

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL

**ELIONÔRA DE JESUS CARNEIRO JANSEN DE MELLO**

**PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) EM ADOLESCENTES DE  
UMA ESCOLA PÚBLICA EM SÃO LUÍS – MA**

**São Luís  
2009**

**ELIONÔRA DE JESUS CARNEIRO JANSEN DE MELLO**

**PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM ADOLESCENTES DE UMA ESCOLA  
PÚBLICA EM SÃO LUÍS – MA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do Título de Mestre em Saúde Materno-Infantil.

Orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria do Desterro Soares  
Brandão Nascimento

São Luís  
2009

Mello, Elionôra de Jesus Carneiro Jansen de

Papilomavírus humano (HPV) em adolescentes de uma escola pública em São Luís-Ma / Elionôra de Jesus Carneiro Jansen de Mello. – São Luís, 2009.

100f.: il.

Impresso por computador (fotocópia).

Orientadora: Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Mestrado em Saúde Materno Infantil, 2009.

1 Infecções por Papillomavírus 2. Reação em Cadeia da Polimerase 3. Saúde do Adolescente. 4. Educação Sexual I. Título.

CDU: 616.97(812.1).

**ELIONÔRA DE JESUS CARNEIRO JANSEN DE MELLO**

**PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM ADOLESCENTES DE UMA ESCOLA  
PÚBLICA EM SÃO LUÍS – MA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do Título de Mestre em Saúde Materno-Infantil.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de banca de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em     /     /

(   ) APROVADA

(   ) REPROVADA

Presidente \_\_\_\_\_

**Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento** (Orientadora)  
Doutora em Medicina  
Universidade Federal do Maranhão

1) Examinador \_\_\_\_\_

**Prof. Dr. Marcos Antônio Barbosa Pacheco**  
Doutor em Políticas Públicas  
Centro Universitário do Maranhão

2) Examinador \_\_\_\_\_

**Prof<sup>ª</sup> Dra. Luciane Maria Oliveira Brito**  
Doutora em Medicina  
Universidade Federal do Maranhão

3) Examinador \_\_\_\_\_

**Prof. Dr. Raimundo Antonio da Silva**  
Doutor em Saúde Pública  
Universidade Federal do Maranhão

*“Deus, pastor dos homens.*

*O Senhor é meu pastor, nada me faltará.*

*Em verdes prados ele me faz repousar.*

*Conduz-me junto às águas refrescantes, restaura  
as forças de minha alma.*

*Pelos caminhos retos ele me leva, por amor do  
seu nome”.*

(Heb. 23)<sup>1</sup> Salmo de Davi.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus todo poderoso, pelo seu grande e maravilhoso amor e pela sua infinita bondade que sempre cobriu com seu manto sagrado minha vida, minha família, meus familiares e amigos queridos.

Aos meus pais Nódzu Penna Jansen de Mello e Carolina Carneiro Jansen de Mello, que serviram de exemplo para que eu sempre caminhasse na estrada do saber e da ética. (*in memorium*).

Aos meus irmãos Edna, Elenice, Ednice, Edmar, Francisco, Eneida, Eder, Edmilson, Elda, Zarah, Nódzu e Eduardo Carneiro Jansen de Mello pelo carinho e incentivo durante toda a trajetória deste curso.

Ao meu esposo Estevam Anunciação Silva pelo seu apoio, companheirismo, carinho e compreensão.

A todos os meus sobrinhos pela paciência e carinho nas horas mais angustiantes desta caminhada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal do Maranhão, coordenado pela Profa. Dra. Luciane Maria Oliveira Brito, que sabiamente tem conduzido com ações exitosas este Mestrado Acadêmico.

À minha orientadora Professora Doutora Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento pelo seu apoio, dedicação e exemplo profissional.

À mestra, colega Professora Doutoranda do DINTER FISCLINEX, UERJ-UFMA Dulcelena Ferreira Silva, que muito contribuiu para o êxito desta jornada.

À Professora e Diretora do Centro Integrado do Rio Anil (CINTRA), Rita de Cássia Correa Santos Alves, demais professores e alunas que colaboraram espontaneamente neste trabalho científico.

À Técnica de Enfermagem Solange de Jesus Santos, que compartilhou no levantamento dos dados desta pesquisa.

Aos colegas, professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da UFMA, que estiveram sempre ao meu lado nos bons e maus momentos da minha vida acadêmica, dando-me todo apoio nesta peregrinação.

Aos médicos patologistas e funcionários do Laboratório de Citohistopatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão – HUUFMA.

Aos acadêmicos do Curso de Medicina da Disciplina de Oncologia do Departamento de Patologia (DEPAT) e do Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada (NIBA) da UFMA, que ajudaram nesta pesquisa.

Aos bolsistas do PIBIC/CNPq/UFMA José Alberto Pereira Pires, Ramón Moura dos Santos e da aluna Sinara Marques dos Santos, BIC/FAPEMA/UFMA pela participação na construção das tabelas e gráficos e especial agradecimento ao Bolsista PIBIC/CNPq/UEMA, Marcos Davi Gomes de Sousa, como também aos acadêmicos e sobrinhos Walder Jansen Melo Lobão da UFMA e Lucas Jansen de Melo Rocha do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnológica do Maranhão.

À Professora Doutora Sônia Vieira, integrante da UNICAMP, pela colaboração e dedicação à análise estatística.

À Professora Doutora Silma Regina Ferreira Pereira, geneticista da UFMA pela colaboração neste trabalho científico.

À Professora Doutoranda Geusa Felipa de Barros Bezerra do DEPAT/UFMA e RENORBIO pela contribuição nesta pesquisa.

A Helena Ribeiro de Sousa, secretária do Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da UFMA, pela atenção e a reconhecida dedicação.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Às famílias e às próprias adolescentes do Centro Integrado do Rio Anil (CINTRA), que se disponibilizaram em participar desta investigação científica.

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram de forma direta e/ou indireta para o êxito deste trabalho.

*“Preferir a derrota prévia à dúvida da vitória é desperdiçar a oportunidade de merecer. Para os erros há perdão; para os fracassos, chance; para os amores impossíveis, tempo”.*

**Luís Fernando Veríssimo**

## RESUMO

O papilomavírus humano (HPV) é o agente da infecção sexualmente transmissível mais comum na adolescência em âmbito mundial. O câncer do colo do útero, relacionado a esta infecção, é a principal causa de morte no Maranhão. O diagnóstico biomolecular usado é a reação em cadeia de polimerase (PCR) para detecção do HPV. Propõe-se investigar a frequência dos genótipos de HPV em adolescentes do ensino médio de uma escola pública de São Luís-MA, por diferentes métodos diagnósticos. Realizou-se um estudo transversal, descritivo, em adolescentes, cursando o ensino médio, totalizando 39 alunas com idade entre 15 a 19 anos no período julho de 2008 a junho de 2009. Utilizou-se questionário abordando variáveis sócio-demográficas e comportamento sexual. Realizou-se citopatologia, colposcopia, colpobiópsia e genotipagem por PCR-Nested em toda amostra. O critério de inclusão compreendeu presença de atividade sexual e os de não inclusão foram mulheres que não tiveram atividade sexual, positividade para HIV e gravidez. Os dados foram avaliados e transferidos para uma planilha no software Excel 2007 e Epi-Info 6.04. Os dados sócio-demográficos mostraram que a maioria das adolescentes estudadas tinha de 15 a 17 anos, era de procedência urbana e estudantes em tempo integral, cor branca e escolaridade entre 12 e 14 anos. Em 25 (64,1%) adolescentes, a sexarca ocorreu antes dos 16 anos ( $p=0,240$ ), a metade disse ter de uma a quatro relações sexuais semanais ( $p=0,082$ ); um parceiro (51,3%), e dois a três parceiros (38,5%); 82% disseram nunca ter tido DST ( $p=0,704$ ). Três relataram abortamento ( $p=0,463$ ). Uma informou parto aos 17 anos. Quanto às queixas ginecológicas, as principais foram leucorréia (79,5%;  $p=0,016$ ) e prurido (23,1%;  $p=0,928$ ). Oito (20,5%) relataram antecedentes de câncer familiar. À colposcopia, nenhuma apresentou lesões vulvares ou vaginais, tendo sido diagnosticado lesão menor em sete adolescentes (17,0%). O exame citopatológico apresentou resultado inflamatório em 37 (94,9%) e LSIL/HPV em um exame. A histopatologia foi realizada em 15 alunas (38,5%), sendo que sete apresentaram alterações sugestivas de HPV. A genotipagem foi positiva em 29 alunas (74,3%), com predomínio para 14 genótipos de alto risco em 21 (72,4%) adolescentes, sendo eles: 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 82, distribuídos em infecções múltiplas coexistentes e simples. Na avaliação da acurácia por PCR - Nested o valor preditivo positivo foi de 85,7% (verdadeiros positivos), e o valor preditivo negativo foi de 12,5% (verdadeiros negativos), técnica que fornece informações diagnósticas úteis ao estudo do papilomavírus como infecção múltipla e simples.

