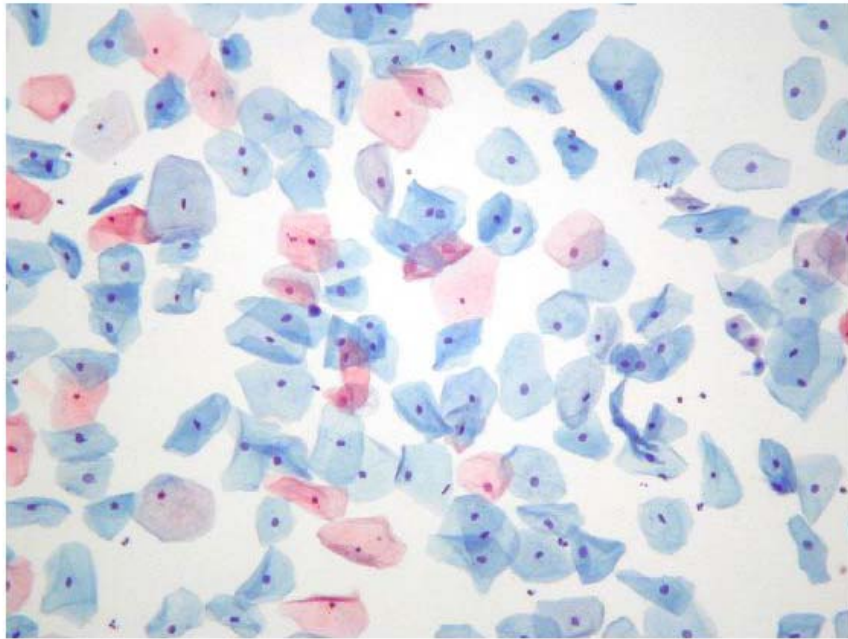
#### **IV. Colposcopia insatisfatória**

- Junção escamocolunar não visualizada
- Inflamação grave ou atrofia grave, trauma
- Colo não visível

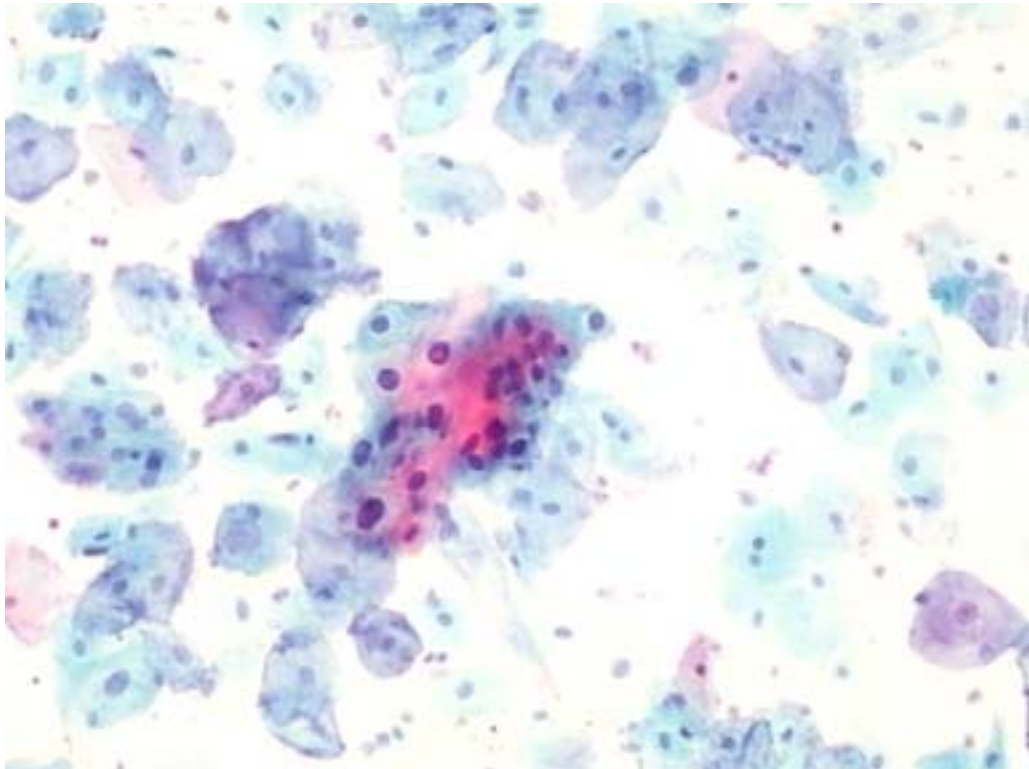
#### **V. Achados vários**

- Condiloma
- Queratose
- Erosão
- Inflamação
- Atrofia
- Decidua
- Pólipos

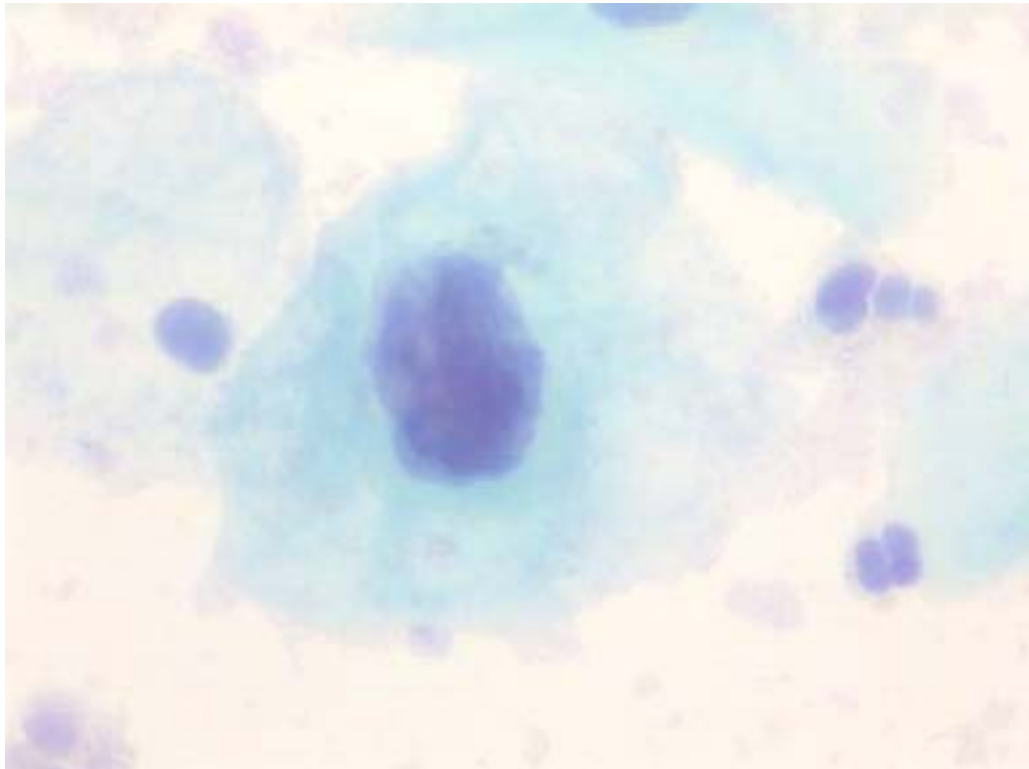
**ANEXO 7****COLPOCITOLOGIA CONVENCIONAL – DISTRIBUIÇÃO CELULAR NA LÂMINA**



**COLPOCITOLOGIA EM BASE-LÍQUIDA: DISTRIBUIÇÃO CELULAR NA LÂMINA**

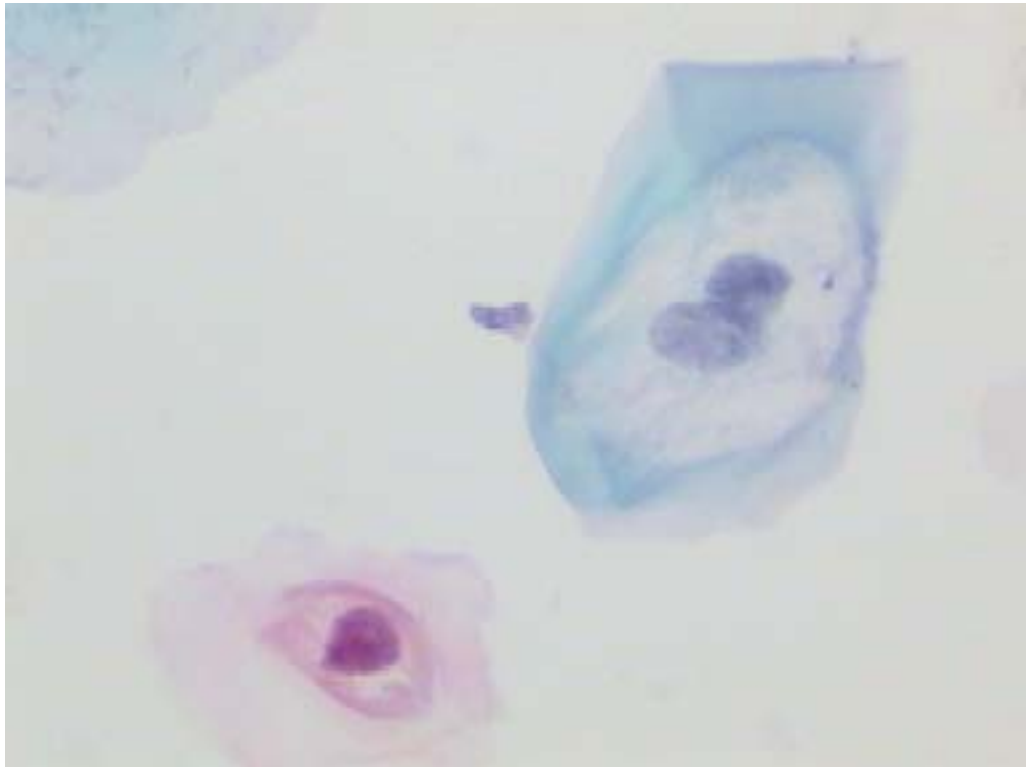


**COLPOCITOLGIA EM BASE-LÍQUIDA: LIE-BG**

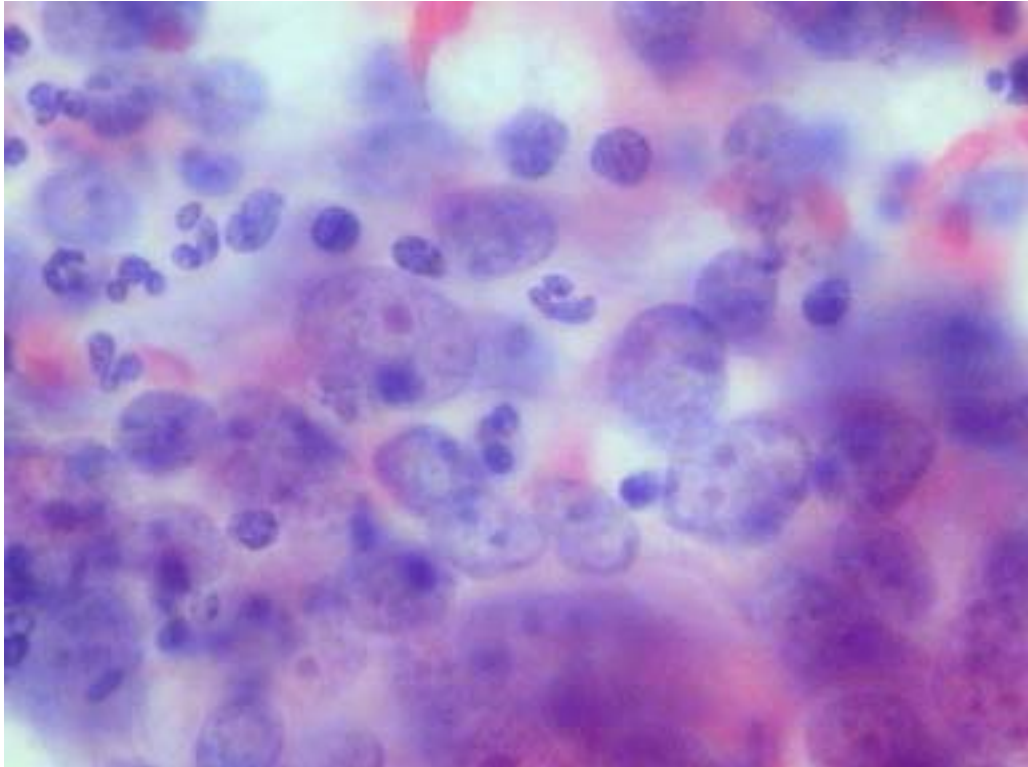


**COLPOCITOLGIA EM BASE-LÍQUIDA: LIE-BG**

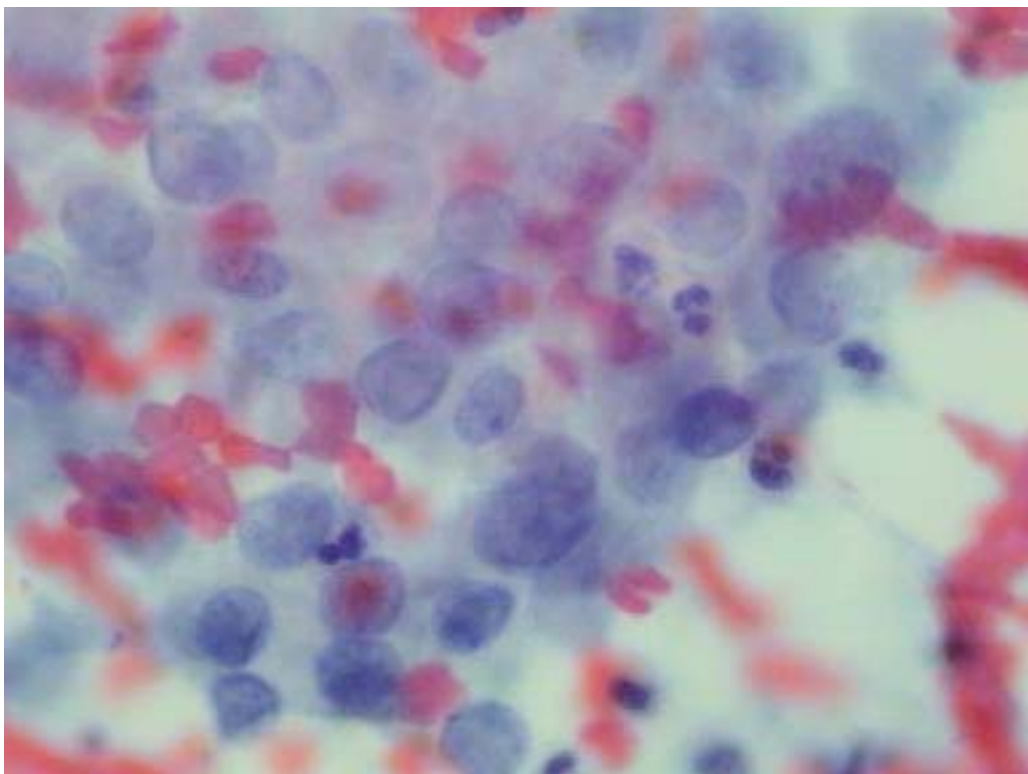
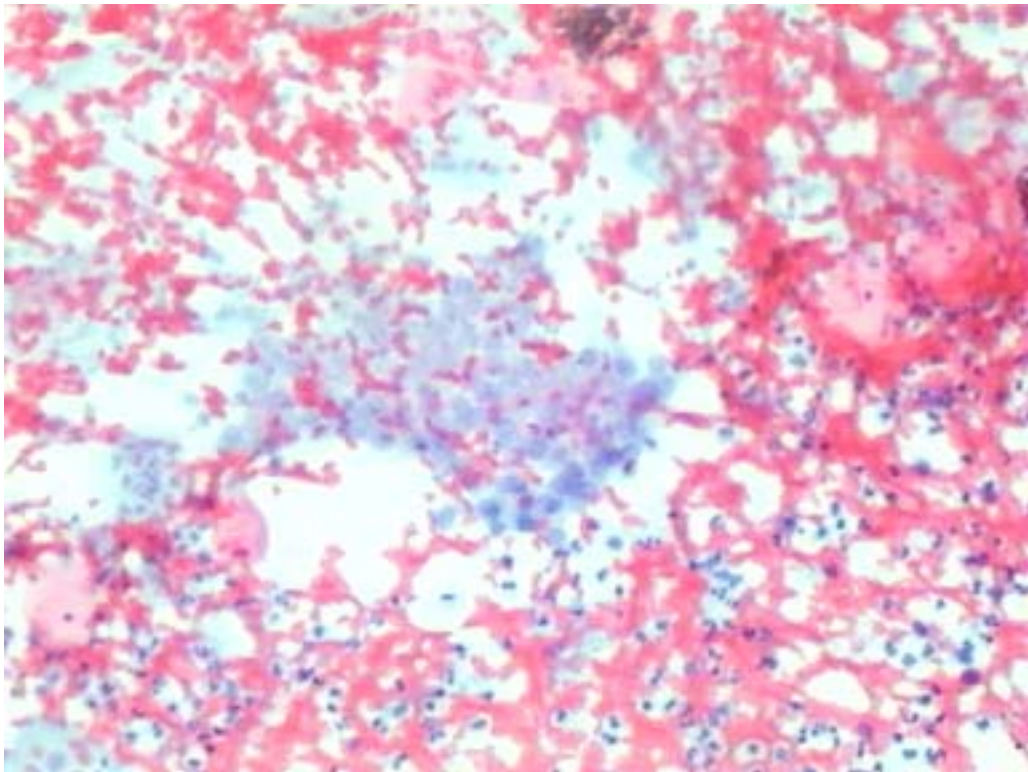