**Palavras-chave:** Infecções por Papillomavírus. Reação em Cadeia da Polimerase. Saúde do Adolescente. Educação Sexual.

## ABSTRACT

The human papillomavirus (HPV) is the agent of most common sexually transmitted infection in adolescence worldwide. The cervical cancer, related to this infection, is the leading cause of death in Maranhão. The biomolecular diagnosis used to HPV detection is the polymerase chain reaction (PCR). It is proposed to investigate the frequency of the HPV genotypes in high school students from a public school in Sao Luis by different diagnostic methods. We conducted a cross-sectional study, descriptive at adolescents in high school, totaling 39 female students aged 15 to 19 years in the period July 2008 to June 2009. A questionnaire covering socio-demographic and sexual behavior was used. It was carried out cytopathology, colposcopy, cervical biopsy and genotyping by Nested PCR in each sample. The inclusion criteria were presence of sexual activity and we excluded women who had no sexual activity, those with positivity for HIV and pregnant. The data were transferred to a spreadsheet in the software Excel 2007 and evaluated using Epi-Info 6.04. The socio-demographic data showed that most female adolescents studied was 15 to 17 years old, they lived in urban area and they were full-time students, they were white and had schooling from 12 to 14 years. In 25 (64.1%) adolescents, the first sexual intercourse occurred before age 16 ( $p = 0.240$ ), half said to have among one and four sexual intercourses per week ( $p = 0.082$ ), one partner (51.3%), and two to three partners (38.5%), 82% reported ever having had STDs ( $p = 0.704$ ). Three reported abortion ( $p = 0.463$ ). One reported having given birth to 17 years. As for gynecologic complaints, the main were leukorrhea (79.5%,  $p = 0.016$ ) and pruritus (23.1%,  $p = 0.928$ ). Eight (20.5%) reported family history of cancer. At colposcopy, there were no vulvar or vaginal lesions and we diagnosed minor injury in seven adolescents (17.0%). The Pap smear result showed inflammation in 37 (94.9%) and LSIL / HPV in a test. Histopathology was performed in 15 students (38.5%), and seven had changes suggestive of HPV. Genotyping was positive in 29 students (74.3%), predominantly to 14 high-risk genotypes in 21 (72.4%) adolescents, namely: 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 82, distributed in multiple coexisting and simple infections. In assessing the accuracy of Nested PCR, positive predictive value was 85.7% (true positives), and negative predictive value was 12.5% (true negatives), Nested PCR provides useful diagnostic information to the study of human papillomavirus, as multiple and simple infections diagnosis.

Keywords: Papillomavirus Infections. Polymerase Chain Reaction. Adolescent Health. Sex Education.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	ix
ABSTRACT .....	x
LISTA DE TABELAS .....	xiii
LISTA DE FIGURAS .....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xv
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Epidemiologia .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2 Diagnóstico .....</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>12</b>
<b>3 PACIENTES E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Pacientes .....</b>	<b>13</b>
3.1.1 Critérios de inclusão.....	13
3.1.2 Critérios de não-inclusão.....	14
<b>3.2 Questionário .....</b>	<b>14</b>
<b>3.3 Exame físico .....</b>	<b>14</b>
<b>3.4 Citopatologia cérvicovaginal .....</b>	<b>15</b>
<b>3.5 Genotipagem por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)-Nested .....</b>	<b>15</b>
3.5.1 Extração do DNA .....	16
<b>3.6 Colposcopia .....</b>	<b>18</b>
<b>3.7 Colpobiópsia.....</b>	<b>19</b>
<b>3.8 Aspectos éticos .....</b>	<b>20</b>
<b>3.9 Análise estatística.....</b>	<b>21</b>
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>22</b>

<b>4.1 Dados sócio-demográficos</b> .....	22
<b>4.2 Comportamento sexual e vida reprodutiva</b> .....	22
<b>4.3 Antecedentes familiares, hábitos de vida, avaliação ginecológica, citopatologia, colposcopia e genotipagem</b> .....	23
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	33
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	42
REFERÊNCIAS .....	43
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....	64
APÊNDICE B – Ficha Protocolo .....	66
APÊNDICE C – Artigo científico submetido à Revista Virology .....	69
ANEXO A – Requisição de exame citopatológico colo do útero .....	82
ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Presidente Dutra .....	84

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados sócio-demográficos das adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA. ....	22
Tabela 2 - Comportamento sexual das adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA. ....	23
Tabela 3 - Antecedentes familiares, hábitos de vida e características do epitélio cervical das adolescentes de uma escola Pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís-MA. ....	24
Tabela 4 - Saúde sexual das adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA. ....	24
Tabela 5 - Microbiologia evidenciada por citopatologia em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA. ....	25
Tabela 6 - Colposcopia e colpobiópsia/histopatologia realizadas em adolescentes de uma escola Pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís-MA. ....	26
Tabela 7 - Relação entre a colposcopia e a genotipagem em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA. ....	27
Tabela 8 - Relação entre os achados da citopatologia, histopatologia e genotipagem (PCR)-Nested da cérvix de adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís – MA. ....	28
Tabela 9 - Distribuição das adolescentes de uma escola pública por idade de acordo com o resultado da citopatologia, colposcopia e genotipagem. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís-MA.....	28
Tabela 10 - Distribuição da genotipagem por PCR-Nested para HPV de acordo com os genótipos em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís-MA. ....	29
Tabela 11 - Distribuição dos tipos de HPV presente em adolescentes de uma escola Pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís-MA. ....	30
Tabela 12 - Correlação entre a histopatologia e genotipagem em adolescentes de uma escola Pública de São Luís-MA em Julho de 2008 a junho de 2009. ....	32

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Distribuição dos tipos de HPV em 39 adolescentes submetidas à reação de PCR, demonstrando a infecção em 29 estudantes. São Luís-MA: 2008-2009. .... 31
- Figura 2 - Genótipos de HPV em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA. .... 31
- Figura 3 – Tipos virais de HPV e tamanhos dos amplicons gerados pela PCR-Nested..... 32

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>A7</b>	Alfa Sete,
<b>A9</b>	Alfa Nove
<b>ABG</b>	Associação Brasileira de Genitoscopia
<b>AGUS</b>	Glandular Cells of Undetermined Significance
<b>AIDS</b>	Acquired Immune Deficiency Syndrome
<b>ASCUS</b>	Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance
<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention
<b>CH II</b>	Captura Híbrida II
<b>CINTRA</b>	Centro Integrado do Rio Anil
<b>CNCC</b>	Campanha Nacional Contra o Câncer
<b>CNS</b>	Conselho Nacional de Saúde
<b>dNTPs</b>	Desoxirribonucleotídeos Trifosfato
<b>DST</b>	Doença Sexualmente Transmissível
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>HMIS</b>	Hibridização Molecular <i>In Situ</i>
<b>HPV</b>	<i>Human Papillomavírus</i>
<b>HSIL</b>	High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion (Lesão Escamosa Intraepitelial de Alto Grau)
<b>HUUFMA</b>	Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
<b>INCA</b>	Instituto Nacional do Câncer
<b>INF</b>	Interferon
<b>IVA</b>	Inspeção Visual com Ácido Acético
<b>JEC</b>	Junção Escamo-Colunar
<b>LAG</b>	Lesão Glandular Atípica
<b>LSIL</b>	Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion (Lesão Escamosa Intraepitelial de Baixo Grau)
<b>MERCOSUL</b>	Mercado Comum do Sul
<b>MS</b>	Ministério da Saúde
<b>NaCl</b>	Cloreto de Sódio
<b>NCCDPHP</b>	National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion
<b>NIC</b>	Neoplasia Intra-Epitelial Cervical
<b>NTS</b>	<i>National Television System</i>

<b>°C</b>	Graus Centígrados
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>pb</b>	pares de base
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia de Polimerase
<b>pMol</b>	Pico mol
<b>SDS</b>	Sulfato Dodecyl Sódio
<b>SIDA</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>Taq DNA</b>	<i>Thermus aquaticus</i> DNA
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TLN</b>	Tampão Lise Nuclear
<b>U</b>	unidades
<b>µL</b>	Micro litro
<b>µMol</b>	Micro mol

# 1 INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é reconhecido como problema de saúde pública. Cerca de 500.000 novos casos são diagnosticados anualmente no mundo (WHO, 1997, 1998, 2002; PARKIN et al. 2001; RIETHMULLER et al. 2008; ANTONIAZZ; D'ALESSANDRO; TEIXEIRA, 2008).

A análise molecular, o estabelecimento da pluralidade do papilomavírus, estrutura e organização do genoma, a atividade do gene e sua valoração no câncer humano foram intensamente estudadas na década de 1970 e 1980. Um grande impulso a esses estudos postularam hipóteses do papel deste grupo de vírus relacionado ao câncer do colo do útero (ZUR-HAUSEN, 1976; 1977; ROSA et al. 2009).

A associação entre os vírus do papiloma humano (HPV) e câncer do colo do útero foi sugerida por Harald Zur Hausen em 1974, contudo o HPV, isoladamente, não é capaz de causar o desenvolvimento do câncer, representando um dos múltiplos fatores envolvidos na oncogênese cervical (BEHBAKHT et al. 2002; CÂMARA, 2003; BARRETO, 2007; ZUR-HAUSEN, 2009).

A história natural compreende a infecção por HPV, que acomete jovens no início da atividade sexual, que pode se comportar como fenômeno transitório. Entretanto, a persistência do vírus pode propiciar alteração no epitélio cervical e a evolução para transformação maligna. As infecções persistentes por tipos virais de alto risco do HPV demonstram a relação com o desenvolvimento do câncer do colo do útero (RICHARDSON et al. 2000; DISCACCIATI et al. 2004; LONGATTO FILHO et al. 2004; RICHART; PATTERN, 2006; ZAMPIROLO; MERLIN; MENEZES, 2007; RAMA et al. 2008).

Desde a década de 80, uma série de críticas relacionadas à alta taxa de resultados falso-negativos nos exames citopatológicos trouxeram questionamentos sobre a validade da manutenção pelos serviços laboratoriais clínicos de detecção precoce do câncer do colo do útero. As principais causas dos resultados falso-negativos foram relacionadas a erros na coleta do material, no escrutínio do esfregaço e na interpretação dos diagnósticos citopatológicos (MANRIQUE et al. 2007).

Na década de 80, nos Estados Unidos, estudo por Queiroz, Pessoa e Sousa (2005) foi um dos primeiros a apontar a tendência crescente da prevalência de lesões intra-epiteliais entre adolescentes de 15 a 19 anos, tendo elevada taxa de prevalência histológica de lesões de todos os

graus, uma taxa mais reduzida para citologias anormais e não sendo observado nenhum caso de carcinoma invasivo.