**COLPOCITOLOGIA EM BASE-LÍQUIDA: COILÓCITO BINUCLEADO**



**COLPOCITOLOGIA CONVENCIONAL: CARCINOMA**



**COLPOCITOLOGIA CONVENCIONAL: ESFREGAÇO HEMORRÁGICO- CARCINOMA**

## **8 Referências**

---

---

---

Acladius NN, Mandal D. Cervical cytology screening for sexually-active teenagers. *Int J STD AIDS*. 2000;11(10):648-50.

ACOG Committee Opinion Number 152. Recommendations on frequency of Pap test screening. Committee on Gynecologic Practice. *Int J Gynaecol Obstet*. 1995;49(2):210-1.

ACOG Practice Bulletin Number 61. Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists. Human papillomavirus. *Obstet Gynecol*. 2005;105(4):905-18.

ACOG Technical Bulletin Number 145. The adolescent obstetric-gynecologic patient. *Int. J. Gynaecol. Obstet*. 1991;36:247.

Agresti A. *Categorical Data Analysis*. New York: Wiley; 1990. p. 558.

ALTS Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. *Am J Obstet Gynecol*. 2003; 188(6):1393-400.

American Cancer Society. *Cancer Facts and Figures*, 2004. Disponível em: [www.cancer.org](http://www.cancer.org). Acesso Junho, 2004.

---

American Society of Cytopathology. *New technologies*. Disponível em: [www.cytopathology.org/guidelines/guide\\_new\\_tech.php](http://www.cytopathology.org/guidelines/guide_new_tech.php). Acesso Junho, 2005.

Apgar BS, Brotzman G. HPV testing in the evaluation of the minimally abnormal Papanicolaou smear. *Am Fam Physician*. 1999;59(10):2794-801.

Arena S, Marconi M, Ubertosi M, Frega A, Arena G, Villani C. HPV and pregnancy: diagnostic methods, transmission and evolution. *Minerva Ginecol*. 2002;54(3):225-37.

Bernstein SJ, Sanchez-Ramos L, Ndubisi B. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: A metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 2001;185 (2):308-17.

Björge T, Bunborud AB, Langmark F. Cervical mass screening in Norway – 510,000 smears a year. *Cancer Detect Prev*. 1994;18(6):463-70.

Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KV, International Biological Study on Cervical Cancer Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl. Cancer Inst*. 1995;87(11):796-802.

Bosch FX, Muñoz N. The viral etiology of cervical cancer. *Virus Res*. 2002; 89:183-90.

Brasil. Instituto Nacional do Câncer. *Estimativas da incidência e mortalidade por cancer no Brasil , 2005*. Disponível em: [www.inca.org.br](http://www.inca.org.br). Acesso Maio, 2005.

Brasil. Ministério da Saúde. *Saúde do jovem e adolescente*. Disponível em: [www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br). Acesso Dez, 2003.

Bruck LR, Zee S, Poulos B, Carroll D, Abadi M. Detection of cervical human papillomavirus infection by in situ hybridization in fetuses from women with squamous intraepithelial lesions. *J Low Genit Tract Dis*. 2005;9(2):114-7.

Burghardt E, Ostor AG. Site and origin of squamous cervical cancer: A histomorphologic study. *Obstet Gynecol*. 1983;62(1):117-27.

Cartier R. In: *Colposcopia prática*. São Paulo: Rocca; 1994. p.15-26.

Clavel C, Massure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P. Hybrid capture II based human Papillomavirus detection, a sensitive test to detect in routine high-grade cervical lesions: a preliminary study on 1518 women. *Br J Cancer*. 1999;80:1306-11.

Clavel C, Massure M, Putaud I, Thomas K, Bory JP, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P. Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. *J Clin Pathol*. 1998;51:737-40.

Conover WJ. *Practical nonparametric statistics*. 2a. ed. New York: Wiley. p.493.

Coppleson M, Pixley E, Reid B. *Colposcopia*. 1ª ed. Springfield, Illinois: 1974. p.65-100.

Critchlow CW, Wolner-Hanssen P, Eschenbach DA, Kiviat NB, Koutsky LA, Stevens CE, Holmes KK. Determinants of cervical ectopia and of cervicitis: age, oral contraception, specific cervical infection, smoking, and douching. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;173(2):534-43.

De Palo G. Colposcopic terminology. *CME J Gynecol Oncol*. 2000;5:48-50.

Dell DL, Chen H, Ahmad F, Stewart DE. Knowledge about human papillomavirus among adolescents. *Obstet Gynecol*. 2000;96:653-6.

Diakomanolis E. Indication for referral for colposcopy. *CME J Gynecol Oncol*. 2000;5:45-7.

Digene BRASIL. *Sistema captura híbrida® para HPV*. Disponível em: [www.digene.com.br](http://www.digene.com.br). Acesso Maio, 2005.

Economos K, Perez-Veridiano N, Mann M, Delke I, Tancer ML. Abnormal cervical cytology in adolescents. *J Reprod Med*. 1994;39(12):973-6.

Edebiri A. Cervical intraepithelial neoplasia. *J Reprod Med*. 1990;35:256-9.



Edelman M, Fox AS, Alderman EM, Neal W, Shapiro A, Silver EJ, Spigland I, Suhrland M. Cervical Papanicolaou smear abnormalities in inner city Bronx adolescents: prevalence, progression, and immune modifiers. *Cancer*. 1999;87(4):184-9.

Eppel W, Worda C, Frigo P, Ulm M, Kucera E, Czerwenka K. Human papillomavirus in the cervix and placenta. *Obstet Gynecol*. 2000;96(3):337-41.

Evander M, Edlund K, Gustafsson A, Jonsson M, Karlsson R, Rylander E, Wadell G. Human papillomavirus infection is transient in young women: A population-based cohort study. *J Infect Dis*. 1995;171:1026-30.

Feldman MJ, Linzey EM, Srebnik E, Kent DR, Goldstein AI, Nelson M. Abnormal cervical cytology in the teen-ager: a continuing problem. *Am J Obstet Gynecol*. 1976;126(4):418-21.

Ferenczy A, Koss L, Sherman M, McGoogan E, Hakama M, Monsonego J. Cervical pap smears: advantages, limitations and optimization. In: Monsonego JE, Franco E. (eds). Eurogin – Who International joint meeting. *Cervical cancer control, general statements and guidelines*, 1997. p.20-3.

Ferguson JH. Positive cancer smears in teenage girls. *JAMA*. 1961;178:91-4.

Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Désy M, Rohan TE. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human Papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis.* 1999;180:1415-23.

Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ.* 2001;164:1017-32.

Gay JD, Donaldson LD, Goellner JR. False-negative results in cervical cytology studies. *Acta Cytol.* 1985;29:1043-6.

Gejer D, Reato LFNR, ed. *Sexualidade e saúde reprodutiva na adolescência.* São Paulo: Atheneu; 2001. p.1-10.

Girianelli VR, Thuler LCS, Szlo M, Donato A, Zardo LMG, Lozana JA, Neto OFA, Carvalho ACL, Matos JH, Figueiredo V. Comparação do desempenho do teste de captura híbrida II para HPV, citologia em meio líquido e citologia convencional na detecção precoce do câncer do colo do útero e de suas lesões precursoras no Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Cancerol.* 2004;50(3):225-6.

Gottardi G, Gritti P, Marzi MM, Sideri M. Colposcopic findings in virgin and sexually active teenagers. *Obstet Gynecol.* 1984;63:613-15.

Handsfield HH. Clinical presentation and natural course of anogenital warts. *Am J Med.* 1997;102:16-20.

Hassan E, Relakis C, Matalliotakis I, Kalogeraki A, Koffa M, Delides G, Koumantakis E. Cervical cytology in adolescence. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1997;24(1):28-30.

Hein K, Schreiber K, Cohen MI, Koss LG. Cervical cytology: the need for routine screening in the sexually active adolescent. *J Pediatr.* 1977;91(1):123-6.

Hermonat PL, Han L, Wendel PJ, Quirk JG, Stern S, Lowery CL, Rechtin TM. Human papillomavirus is more prevalent in first trimester spontaneously aborted products of conception compared to elective specimens. *Virus Genes.* 1997;14(1):13-7.

Hildesheim A, Gravitt P, Schiffman MH, Kurman RJ, Barnes W, Jones S, Tchabo JG, Brinton LA, Copeland C, Epp J. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-income women in Washington, D.C. *Sex Transm Dis.* 1993;20(5):279-85.

Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, Glass AG, Greer CE, Zhang T, Scott DR, Rush BB, Lawler P, Sherman ME. Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *J Infect Dis.* 1994;169(2):235-40.

Ho GYF, Kadish AS, Burk RD, Basu J, Palan PR, Mikhail M. Natural history of cervicovaginal Papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 1998;338:423-8.

Hoppman EH, Voorhost FJ, Kenemans P, Meyer CJLM, Helmermost TJM. Observer agreement on interpreting colposcopic images of CIN. *Gynecol Oncol.* 1995;58:206-9.

IARC Working Group. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human papillomaviruses. Lyon: *IARC Scientific Publication* 64, 1995. Disponível em : [www. Dep. iarc.fr](http://www.dep.iarc.fr). Acesso junho, 2004.

IARC. Globocan 2000 Database: *Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide*. World Health Organization. 2002. Disponível em: [www.dep.iarc.fr](http://www.dep.iarc.fr). Acesso Junho, 2004.

Jones DE, Russo JF, Dombroski RA, Lentz SS. Cervical intraepithelial neoplasia in adolescents. *J. Adolesc Health Care.* 1984;5(4):243-7.

Kahn JA. An update on human papillomavirus infection and Papanicolaou smears in adolescents. *Curr Opin Pediatr.* 2001;13(4):303-9.

Kahn JA, Chiou V, Allen JD, Goodman E, Perlam SE, Emans SJ. Beliefs about Papanicolaou smears and compliance with Papanicolaou smear follow-up in adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1999;153:1046-54.

Kahn JA, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GYF, Burk RD. The interval between menarche and age of first sexual intercourse as a risk factor for subsequent HPV infection in adolescent and young adult women. *J Pediatr.* 2002;141:718-23.

Kawana K, Yasugi T, Yoshikawa H, Kawana Y, Matsumoto K, Nakagawa S, Onda T, Kikuchi A, Fujii T, Kanda T, Taketani Y. Evidence for the presence of neutralizing antibodies against human papillomavirus type 6 in infants born to mothers with condyloma acuminata. *Am J Perinatol.* 2003;20(1):11-6.

Kirkwood BR. *Essentials of medical statistics.* 2a. ed., Oxford: Blackwell Scientific; 1989. p.234.

Koss LG. The Papanicolaou test for cervical cancer detection. A triumph and a tragedy. *JAMA.* 1989;261:737-43.

Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. *Ann NY Acad Sci.* 1956;63:1245-61.

Koustky L, Holmes K, Critchlow C. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med.* 1992;327:1272-8.

---

Lee KR, Ashfaq R, Birdsong GG, Corkill ME, McIntosh KM, Inhorn SL. Comparison of conventional Papanicolaou smears and fluid-based, thin-layer system for cervical cancer screening. *Obstet Gynecol.* 1997;90:278-84.