O Serviço Nacional de Câncer publicou, em 1970, um levantamento estatístico de casos de câncer do ano 1968, fornecidos por 27 entidades filiadas à Campanha Nacional Contra o Câncer (CNCC), como também, as informações sobre o câncer de colo de útero, como sendo a principal causa de morte entre as mulheres (THULER, 2008).

A Agência Internacional de investigação contra o câncer confirmou o HPV como agente causal responsável pela lesão escamosa intraepitelial de baixo grau (LSIL) ou alto grau (HSIL) e neoplasia cervical, em 1995 (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2009).

Segundo Leal et al. (2003) a frequência das lesões precursoras do câncer de colo do útero foi descrita em mulheres jovens, residente no Acre, Rio Branco, compreendendo a idade de 15 a 29 anos, com vida sexual ativa. No Rio de Janeiro, Novaes (2006) analisou a prevalência de Doença Sexualmente Transmissível (DSTs) e lesão cervical na população feminina entre 10 e 19 anos de idade.

Atualmente o trabalho contínuo de educação sexual e prevenção de HPV nas escolas em que participam vários profissionais, tais como, oncologistas, ginecologistas, pediatras, hebeatas e imunologistas mostram que os alunos do primeiro e segundo anos colegiais, entre 15 e 16 anos, devem ser informados quanto à necessidade da educação sexual orientada com responsabilidade, para a prevenção contra o HPV e o uso da vacina quadrivalente anti-HPV (LESSA, 2008; CATES et al. 2009).

As lesões pré-neoplásicas do trato genital inferior têm sido amplamente estudadas na década de 30 até os dias de hoje (ORIEL, 1971; GROSS; BARRASO, 1999; SELLORS et al. 2003; DOORBAR; STERLING, 2001).

A introdução, o desenvolvimento e o aprimoramento de diferentes métodos diagnósticos contribuíram de forma decisiva na detecção cada vez mais precoce das lesões precursoras das neoplasias malignas do trato genital inferior, possibilitando abordagem terapêutica mais efetiva (TUBAKI, 2004).

O método tradicional, estabelecido por George Papanicolaou na década de 40, classificava o esfregaço de colo do útero em classes I, II, III, IV e V. Este método tem algumas limitações, por coletar apenas células superficiais e células descamadas, sendo que alguns estudos mostraram falso-negativos em até 50% (TUBAKI, 2004).

As alterações celulares produzidas pelo HPV foram estudadas pelos citologistas Koss e Meisels, que as denominaram inicialmente de displasias leves, moderadas e acentuadas (QUEIROZ; PESSOA; SOUSA, 2005).

Em 1947, Richart introduz o conceito de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC), sugerindo haver uma continuidade e evolução das lesões displásicas leves até carcinoma invasor (RIVOIRE et al. 2001).

A neoplasia intra-epitelial cervical escamosa (NIC) é considerada lesão precursora do câncer do colo do útero e caracteriza-se pela presença de alterações histopatológicas que se restringem ao epitélio estratificado escamoso. Nas lesões do colo do útero NIC I, NIC II e NIC III, as alterações celulares estão localizadas no terço inferior, médio e superior, respectivamente, do epitélio cervical. As NIC II e NIC III são denominadas lesões de alto grau e NIC I lesão de baixo grau. (TUBAKI, 2001).

Ao exame colposcópico, após a aplicação do ácido acético, as lesões de baixo grau (NIC I) podem-se apresentar como áreas de epitélio acetobranco, mosaico ou pontilhado fino. As lesões de alto grau (NIC II e NIC III) podem ser visualizadas como áreas de epitélio acetobranco, pontilhado ou mosaico e alterações vasculares com padrões mais grosseiros, com o aumento da gravidade da lesão (TUBAKI, 2004; SILVEIRA et al. 2005; PEDROSA; MATTOS; KOIFMAN, 2008).

Os estudos epidemiológicos e moleculares têm confirmado a presença da infecção cervical por alguns tipos de HPV, como o fator precursor na patogênese do câncer cervical (FERNANDES et al. 2004).

As estirpes mucosas de vírus do papiloma humano são divididas em categorias de alto risco e baixo risco, com base na sua associação com lesões cervicais. Os tipos de alto risco são mais frequentemente encontrados em lesões malignas ou pré-malignas, os tipos de baixo risco são encontrados em lesões benignas como o condiloma acuminado (JACYNTHO, 2005; SANDRI et al. 2006; GOMES et al. 2008).

A adolescência propriamente dita corresponde à faixa etária entre 15 e 19 anos, e constitui um processo fundamentalmente biológico de vivências orgânicas, no qual se aceleram o desenvolvimento cognitivo e a estruturação da personalidade (BRASIL, 2001).

Um dos fatores importantes que determina a precocidade da relação sexual é a desinformação quanto ao desenvolvimento de habilidades sexuais, retardando assim o início

da prática sexual em relação aos adolescentes que receberam este tipo de informação (MIRANDA; RESENDE; URZEDO, 2006).

Na adolescência, fatores biológicos, falta de informação e conceitos equivocados, facilitam a transmissão de doenças sexuais. O HPV não possui ainda um espaço significativo nas campanhas nacionais de educação e prevenção (LINARD; FERNANDES; ROCHA, 1999; CONTI; BORTOLIN; KULKAMP, 2006; GLUCHOWSKI; SILVA; NAKAMURA, 2007).

A história natural do câncer do colo do útero pode ser dividida em três fases: a primeira, quando está presente a infecção por HPV sem outras manifestações detectadas; a segunda, quando apresenta alterações morfológicas da célula do epitélio do colo do útero, que caracterizam as lesões intra-epiteliais, e a terceira fase é a presença da lesão ultrapassando a membrana basal do epitélio cervical, caracterizando o câncer invasor, fase esta irreversível que, se não tratada, leva a óbito (RAMA et al. 2006).

A infecção pelos tipos virais de alto risco é necessária, mas não suficiente para o desenvolvimento do câncer do colo do útero. Em 90% dos casos a infecção por HPV é um fenômeno transitório. O verdadeiro grupo de risco para desencadear câncer cervical é representado por mulheres que tem infecção persistente por HPV (ROTELI-MARTINS et al. 2007).

As formas de infecção pelo HPV são dos tipos: clínica, subclínica e latente. A forma clínica corresponde às lesões verrucosas. A forma subclínica é detectada por alterações citopatológicas e colposcópicas. A histopatologia da biópsia do colo do útero sugere também, a presença do vírus (RIOS, 2004). A forma latente corresponde à identificação do vírus pela biologia molecular na ausência de alterações morfológicas (ROTELI-MARTINS et al. 2007).

A identificação do DNA do HPV pelos testes virais depende ou não de alterações morfológicas induzidas pelo vírus (BORGES et al. 2004).

No desenvolvimento das lesões precursoras e do próprio câncer do colo do útero os fatores de risco estão relacionados à atividade sexual: sexarca precoce, multiparidade, condições socioeconômicas, higiene pessoal, agentes infecciosos, processo inflamatório de diversas etiologias, deficiências nutricionais, hormonais, agentes imunossupressores, fatores genéticos, uso prolongado de contraceptivos orais, tabagismo, além de outros (NONNEMACHER et al. 2002; SALCEDO et al. 2008).

O vírus do papiloma humano é o mais frequentemente transmitido por via sexual, originando também, uma das mais prevalentes entre todas as doenças sexualmente transmissíveis. O HPV tem uma nítida correlação com os processos malignos e lesões precursoras da cérvix uterina, sendo considerado o maior fator de risco para a gênese do processo maligno (MENDES; SILVEIRA; PAREDES, 2004).

A infecção por HPV acomete jovens no início da atividade sexual. As mulheres que apresentam infecção persistente por tipos virais de alto risco do HPV são consideradas o verdadeiro grupo de risco para o desenvolvimento do câncer do colo do útero (RAMA et al. 2008).

A carcinogênese cervical é um processo de múltiplas etapas, compreendendo as alterações no equilíbrio citogenético, que ocorrem na transformação do epitélio normal até câncer cervical. A integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira é, provavelmente, o passo mais importante na carcinogênese (RIVOIRE et. al. 2006; QUEIROZ; CANO; ZAIA, 2007).

O ciclo celular é controlado por protooncogenes e genes supressores, ocorrendo mutações, os protooncogenes tornam-se oncogenes, que são carcinogênicos e causam multiplicação celular excessiva. O ciclo celular também, pode ser alterado pela ação de vírus, entre eles o HPV, de especial interesse na oncogênese cervical. A relação do HPV com a carcinogênese depende fundamentalmente do tipo e da carga viral e de sua persistência e integração com a célula hospedeira (RAMOS et al. 2005; BERTELSEN et al. 2006; FARIA et al. 2008).

Foram considerados os genótipos 16 e 18 como os mais prevalentes do HPV na etiologia do carcinoma escamoso do colo do útero e a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer, desde 1996 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2009).

Oliveira (2002) demonstrou através da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) a presença ou não do DNA-HPV classificados em baixo risco: 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 70 e 74; DNA de alto risco com os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68, todavia, pode ocorrer a presença de HPV em mulheres com citologia oncótica dentro dos limites de normalidade (NORONHA et al. 2005).

O DNA do HPV de alto risco é detectado na maioria dos espécimes de câncer cervical invasivo, entre 92,9% a 97,7%. A infecção pelos tipos virais de alto risco do HPV é

condição necessária, porém não suficiente, para o desenvolvimento do câncer do colo do útero (RAMA et al. 2008).

Pinto, Túlio e Cruz (2002) mostraram que os possíveis co-fatores do HPV na gênese do câncer escamoso do colo do útero estão associados ou não com o vírus.

## 1.1 Epidemiologia

A infecção pelo vírus do papiloma humano é altamente prevalente, sendo detectada em aproximadamente 10 a 20% da população sexualmente ativa entre 15 e 49 anos de idade. Diante da natureza transitória da infecção pelo HPV, com a possibilidade de regressão espontânea das lesões intraepiteliais, mesmo as de alto grau, observadas em adolescentes, e a raridade da ocorrência de carcinoma cervical nesta faixa de idade, recomenda-se cautela em procedimentos invasivos (NONNENMACHER et al. 2002; RAMÍREZ et al. 2002).

Evidencia-se alta prevalência de HPV associada à neoplasia cervical e sua recente identificação como principal agente causal. Em relação à prevalência na América Latina, Colômbia e Argentina foram os países com registros mais altos, ambos com 94,7%; dos países do Caribe foi a Jamaica (92%) (GUANILO et al. 2006).

Na África e ainda na América Latina a maior prevalência de HPV de alto risco, oncogênicos, são: 16, 18, 31, 35, 45, 51, 52, 58 e 59. O HPV 16 é o mais frequente no mundo, exceto na Indonésia e Argélia, onde o HPV 18 é o mais comum, já o HPV 45 apresenta alta frequência na África Ocidental. Os tipos 33, 39 e 59 se concentram na América Central e América do Sul (QUEIROZ; CANO; ZAIA, 2007).

Na África Subsaariana, Central e do Sul, América, sul e sudeste da Ásia, as taxas de incidência de câncer do colo excedem 25/100.000 mulheres nesses países. Nas décadas de 1950 e 60, na Europa Ocidental, Estados Unidos da América, Canadá, Austrália e Nova Zelândia a incidência e a mortalidade diminuíram marcadamente ao longo de 5 décadas, após a introdução da população com base em programas de exames citopatológicos (BOYLE; LEVIN, 2008).

Na África do Sul, mulheres submetidas ao exame citopatológico apresentaram uma diminuição em torno de 70% do risco de desenvolverem câncer do colo do útero,

demonstrando a importância dos programas de prevenção, especialmente nas regiões onde essa técnica foi pouco difundida (GUIMARÃES et al. 2007; BOYLE; LEVIN, 2008).

Nos Estados Unidos da América, os fatores relacionados ao câncer do colo do útero foram os socioeconômicos, demonstrando que a condição financeira desfavorável, associada à ocorrência de co-morbidades associadas, contribuiu de maneira significativa para uma menor sobrevivência dessas mulheres (GUIMARÃES et al. 2007; BOYLE; LEVIN, 2008).

No Brasil, as taxas de prevalência e incidência de câncer do colo do útero ainda não diminuíram de maneira consistente, caracterizando um importante problema de saúde pública (SODRÉ, 1904; FONSECA; RAMACCIOTTI; ELUF NETO, 2004; FUNDAÇÃO ONCOCENTRO DE SÃO PAULO, 2005).

É estimado que haja nove milhões de infectados pelo HPV, podendo ser considerada a infecção de transmissão sexual mais frequente, em razão do aumento de sua incidência mundial (MARTINS; THULER; VALENTE, 2005; DIÓGENES; VARELA; BARROSO, 2006).

Pesquisa sobre conhecimento, atitudes e práticas relacionadas às DST e AIDS na população brasileira realizada na faixa etária de 15 a 64 anos, com 8 mil entrevistados em novembro de 2008, demonstrou que 10,3 milhões dos brasileiros são portadores de DSTs. (BRASIL, 2009)

Em se tratando de câncer do colo do útero, o número de casos novos esperados para o Brasil no ano de 2008 foi de 18.680, com um risco estimado de 19 casos a cada 100 mil mulheres, sendo este o mais incidente na região Norte (22/100.000), seguindo-se a região Sul (24/100.000), Centro-Oeste (19/100.000) e Nordeste (18/100.000), a qual ocupa a segunda posição mais frequente, e no Sudeste (18/100.000) a quarta posição (BRASIL, 2007).

Este tipo de câncer é o segundo mais comum entre mulheres, ocasionando cerca de 230 mil óbitos por ano (SOUSA; PINHEIRO; BARROSO, 2008).

No Maranhão, segundo estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA), foram registrados 630 novos casos de câncer de colo do útero em 2008, alcançando uma taxa de 19,67 casos para cada 100 mil mulheres. Na capital, São Luís, foram detectados 190 novos casos, com uma taxa bruta de 37,30 para cada 100.000 mulheres (INCA, 2007).

Nascimento et al. (2003), no Maranhão, no período de 1999 a 2000, registraram casuística de 163.845 mulheres residentes no Estado, as quais foram submetidas ao exame de

Papanicolaou, tendo sido identificadas 1,6%, com alterações celulares compatíveis com o vírus do papiloma humano. A análise mostrou a importância do HPV para o Maranhão, necessitando, portanto, de ações em saúde pública para melhorar o diagnóstico precoce, identificando alterações citopatológicas e assim reduzir a mortalidade pelo câncer de colo do útero.

Existe grande preocupação em torno da melhoria do diagnóstico citopatológico, pois em países em desenvolvimento a triagem citológica vem falhando em promover a redução na incidência de câncer do colo do útero, sendo uma das causas à limitação de sensibilidade do método (DRAIN et al. 2002; FLORES et al. 2002; TUON et al. 2002; GUARISI et al. 2004).

Novos critérios morfológicos, denominados não clássicos, ou secundários, como a genotipagem para o diagnóstico de HPV, associados a critérios morfológicos ditos clássicos, visam ampliar a sensibilidade do método para o diagnóstico, aproximando dos resultados obtidos em amostras histopatológicas, são métodos diagnósticos mais sensíveis e específicos de importância epidemiológica (NORONHA et al. 1999; VIEIRA et al.2001; HOUFLIN DERBAGE et al. 2003; SOARES et al. 2003; JORDÃO et al.2003; KANESHIMA et al.2005; SIRIAUNKGUL et al. 2007; SMITH et al. 2008).

O HPV está associado às lesões intraepiteliais escamosas e ao câncer cervical que estão associados a processos cancerígenos. O grupo de baixo risco para a oncogênese são os tipos 6, 11, 26, 42, 44, 54, 70 e 73, que produzem o aparecimento de verrugas comuns, condiloma acuminado na região anogenital. O grupo de alto risco inclui os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 55, 56, 58, 59, 66 e 68, que estão associados com o desenvolvimento do carcinoma cervical (STIVAL, et al. 2005).

A Agência Internacional de Pesquisa do Câncer, classificou os tipos de HPV 16 e 18 como carcinogênicos e os tipos 31 e 33 como provavelmente carcinogênicos. Recentemente, novos tipos foram incluídos entre os carcinogênicos, como os mucosotrópicos anogenitais: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 66. Os tipos 16 e 18 são os mais frequentes e correspondem a 70% dos casos de câncer cervical em todo o mundo, todavia os tipos 31, 45, 33 e 52 são responsáveis por outros casos de câncer de colo do útero (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2009).

O principal fator relacionado a este tipo de câncer é a infecção pelo HPV, associada a outros fatores, tais como: sexo precoce, multiplicidade de parceiros,

multiparidade, ser jovem, hábito de fumar, baixo nível socioeconômico (SALEH; SEOUD; ZAKLAMA, 2007; LI et al. 2008). Existem riscos menores a serem considerados, como: anticoncepcional oral, deficiências nutricionais, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e outras infecções genitais sexualmente transmissíveis (NONNENMACHER et al. 2002).

Na adolescência, devido à imaturidade biológica da cérvix, ocorre maior exposição do epitélio endocervical à infecção por HPV e outros agentes (JORDAN, 1977; MURTA et al. 2001; GARCIA et al. 2005; VICÁRIO; BARCA, 2007).

Os profissionais de saúde devem oferecer maior atenção às adolescentes sexualmente ativas, através de programas de detecção e tratamento das DSTs, com realização de citopatologia, colposcopia, pesquisa de HPV e biópsia do colo do útero, caso sejam necessárias, evitando assim repercussões severas na morbimortalidade dessas mulheres quando na fase adulta (ORÍÁ; ALVES, 2004; LIEN; SANCHEZ, 2006; NOVAES, 2006).

Roteli-Martins (2007), estudando a infecção por HPV, relacionou a idade e o início da atividade sexual em adolescentes em um programa de rastreamento brasileiro, demonstrando taxas mais elevadas, oscilando entre 50 e 80% de infecção com dois a três anos da sexarca, refletindo o comportamento sexual e a vulnerabilidade biológica. A associação entre a idade da sexarca e o câncer invasor não pode ser ignorada, pois auxilia o conhecimento da história natural da infecção por HPV e a consequente prevenção das lesões precursoras da doença invasora (MONTEIRO, 2004; MONTEIRO et al. 2006).

Na atualidade, a infecção pelo vírus do papiloma humano reveste-se de grande relevância (COELHO et al. 2004; MOTA et al. 2006; NOVAES, 2006; GLUCHOWSKI; SILVA; NAKAMURA, 2007). Fatores de risco para esta infecção estão presente em jovens com atividade sexual, maior número de parceiros, com algum grau de imunossupressão, expostas a outras DSTs, fumantes e usuárias de anticoncepcionais, facilitando as lesões virais, que seriam o primeiro passo no processo de carcinogênese (LEAL et al. 2003; KANESHIMA et al. 2005; CODES et al. 2006).

Relacionando as estratégias e custos da prevenção citológica na adolescência, o câncer invasor é condição rara nesta faixa etária. As maiores taxas de incidência e mortalidade por câncer de colo do útero são observadas em países em desenvolvimento (MANDELBLATT et al. 2002).