Liaw KL, Schiffman MH, Cope JU, Glass AG, Manos MM, Sherman ME. Update on recent clinical studies using HPV testing for screening and diagnosis of cervical neoplasia. *CME J Gynecol Oncol.* 2000;5:41-4.

Limburg H. Comparison between cytology and colposcopy in the diagnosis of early cervical carcinoma. *Am J Obstet Gynecol.* 1958;75:1298-301.

Lörincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol.* 1992;79(3):328-37.

Manos M, Kinney W, Hurley LB, Sherman RJ. Utility of HPV-DNA testing and liquid-based cytology in the triage of women with mild pap abnormalities. *JAMA.* 1999;281:1605-10.

Meijer CJLM, Rozendaal R, Verheijen RM, Walboomers JMM. Clinical role of HPV testing. *CME J Gynecol Oncol,* 2000, 5:26-9.

Meisels A, Fortin R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina: I. Cytologic patterns. *Acta Cytol.* 1976;20:505-9.

---

Molano M, Posso H, Weiderpass E, van den Brule AJ, Ronderos M, Francheschi S, Meijer CJ, Arslan A, Munoz N; HPV Study Group HPV Study. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. *Br J Cancer*. 2002;87(3):324-33.

Monsonogo J. Role of HPV testing in secondary and primary screening of cervical neoplasia. *CME J Gynecology Oncol*. 2000; 5:64-5.

Monsonogo J, Semaille C, Beumont M, Dachez R, Zérat L, Bianchi A. Prediction of CIN by hybrid capture II HPV DNA testing. *Personal Com*, 1999.

Moscicki AB. Human papillomavirus infection in adolescents. *Pediatr Clin North Am*. 1999;46(4):783-807.

Moscicki AB, Shiboski S, Broering J, Powell K, Clayton L, Jay N, Darragh TM, Brescia R, Kanowitz S, Miller SB, Stone J, Hanson E, Palefsky J. The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr*. 1998;132(2):277-84.

Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, Powell K, Jay N, Hanson E, Miller S, Clayton L, Farhat S, Broering J, Darragh T, Palefsky J. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA*. 2001;285:2995-3002.

Moscicki AB, Winkler B, Irwin CE, Schachter J. Differences in biologic maturation, sexual behaviour, and sexually transmitted disease between adolescents with and without cervical intraepithelial neoplasia. *J Pediatr.* 1989;115:487-93.

Mossetti C, De Palo G. A colposcopia ontem e hoje. In: *Colposcopia e patologia do trato genital inferior*. Rio de Janeiro: MEDSI; 1996. p.31-61.

Mount SL, Papillo JL. A study of 10 296 pediatric and adolescent Papanicolaou smear diagnoses in Northern New England. *Pediatrics.* 1999;103:539-45.

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

Muñoz N. New opportunities for cervical cancer in Latin America. *Hpv Today.* 2004;4:1-4.

Munõz Nm, Bosch FX, Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJF, Meijer Chris JLM. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:518-27.

Navratil E, Burghardt E, Bajardi F, Nash W. Simultaneous colposcopy and cytology used in screening for the carcinoma of the cervix. *Am J Obstet Gynecol.* 1958;75:1292-7.



Netto AR, Ribalta JCL, Focchi J, Baracat EC. Alternativas para o rastreamento do câncer do colo uterino. *Femina*. 2002;30(10):693-8.

Organização Mundial da Saúde. *Vaccine research: human papillomavirus infection and cervical cancer*. Disponível em: [www.who.int](http://www.who.int). Acesso Set., 2003.

Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001;37:4-66.

Pereyra EAG, Parellada CI. Diagnóstico e tratamento da infecção genital pelo papilomavírus. *Fascículo Schering/ARTSMED*, 2003.

Peyton CL, Schiffman M, Lörincz AT, Hunt WC, Mielzynska I, Bratti C, Eaton S, Hildesheim A, Morera LA, Rodriguez AC, Herrero R, Sherman ME, Wheeler CM. Comparison of PCR and hybrid capture-based human Papillomavirus detection systems using multiple cervical specimen collection strategies. *J Clin Microbiol*. 1998; 36:3248-54.

Purola E, Savia E. Cytology of gynecologic condyloma acuminatum. *Acta Cytol*. 1977;21:26-31.

Ries LAG, Eisner, MP, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L. *Cancer statistics review*, 1975–2002. Disponível em: [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2002](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2002). Acesso Maio, 2005.

Robles SC, White F, Peruga A. Trends in cervical cancer mortality in the Americas. *Bull Pan Am Health Organ*. 2002;30:290-301.

Sadeghi SB, Hsieh EW, Gunn SW. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia in sexually active teenagers and young adults. *Am J Obstet Gynecol*. 1984;148:726-9.

Salvatore CA, Fonseca AM, Souen JS, Schivartche PL, Bastos AC. Carcinoma pré-invasivo do colo do útero (Estudo de 600 casos). *Ginec Obstet Bras*. 1978;1:359-79.