## 1.2 Diagnóstico

O diagnóstico da suspeição do HPV em adolescentes deve seguir as mesmas condutas recomendadas para as pacientes em pré-menopausa, exceto se o laudo histopatológico for de NIC I, em que a conduta deverá ser conservadora, não cabendo, portanto, a indicação de métodos excisionais na persistência citopatológica e/ou colposcópica (COX, 2003; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2006; WRIGHT et al. 2007; NCCN, 2009).

A citopatologia convencional é o principal método adotado para rastreamento do câncer de colo do útero, universalmente utilizada (MANDELBLATT et al. 2002). Detectadas alterações pré-neoplásicas e neoplásicas, selecionando-se os casos para avaliação imediata pela colposcopia, esta melhor define as características das lesões, quanto ao tamanho, localização, envolvimento do canal cervical e orienta o procedimento excisional (NASCIMENTO et al. 2005; VEIGA et al. 2006).

Os testes mais acurados para a detecção do DNA do HPV em investigações epidemiológicas confirmam a importância do HPV, principalmente de alto risco, como o fator básico para desencadeamento das NICs e o câncer do colo do útero. (STIVAL et al. 2005).

O diagnóstico do DNA do HPV pode ser de três tipos, compreendendo a detecção direta do DNA, amplificação do sinal e do alvo (GHEIT et al. 2006). Os métodos de detecção direta do DNA incluem o Souther Blot, a Hibridização *in situ* e o Dot Blot. A hibridização *in situ* consiste na preservação da morfologia da amostra clínica, o que permite a localização do HPV no tecido e na célula infectada (TRIGLIA et al. 2009). A captura híbrida se baseia na amplificação do sinal e o método de amplificação do alvo é feito pela PCR, os quais são utilizados como iniciadores gerais, tipos específicos para a amplificação do DNA do HPV, que podem amplificar vários tipos do HPV em uma única reação (SOTLAR et al. 2004; SOUZA, 2004; FARIA, 2007; QUEIROZ; CANO; ZAIA, 2007).

A tecnologia do DNA recombinante permite o uso em larga escala de moléculas de uso terapêutico como interferons (INF) e uso de vacinas contra o HPV, sejam elas obtidas através de vírus inativados ou através de proteínas recombinantes (MALDONADO, 2006; LOPEZ MARTI; IRIGOYEN; ARBERTER, 2007; GHAZAL-ASWAD, 2008).

Louro et al. (2007) estudando avanços biotecnológicos no diagnóstico e tratamento do câncer do colo do útero causado pelo HPV menciona os métodos

imunoquímicos (sorotipagem) ou genéticos (genotipagem), bem como as técnicas utilizadas para tipagem do HPV, tais como a hibridização molecular *in situ* (HMIS) e a PCR como as mais difundidas.

Estudos com HMIS têm demonstrado que mais de 99% dos casos podem ser atribuídos a algum tipo de HPV, sendo o tipo 16 o responsável pela maior proporção dos casos (50%), seguido dos tipos 18 (12%), 45 (8%), 31 (5%) e outros tipos em 23% dos casos. Essa técnica de HMIS tem baixa sensibilidade quando comparada a outras técnicas moleculares (LOURO et al. 2007).

A aplicabilidade da triagem de citologias oncóticas com algum grau de anormalidade celular em seus esfregaços, associado com o método de CH II, sempre relativizada pela carga viral, bem como a PCR, por meio da genotipagem, auxiliam o profissional a indicar biópsia ou conização com a alça diatérmica, ainda que a colposcopia não seja satisfatória ou não evidencie lesões francamente suspeitas (FIGUEIRÊDO et al. 2003; SARIAN et al. 2003).

A PCR é comercialmente menos utilizada que a técnica de captura do híbrido, pois a primeira tem a vantagem da automatização, tem melhor sensibilidade e especificidade, sendo de rotina nos laboratórios de pesquisa e em alguns laboratórios de patologia. Além disso, pode ser usada na tipagem dos HPVs (PEREIRA, 2006).

Mediante os estudos já realizados, objetiva-se analisar a prevalência das lesões intra-epiteliais cervicais de baixo e alto grau na população entre 15 e 19 anos de idade em São Luís, Maranhão, com o intuito de contribuir com informações epidemiológicas que auxiliem no planejamento e na avaliação de programas de prevenção e controle do câncer e no gerenciamento dos serviços de saúde.

O estudo da prevalência de lesões precursoras e câncer do colo do útero em adolescentes de escola pública visa o estímulo para o rastreamento precoce, em especial da infecção pelo Papilomavírus, bem como a redução da morbi-mortalidade do câncer do colo do útero, que representa sério problema de saúde pública no Estado do Maranhão.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Analisar a frequência da infecção pelos genótipos do HPV na cérvix uterina de adolescentes de uma escola pública, por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) - Nested, correlacionando-a com os métodos diagnósticos tradicionais, abrangendo a citopatologia, colposcopia e histopatologia.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar os fatores sócio-demográficos, comportamento sexual e reprodutivo em adolescentes;
- Correlacionar a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) com os diagnósticos por citopatologia, colposcopia e histopatologia;
- Identificar a frequência dos genótipos de HPV de alto e baixo risco oncogênico.

## **3 PACIENTES E MÉTODOS**

### **3.1 Pacientes**

Num contingente de 350 adolescentes, foram recrutadas as que se sensibilizaram em participar e abrangiam os critérios de inclusão para pesquisa de infecção por HPV em uma escola pública estadual, Centro Integrado do Rio Anil (CINTRA), localizada na área urbana de São Luís, capital do Estado do Maranhão. Obteve-se uma amostra de 39 (trinta e nove) adolescentes, na faixa etária de 15 a 19 anos, no período de julho de 2008 a junho de 2009.

Os dados apresentados neste trabalho são variáveis que descrevem as categorias em que as participantes da pesquisa se enquadravam, tendo sido realizado estudo descritivo.

A abordagem inicial foi preparatória para o aceite da pesquisa, sendo realizada através de:

- Oficinas educativas realizadas semanalmente, nas quais participaram alunos, pais e professores, com o objetivo de sensibilizar e intervir na compreensão da sexualidade;
- Aconselhamento médico espontâneo para despertar o interesse das adolescentes para a realização dos exames;
- Entrega do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para as alunas de maior idade e para os responsáveis legais das alunas de menor idade (APÊNDICE A).

#### **3.1.1 Critérios de inclusão**

Consideraram-se como critérios de inclusão adolescentes da escola com atividade sexual com idade entre 15 e 19 anos, estudantes de nível médio, que espontaneamente escolheram participar da pesquisa.

A Organização Mundial da Saúde (OMS), define adolescência o período entre 10 e 19 anos de idade, subdividido em adolescentes menores (de 10 a 14 anos) e adolescentes maiores (de 15 a 19 anos), sendo esta última, a faixa etária compreendida nesta pesquisa (OMS, 1975).

### 3.1.2 Critérios de não-inclusão

Consideraram-se como critérios de não inclusão: adolescentes com idade abaixo de 15 anos e acima de 19 anos de idade; estudantes que se recusaram a assinar o TCLE; responsáveis legais que não concordaram com a participação das alunas; adolescentes com impedimento para prestar informações para pesquisa; mulheres que não tiveram atividade sexual; gravidez; histerectomia; Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA); doenças com corticoterapia prolongada; neoplasia maligna e transplante renal.

## 3.2 Questionário

Após o recebimento do TCLE, utilizou-se um questionário (ficha protocolo) com ítems relacionados aos dados sócio-demográficos, acrescidos de informações comportamentais e antecedentes sexuais das alunas (APÊNDICE B).

Para concretização desta pesquisa, realizaram-se anamnese, exame ginecológico, coleta da secreção cérvicovaginal para detecção do HPV por meio dos seguintes exames: citopatologia cérvicovaginal, genotipagem por PCR - Nested. Realizou-se a colposcopia, seguida de colpobiópsia para os casos que houve indicação. Todas as adolescentes foram aconselhadas a submeter-se ao exame sorológico anti-HIV.

Elaborou-se um artigo científico como proposta para publicação em periódico indexado (APÊNDICE C).

## 3.3 Exame físico

As adolescentes foram submetidas a exame ginecológico, com coleta de material para detecção do HPV e seus genótipos, citopatologia cérvicovaginal e colposcopia. Àquelas que apresentaram alterações colposcópicas, realizou-se a colpobiópsia. Após o exame físico, foi feito o aconselhamento para realização de exame sorológico anti-HIV.

### **3.4 Citopatologia cérvicovaginal**

A coleta do material para citopatologia foi realizada depois da introdução do espéculo estéril na vagina (descartável) para obtenção de material cérvicovaginal para citologia abrasiva com remoção de células das superfícies da vagina, cérvix e endocérvice com auxílio de uma espátula de Ayre e uma escova endocervical. Coletou-se o material cervical e vaginal para citopatologia oncológica em duas lâminas de vidro, próprias para microscopia com beiradas lapidadas (25,4 por 76,2mm – 1’’ x 3’’ e espessura 1,0mm) e ponta fosca para identificação da adolescente e do material, escritos com lápis grafite. Uma lâmina contendo material da vagina e ectocérvice e a outra com material endocervical (canal). As superfícies da espátula e todas as faces da escova utilizadas pela técnica entraram em contato com as lâminas de vidro, tomando-se o cuidado para distribuir o material de forma homogênea. O material foi produzido arrastando-o ao longo do maior eixo das lâminas. A fixação dos esfregaços foi feita imediatamente após os seus preparos para preservar as células neles contidas, evitando dessecar pelo ar, pois o dessecamento produz modificações significativas nas propriedades morfológicas e tintoriais das células (KOSS; GOMPEL, 2006).

As lâminas foram acondicionadas em frascos de plástico (borrel) contendo álcool etílico hidratado a 70% para fixação dos esfregaços. Estes foram, juntamente com o formulário, contendo os dados clínicos das alunas, encaminhados para posterior processamento e leitura no laboratório de patologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA), para serem corados pelo método de Papanicolaou e as lâminas avaliadas com base no Sistema de Bethesda (2001) e INCA (2006), utilizando-se a Requisição de Exame Citopatológico - Colo do Útero/Ministério da Saúde (MS) (ANEXO A).

### **3.5 Genotipagem por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)-Nested**

Utilizou-se a técnica de biologia molecular pela PCR – Nested, conforme Manos et al. (1989): o material foi coletado da região cérvicovaginal através de escovado, utilizando kits específicos fornecidos pelo Laboratório BioGenetics Tecnologia Molecular Ltda, sendo seguidas as instruções do fornecedor para fins de detecção e genotipagem dos tipos de HPV através da análise de DNA, bem como a determinação dos subtipos do vírus nas adolescentes com suspeita clínica de infecção. O material foi retirado das 39 alunas, como mencionado

anteriormente e armazenado em 1 mL de tampão de lise nuclear (TLN); colocado em geladeira a uma temperatura entre 4° a 7 °C até seu processamento.

As reações de PCR foram realizadas com o apoio concedido pelo Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão e junto ao Laboratório BioGenetics Tecnologia Molecular Ltda de Uberlândia, Minas Gerais.

### 3.5.1 Extração do DNA

O DNA foi extraído das amostras cérvicovaginal coletadas das 39 alunas seguindo as instruções do fornecedor e amplificado com *primers* degenerados MY09 e MY11, seguido por uma reamplificação com *primers* HPV–específicos, combinados em 08 (oito) reações de PCR – Nested, multiplex, cada qual contendo 05 (cinco) pares de *primers* para genotipagem de 05 (cinco) subtipos de HPV (SOUSA, 2004; FARIA, 2007; FARIA et al. 2008; SOUSA, 2008).

A extração do DNA foi feita através da adição de 600µL de tampão lise nuclear (TLN), 10µL de proteinase K e 20µL de sulfato dodecyl sódio (SDS) em cada amostra. A solução foi homogeneizada e deixada em banho-maria a 65°C durante a noite. Foi acrescentado 1/3 do volume da amostra de cloreto de sódio - NaCl saturado (6M) deixado por 15 minutos no freezer.

A amostra foi centrifugada por 10 minutos em tubos *Eppendorf* por 10.000 rpm (rotações por minutos) para precipitar os restos celulares. O líquido sobrenadante foi pipetado para o novo *Eppendorf* (microtubo) devidamente numerado, sendo em seguida acrescentadas 2 (duas) vezes o volume da amostra de etanol absoluto. Homogeneizou-se a solução e centrifugou-se novamente a 10.000 rpm durante 10 minutos para precipitar o DNA, depois foi lavado com etanol a 70 %, sendo posteriormente ressuspendido em 30µL de água deionizada e estocado em freezer.

Como já explicado, as reações de amplificação (PCR) foram realizadas utilizando-se os kits fornecidos pelo laboratório citado, sendo seguidas as instruções rigorosas do fornecedor. A amplificação do DNA foi realizada em Termociclador MJ Research PTC-100-96 em duas etapas. Utilizando 04 (quatro) *primers* degenerados e modificados a partir dos *primers* MY09 e MY11 para gerar um fragmento de 450 pb na primeira amplificação. A

reação foi feita em um volume final de 30 $\mu$ L (tampão IX; 45pmol de cada *primers*; 200 $\mu$ M de dNTPs (Dexoxirribonucleotídeos trifosfato); 5 $\mu$ L de DNA; 1,5U de *Taq* polimerase). As ampliações foram realizadas em 39 ciclos, com:

Desnaturação: o DNA de dupla fita foi separado em fitas únicas através da brusca elevação da temperatura para 94°C por 1 minuto.

Anelamento: ocorreu entre a cadeia original do DNA (já desnaturado) e a sequência de nucleotídeos dos *primers*, que se ligaram à região inicial gênica que foi amplificada a 50°C por 1 minuto.

Extensão: foi desempenhada pela enzima *Taq* DNA polimerase, de modo que ambas as fitas de DNA foram convertidas em 4 (quatro) fitas à temperatura de 72°C por 1 minuto, esta foi concluída após os 5 minutos a 72°C.

O produto resultante da primeira amplificação serviu de molde para o processamento da segunda PCR. Realizaram-se 8 (oito) reações de PCR - multiplex, como 5 (cinco) pares de *primers* específicos para 5 (cinco) subtipos de HPV, em cada um deles, os quais amplificaram regiões internas do produto da primeira PCR, o que permitiu a genotipagem viral. A reação de amplificação foi processada em um volume final de 30 $\mu$ L (Tampão IX; 1,5mM de tampão Enhancer; 10 pmol de cada um dos cinco MIX dos *primers*; 200 $\mu$ M de dNTPs; 1 U de *taq* DNA polimerase e 2 $\mu$ L de produto amplificado da primeira reação).

Para o controle positivo da reação, o multiplex 8 possui o *primers* para o gene da  *$\beta$ -globina* (366pb). Os amplicons foram separados em gel de agarose com uma concentração de 2 %, submetidos a uma tensão constante de 200 volts para uma corrida rápida de mais ou menos 10 minutos. Posteriormente, as amostras positivas foram colocadas em outro gel com uma concentração de 2,5%, utilizando uma tensão constante de 120 volts por duas horas. Os fragmentos amplificados, separados em eletroforese de gel de agarose 2,5 %, apresentaram em sua estrutura diferentes tamanhos.

Após a corrida, as amostras foram classificadas quanto ao tipo viral de acordo com o tamanho do fragmento observado (genotipagem), utilizando-se o programa BioCapt e um marcador de peso molecular de 25pb com bandas sucessivas que vão desde o fragmento de 25 pb até o de 500 pb.

Tipos virais e tamanhos dos amplicons gerados pela PCR-Nested  
(BioGenetics HPV Test)

Multiplex 1		Multiplex 2		Multiplex 3		Multiplex 4		Multiplex 5		Multiplex 6		Multiplex 7		Multiplex 8	
Tipo	Frag.	Tipo	Frag.												
														<i>β-Glo</i>	366
51	338	33	316	31	311	MM7	305	06	328	42	294	11	291	74	328
66	285	55	279	35	276	56	270	26	285	62	249	43	244	82	266
68	339	18	237	39	238	57	235	59	219	54	213	70	208	69	237
44	206	45	193	52	192	73	180	61	175	16	175	30	172	71	202
34	170	67	141	58	127	53	127	64	110	MM8	83	72	74	81	140

Fonte: SOUSA, (2008)

Todas as amostras foram submetidas ao exame de Nested de PCR, sendo possível distinguir os diferentes subtipos virais de acordo com os tamanhos dos fragmentos nos géis. A amostra gel de agarose 2,5% com bandas correspondentes a diferentes subtipos virais. Com controle negativo foi utilizado o DNA extraído de sangue periférico. Extrai-se o DNA de sangue humano e amplifica-se para o gene da beta-globina, garantindo, portanto a confiabilidade dos resultados. Os HPVs foram classificados de acordo com o seu potencial oncogénico em baixo risco, risco intermediário e alto risco.

Depois de amplificados no termociclador os produtos da PCR foram analisados por eletroforese por gel de agarose corado com brometo de etídio sob luz ultravioleta. Os fragmentos mais pesados correm lentamente.

Este método tem sua qualidade bem específica, haja vista possuir a propriedade de detectar carga viral muito baixa e promover a amplificação do vírus milhares de vezes. Existem 40 subtipos, que o exame de genotipagem detecta. São eles: alto risco= 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 e 82; risco intermediário= 6, 11, 42, 43, 44 e 57; baixo risco=MM7, MM8, 26, 30, 34, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 67, 69, 70, 71, 72, 74 e 81 (TULIO et al. 2007; FARIA, 2007; SOUSA; PINHEIRO; BARROSO, 2008).

### 3.6 Colposcopia

A colposcopia foi realizada segundo a padronização da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia (IFCPC) e da agência internacional para investigação sobre o câncer, assim como o roteiro para o laudo colposcópico (INTERNATIONAL

FEDERATION FOR CERVICAL PATHOLOGY AND COLPOSCOPY, 2002; DE PALO; TESTA 2004; INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER.. IARC, 2009), cujo exame foi realizado na Clínica Betaterapia do Maranhão.

O colposcópio empregado foi o D.F. Vasconcellos com vídeo acoplado diretamente ao corpo do aparelho com cabeça óptica com cinco aumentos, objetiva foco de 300 mm e câmera vídeo digital de resolução 1024 linhas horizontais e 768 linhas verticais, microcorpo de 36 x 36 x 37 mm, 1/3” – NTS 788 (H) x 494 (V).

Após a retirada de amostras para citopatologia e para genotipagem por PCR, fez-se a colposcopia, aplicando-se ácido acético de 3% no colo uterino e paredes vaginais com uma pinça Cherron e uma bolinha de algodão embebida no ácido com o objetivo de pesquisar áreas acetobranças, descrever os achados fisiológicos quando necessários; os achados positivos e anormais, referindo-se o lado direito e o esquerdo; os aspectos gerais (cor da mucosa, aspecto de muco, tipo de orifício externo, presença de ectopia, etc.); identificar a localização da Junção Escamo Colunar (JEC); descrever a JEC (ectocervical: ectopia, endocervical ou justa-orifical); a zona de transformação segundo a terminologia vigente; os achados anormais constando topografia (localização e extensão,) e significância da lesão (achados menores e maiores).

Utilizou-se a posição dos ponteiros do relógio, fazendo-se referência às características dos epitélios após a aplicação do ácido acético a 3%. Descreveu-se o exame colposcópico após a embrocção com bolinha de algodão embebida na solução de lugol montada em pinça Cherron. A visualização colposcópica com esta solução de lugol ou de Schiller (composição a 2% iodo, iodeto de potássio e veículo aquoso): mostrou-se como iodo positivo, parcialmente positivo ou iodo negativo. Descreveu-se a vascularização e a associação de imagens.