Sankaranarayanan R, Budukh AM, Rajkumar R. Effective screening programmes for cervical cancer in low and middle income developing countries. *Bull World Health Organ*. 2001;79:954-62.

Santos ALF, Derchain SFM, Calvert EB, Martins MR, Duflooth RM, Martinez EZ. Performance of cervical cytology with review by different observers and hybrid capture II in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia grades 2 and 3. *Cadernos de Saúde Pública*. 2003;19(4):1029-37.

São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Últimas notícias: *Gravidez na adolescência despenca 28% em SP*. Disponível em: [www.saude.sp.gov.br](http://www.saude.sp.gov.br). Acesso Junho, 2005.

Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki AB, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C; American Cancer Society. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J Clin* 2002, 52: 342-62.

Schiffman MH, Brinton LA. The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Epidemiol Biostat Progr*. 1995;76(Suppl.10):1888-901.

Sedlacek TV, Sedlacek AE, Neff DK, Rando RF. The clinical role of human Papillomavirus typing. *Gynecol Oncol*. 1991;42:222-6.

Sherman ME, Schiffman MH, Lorincz AT, Herrero R, Hutchinson ML, Bratti C, Zahniser D, Morales J, Hildesheim A, Helgesen K, Kelly D, Alfaro M, Mena F, Balmaceda I, Mango L, Greenberg M. Cervical specimens collected in liquid buffer are suitable for both cytologic screening and ancillary human papillomavirus testing. *Cancer Cytopathol*. 1997;81:89-97.

Shew ML, Fortenberry JD, Miles P, Amortegui AJ. Interval between menarche and first sexual intercourse, related to risk of human papilloma virus infection. *J Pediatr*. 1994;125:661-6.

Singer A. The uterine cervix from adolescence to the menopause. *Br J Obstet Gynecol*. 1975;82:81-99.

Snyder RN, Ortiz Y, Willie S, Cove JK. Dysplasia and carcinoma in situ of the uterine cervix: prevalence in very young women (under age 22). A one-year study in a health plan population. *Am J Obstet Gynecol.* 1976;124(7):751-6.

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T Jr, Young N; Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002;287(16):2114-9.

Stafl A. New nomenclature for colposcopy. Report of the Committee on Terminology. *Obstet Gynecol.* 1976;48:123-4.

Sun XW, Ferenczy A, Johnson D, Koulos JP, Lungu O, Richart RM, Wright Jr. TC. Evaluation of the Hybrid Capture human papillomavirus deoxyribonucleic acid detection test. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(5):1432-7.

Syrjanen K, Hakama M, Saarikoski S, Vayrynen M, Yliskoski M, Syrjanen S, Kataja V, Castren O. Prevalence, incidence, and estimated life-time risk of cervical human papillomavirus infections in a nonselected Finnish female population. *Sex Transm Dis.* 1990;17(1):15-9.

Syrjänen KJ, Syrjänen SM. *Papillomavirus infections in human pathology 2000.* Chichester: John Wiley & Sons Ltd; 2000. p.615.

Tacla M, Tubaki ME, Schwarzschild MMS, Luca PD, Meniconi MC, Barrueco AK, Lopes EA, Duarte MI. Abnormal pap smear in adolescence. In: XVI FIGO World Congress of Gynecology and Obstetrics, Washington D.C., 2000. *Proceedings*. Washington D.C., 2000. p.80.

Tezuka F, Oikawa H, Shuki H, Higashiiwai H. Diagnostic efficacy and validity of thinprep method in cervical cytology. *Acta Cytol*. 1996;40:513-8.

Tubaki ME, Tacla M, Schwarzschild MMS, Luca PD, Meniconi MC, Torata Nakano Y, Lopes EA, Duarte MI. Colposcopic assessment of cervical intraepithelial neoplasia in adolescence. In: XI International Congress of Cervical Pathology and Colposcopy, Barcelona, 2002. *Proceedings*. Barcelona, 2002. 338-9.

Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV. Human papilloma virus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999;189:12-9.

Walker P, Dexeus S, De Palo G, Barrasso R, Campion M, Girardi F, Jakob C, Roy M. International Terminology of Colposcopy: An Update Report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol*. 2003;101:175-7.

Wallace DL, Slankard JE. Teenage cervical carcinoma in situ. *Obstet Gynecol*. 1973;41(5):697-700.

---

Waxman AG. Guidelines for Cervical Cancer Screening: History and Scientific Rationale, [Screening and Management of Cervical Dysplasia: Current Status and Future Prospects]. *Clin Obstet Gynecol.* 2005;48(1):77-97.

Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science.* 1990;248(4951):76-9.

Willians DR. Cervical cytology. In: Luesley D. ed. *Handbook of colposcopy.* London: Chapman & Hall; 1996. p.11-20.

Wright TC, Sun XW, Koulos J. Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities. *Obstet Gynecol.* 1995;85(2):202-10.

Yoshpe NS. Oral and laryngeal papilloma: a pediatric manifestation of sexually transmitted disease?. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1995;31(1):77-83.