Considerando-se o exame colposcópico insatisfatório, especificou-se o motivo (inflamação, atrofia, anormalidade anatômica, sangramento, etc.). A documentação iconográfica (vídeo) foi anexada aos prontuários das adolescentes.

### **3.7 Colpobiópsia**

Na presença de alterações ao exame colposcópico realizou-se biópsia da área ou áreas sob visão colposcópica com pinça saca bocado (SANTOS; MELLO, 2008). O material foi colocado em um recipiente contendo formaldeído a 10% para fixação até ser encaminhado

para estudo histopatológico no Laboratório de Anatomia Patológica do HUUFMA. Estes exames foram feitos por um único patologista com padronização do laudo (KOSS; GOMPEL, 2006).

O material coletado foi imerso rapidamente na solução fixadora (formaldeído a 10%). E após, o fragmento foi submetido à ação de soluções desidratadoras, concentrações crescentes de álcool etílico (70%-80%-90%-100%), para evitar a retração e lesão celulares. O tecido foi submetido à ação do xilol, promovendo, assim, a diafanização.

O bloco de tecido ficou imerso na parafina fundida em estufa durante o tempo necessário para completar impregnação. Após, foi retirado da estufa e deixado à temperatura ambiente até que a parafina endurecesse.

O bloco de parafina contendo tecido foi retirado da forma, microtomizado, fazendo surgir cortes em fita estirada cuidadosamente em banho-maria, colocada na superfície de uma lâmina de vidro sobre um ponto de aderência.

O excesso de parafina contida nos cortes foi retirado por banhos de xilol antes que as peças sejam coradas e a seguir, imersas em concentrações decrescentes de álcool etílico, até que esteja hidratado. Com o término da hidratação, procedeu-se à coloração que ressalta as características nucleares e citoplasmáticas. Depois de corado, procedeu-se à desidratação novamente. O processo foi concluído com a montagem do corte histológico, de acordo com Koss e Gompel (2006).

### **3.8 Aspectos éticos**

Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUUFMA, sob parecer consubstanciado de N°. 33104-1323/07 (ANEXO B), em obediência ao Conselho Nacional de Saúde (CNS) Resolução N°. 196/96 e suas complementares. O TCLE foi assinado pelas adolescentes e seus responsáveis consentindo à participação na pesquisa sobre a detecção de vírus do papiloma humano em adolescentes de uma escola pública de São Luís-MA. (APÊNDICE A)

### **3.9 Análise estatística**

Os dados apresentados neste trabalho são variáveis quantitativas, pois descrevem as categorias em que as participantes da pesquisa se enquadram em termos de porcentagens. Os dados obtidos foram avaliados e transferidos para uma planilha de dados informatizado no software Excel/Office2007 e Epiinfo, versão 6.04. Utilizando-se intervalo de confiança de 95%, de acordo com os níveis de significância estatística.

## 4 RESULTADOS

Em uma escola pública de ensino médio obteve-se do contingente de alunas matriculadas, amostra de 39 adolescentes, que preencheram os critérios de inclusão desta pesquisa.

Valorizaram-se os dados sócio-demográficos, comportamento sexual, resultados dos exames realizados pertinentes à detecção do vírus do papiloma humano cérvicovaginal. Estas adolescentes foram submetidas aos exames de citopatologia, genotipagem por PCR para HPV, colposcopia e histopatologia. Todas as adolescentes estudadas apresentaram resultados negativos, através do exame de ELISA, para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).

### 4.1 Dados sócio-demográficos

Os dados sócio-demográficos apresentados na Tabela 1 mostram que a maioria das adolescentes estudadas tinha de 15 a 17 anos, era de procedência urbana e estudantes em tempo integral, cor branca e escolaridade entre 12 e 14 anos.

Tabela 1 - Dados sócio-demográficos das adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

Idade	Nº	Cor	Nº	Profissão	Nº	Procedência	Nº
15	10	Branca	21	Só estudante	35	Urbana	33
16	9	Preta	8	Estudante + outra	4	Rural	6
17	13	Parda	10				
18	5						
19	2						
<b>Total</b>	<b>39</b>		<b>39</b>		<b>39</b>		<b>39</b>

### 4.2 Comportamento sexual e vida reprodutiva

Conforme mostra a Tabela 2, a maioria das adolescentes informou que a sexarca ( $p=0,2809$ ) ocorreu antes dos 16 anos, praticamente a metade diz ter tido único parceiro e a outra metade diz ter mais de um ( $p=0,0822$ ), quase todas dizem praticar de uma a quatro relações sexuais semanalmente ( $p=0,4936$ ). Identificou-se na pesquisa que 32 (82,0%) alunas

informaram não terem sido acometidas de doenças sexualmente transmissíveis (DSTs) ( $p=0,7040$ ). Ainda na Tabela 2, observa-se que a maioria (30) das adolescentes estudadas não fez uso de contraceptivo oral ( $p=0,6915$ ).

Registrou-se que houve abortamento em três adolescentes: uma antes dos 15 anos, outra aos 16 e a outra não informou a idade. No que diz respeito à realização da curetagem, duas não informaram se já haviam feito e as demais nunca fizeram o mencionado procedimento; uma adolescente relatou ter tido um filho aos 17 anos.

Tabela 2 - Comportamento sexual das adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

Idade na sexarca	Nº	Nº de parceiros	Nº	Relações sexuais por semana	Nº	DST	Nº	Contraceptivos	Nº
De 12 a 15	25	Único	20	1	18	Não	32	Não	30
De 16 a 19	14	2 a 3	15	2 a 4	18	Sim	1	Sim	7
		4 ou mais	4	5 ou mais	3	Não informa	6	Não informa	2
<b>Total</b>	<b>39</b>		<b>39</b>		<b>39</b>		<b>39</b>		<b>39</b>

### 4.3 Antecedentes familiares, hábitos de vida, avaliação ginecológica, citopatologia, colposcopia e genotipagem

A Tabela 3 demonstra a história de câncer familiar, a qual foi informada por oito (20,5%) adolescentes; 20 (51,2%) delas relataram histórico de diabetes e quatro (10,2%) tireoidopatia. As adolescentes estudadas, em sua maioria, não fumava, mas consumia bebidas alcoólicas, de forma eventual. Observa-se ainda na Tabela 3 a representatividade epitelial, assim como as alterações citopatológicas que foram evidenciadas, tais como a inflamação, metaplasia escamosa imatura e lesão de baixo grau, com efeito, citopático sugestivo de HPV.

Tabela 3 - Antecedentes familiares, hábitos de vida e características do epitélio cervical das adolescentes de uma escola Pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís-MA.

<b>Antecedentes Familiares, Hábitos de Vida e Características do Epitélio Cervical</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
<b>Tabagismo</b>		
Sim	5	12,0
Não	30	76,0
Não Informa	4	12,0
<b>Bebida alcoólica</b>		
Sim	25	64,1
Não	14	35,9
Não Informa	0	0
<b>Neoplasias Malignas</b>		
Sim	8	20,5
Não	28	71,9
Não Informa	3	7,6
<b>Diabetes</b>		
Sim	20	51,3
Não	17	43,5
Não Informa	2	5,1
<b>Tireoidopatia</b>		
Sim	4	10,2
Não	26	66,6
Não Informa	9	23,2
<b>Tipos de epitélios</b>		
Escamoso	8	20,5
Escamoso e Glandular	27	69,4
Escamoso, Glandular e Metaplásico	3	7,6
Sem informação	1	2,5
<b>Alteração Citopatológica</b>		
Inflamação	31	79,5
Inflamação e Metaplasia escamosa imatura	6	15,3
Lesão de baixo grau	1	2,6
Insatisfatória	1	2,6

A Tabela 4 mostra que a queixa mais frequente, quanto à saúde sexual das adolescentes foi leucorréia ( $p=0,016$ ), seguida de prurido, ardência e dispareunia.

Tabela 4 - Saúde sexual das adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

Informação	Leucorréia*	Prurido	Ardência	Dispareunia	Sinusorragia
Sim	31	9	7	6	0
Não	8	27	30	31	38
Não informa	0	3	2	2	1
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>39</b>

\*  $p=0,016$

A microbiologia apresentada pelas adolescentes na citopatologia está demonstrada na Tabela 5, a qual evidência a presença mais frequente de *Lactobacillus* sp, seguido de *Gardnerella*, além de outros.

Tabela 5 - Microbiologia evidenciada por citopatologia em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

Presença	Citopatologia/Microbiologia				
	Lactobacillus sp.	Cocus	Candida sp.	Gardnerella	Outros Bacilos
Sim	17	7	5	14	6
Não	21	31	33	24	32
Insatisfatória	1	1	1	1	1
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>39</b>	<b>39</b>

A Tabela 6 mostra que a colposcopia revelou-se satisfatória em 30 das adolescentes, em que sete apresentaram achado sugestivo de lesão menor, sem nenhum achado de lesão maior. A colposcopia insatisfatória decorreu de processos inflamatórios agudos, sangramento ao exame com impossibilidade de visualização da junção escamo-colunar (JEC). Nenhuma das adolescentes estudadas apresentava lesões vulvares ou vaginais.

Após a colposcopia, houve indicação para a realização de biópsia dirigida do colo do útero em 15 (38,5%) adolescentes. Observa-se ainda na Tabela 6 a histopatologia, demonstrando os efeitos citopáticos compatíveis com HPV em sete (46,7%) adolescentes, bem como o resultado da genotipagem por PCR-Nested para HPV em 29 (74,3%) estudantes.

Tabela 6 - Colposcopia e colpobiópsia/histopatologia realizadas em adolescentes de uma escola Pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís-MA.

<b>Colposcopia e Colpobiópsia</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
Colposcopia de Adolescentes com 15 anos (10)		
Satisfatório sem Lesão	5	50,0
Satisfatório com Lesão Menor	1	10,0
Satisfatório com Lesão Maior	0	0,0
Insatisfatório	4	40,0
Colposcopia de Adolescentes com 16 anos (9)		
Satisfatório sem Lesão	7	77,7
Satisfatório com Lesão Menor	2	22,3
Satisfatório com Lesão Maior	0	0,0
Insatisfatório	0	0,0
Colposcopia de Adolescentes com 17 anos (13)		
Satisfatório sem Lesão	5	38,5
Satisfatório com Lesão Menor	3	23,0
Satisfatório com Lesão Maior	0	0,0
Insatisfatório	5	38,5
Colposcopia de Adolescentes com 18 anos (5)		
Satisfatório sem Lesão	4	80,0
Satisfatório com Lesão Menor	1	20,0
Satisfatório com Lesão Maior	0	0,0
Insatisfatório	0	0,0
Colposcopia de Adolescentes com 19 anos (2)		
Satisfatório sem Lesão	2	100,0
Satisfatório com Lesão Menor	0	0
Satisfatório com Lesão Maior	0	0
Insatisfatório	0	0
Colpobiópsia		
Sim	15	38,5
Não	24	61,5
Histopatológico do colo uterino		
Cervicite + coilócitos sugestivo a HPV	3	20,1
Cervicite crônica inespecífica e metaplasia escamosa endocervical	4	26,6
Endocervicite crônica inespecífica	3	20,1
Cervicite + coilócitos sugestivo a HPV + metaplasia endocervical	1	6,6
Cervicite crônica associada a alterações citopáticas sugestivas de infecções virais por HPV	1	6,6
Cervicite crônica associada a alterações coilocitóticas sugestivas de infecção por HPV	2	13,4
Cervicite inespecífica	1	6,6
Genotipagem		
Positiva	29	74,3
Negativa	10	25,7

A Tabela 7 representa a colposcopia, relacionando-a com a genotipagem das 39 alunas estudadas, em que a infecção viral por HPV foi detectada em 29 (74,3%) adolescentes. Em 15 (65,2%) destas adolescentes com genotipagem positiva não foi identificada lesão colposcópica.

Observa-se também na Tabela 7, os resultados da genotipagem por PCR - Nested em comparação com os resultados da Colposcopia. Verificou-se que a PCR foi positiva em 20 (66,6%) das adolescentes estudadas, ao passo que a colposcopia foi positiva em 7 (23,3%) das adolescentes, sendo que 9 (23,0%) das adolescentes tiveram colposcopia insatisfatória. A colposcopia não fez o diagnóstico em 15 adolescentes das 20 diagnosticadas pela genotipagem por PCR-Nested. Portanto, apresentou sensibilidade de 25,0% e especificidade de 80,0%. O valor preditivo positivo foi de 71,4 % e o valor preditivo negativo foi de 34,8%.

Tabela 7 - Relação entre a colposcopia e a genotipagem em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

	Colposcopia		Genotipagem			
			Positiva (HPV+)		Negativa (HPV-)	
	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%
Presença de lesão	7	17,9	5	71,4	2	28,6
Ausência de lesão	23	58,9	15	65,2	8	34,8
Insatisfatória	9	23,2	9	100	0	0
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>100</b>	<b>29</b>	<b>-</b>	<b>10</b>	<b>-</b>

A Tabela 8 mostra a relação do exame citopatológico com a histopatologia e a genotipagem por PCR-Nested para HPV. Sete (17,9%) das 15 adolescentes, que fizeram o exame histopatológico apresentaram resultados com coilócitos sugestivos de infecção viral por HPV.

Houve apenas um achado de lesão de baixo grau, cuja adolescente não confirmou positividade, na genotipagem por PCR para HPV, mediante revisão do exame.

Tabela 8 - Relação entre os achados da citopatologia, histopatologia e genotipagem (PCR)- Nested da cérvix de adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís – MA.

Exames	Citopatologia		Histopatologia		Genotipagem (PCR)	
	f	%	f	%	Positiva (HPV+)	Negativa (HPV-)
Inflamatória	37	94,8	8	20,6	22	9
HPV	0	0	6	15,3	6	0
LSIL/HPV	1	2,6	1	2,6	0	1
Insatisfatória	1	2,6	0	0	1	0
Não fez	0	0	24	61,5	0	0
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>100</b>	<b>39</b>	<b>100</b>	<b>29</b>	<b>10</b>

Das 13 adolescentes com 17 anos, 12 apresentaram-se com citopatologia inflamatória, sendo que apenas uma teve diagnóstico sugestivo de LSIL/HPV. Dez adolescentes com 15 anos apresentaram inflamação. As faixas etárias de 15, 16 e 17 anos de idade mostraram alterações colposcópicas, bem como positividade para genotipagem. (Tabela 9).

Tabela 9 - Distribuição das adolescentes de uma escola pública por idade de acordo com o resultado da citopatologia, colposcopia e genotipagem. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís-MA

IDADE/Nº	CITOPATOLOGIA					COLPOSCOPIA			GENOTIPAGEM PCR-Nested		
	INFLAM.	HPV	LSIL	LSIL/ HPV	INSAT.	Satisfatória			Insatisfatória	Positiva (HPV+)	Negativa (HPV-)
						C/ lesão menor	C/ lesão maior	S/ lesão			
15 (10)	10	0	0	0	0	1	0	5	4	7	3
16 (09)	09	0	0	0	0	2	0	7	0	8	1
17 (13)	12	0	0	1	1	3	0	5	5	9	4
18 (05)	05	0	0	0	0	1	0	4	0	3	2
19 (02)	02	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0
<b>Total (39)</b>	<b>37</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>0</b>	<b>23</b>	<b>9</b>	<b>29</b>	<b>10</b>

Observa-se na Tabela 10, que 6 (seis) adolescentes estavam, predominantemente, infectadas pelos tipos de alto risco com HPVs 31/35/51/56/59/66/82. Outras 7 (sete) estudantes demonstraram infecção múltipla por associação dos tipos virais de alto risco (31/39/52/58/59/66/68) com intermediários (6/11/42/44/57) e de baixo risco (MM8/26/34/53/55/61/62). Analisando ainda esta Tabela 10, verifica-se que 21 (72,4%) adolescentes estavam infectadas pelos tipos de alto risco.

Tabela 10 - Distribuição da genotipagem por PCR-Nested para HPV de acordo com os genótipos em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís-MA.

<b>Genotipagem por PCR para HPV</b>				
Alto risco	Risco Intermediário	Baixo risco	Nº de adolescentes	%
31/39/52/58/59/66/68	6/11/42/44/57	MM8/26/34/53/55/61/62	7	24,1
Negativo	6	MM8/26/54/55	3	10,3
16/18/31/35/39/45/51/56/59/66/82	Negativo	MM7/MM8/26/54/55/61/67/70/71/81	7	24,1
66	42	Negativo	1	3,5
Negativo	Negativo	MM7/54/61/69/70	3	10,3
Negativo	6/42	Negativo	2	7,0
31/35/51/56/59/66/82	Negativo	Negativo	6	20,7
<b>Total</b>			<b>29</b>	<b>100,0</b>

A Tabela 11 mostra a diversidade dos tipos de HPV e predomínio do tipo 66, alto risco e tipo 6 de baixo risco, mostrando-se como os mais frequentes. Ainda nesta Tabela 11, verifica-se a genotipagem por PCR-Nested mostrando infecção simples em 6 (seis) adolescentes (20,7%), com os genótipos: 6, 31, 66, 70, 82 e infecção múltipla em 23 (79,3%) destas estudantes. O tipo de HPV 66 foi detectado com infecção múltipla (coexistente) em seis vezes, sendo que apenas uma adolescente (3,5%) foi identificada com este vírus, tipo 66, isoladamente (infecção simples).

Tabela 11 - Distribuição dos tipos de HPV presente em adolescentes de uma escola Pública. Julho de 2008 a Junho de 2009. São Luís-MA.

<b>Tipos de HPV</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
11; 16; 18; 34; 44; 45; 52; 57; 58; 62; 67; 68; 69; 71	1	3,5
35; 53; 70; 82; MM7	2	7,0
55; 81; MM8	3	10,3
39; 42; 56	4	13,8
26; 31; 51; 54; 59; 61	5	17,3
6; 66	7	24,1
<b>Infecção Simples</b>		
6	1	3,5
31	2	6,9
66	1	3,5
70	1	3,5
82	1	3,5
<b>Infecção Múltipla/Vírus Coexistentes</b>		
39; 52; 59; 11; 61; 62	1	3,5
54; 61	1	3,5
69; MM7	1	3,5
MM7; 26; 71; 81; 18; 39; 59	1	3,5
54; 06	1	3,5
54; 61; 81; 16	1	3,5
06; 31; 39; 61	1	3,5
06; 55; MM8	1	3,5
06; 26	1	3,5
31; 35; 54; 55; 70; MM8	1	3,5
06; 26; 59; MM8	1	3,5
42; 53; 66	1	3,5
06; 42	1	3,5
51; 53; 66	1	3,5
42; 66	1	3,5
45; 51; 56; 81; 82	1	3,5
51; 56	1	3,5
67; 51; 56; 66	1	3,5
34; 55; 57; 66	1	3,5
51; 54	1	3,5
35; 59; 66	1	3,5
26; 39; 44; 61; 68	1	3,5
26; 42; 31; 58; 59	1	3,5

Na Figura 1 observa-se a diversidade de associações dos tipos de HPV de alto risco, havendo predominância dos tipos: 66 (alto risco), 42 (intermediário), seguindo-se 26 (baixo risco) e 31, 39, 51 (alto risco), além de outros.

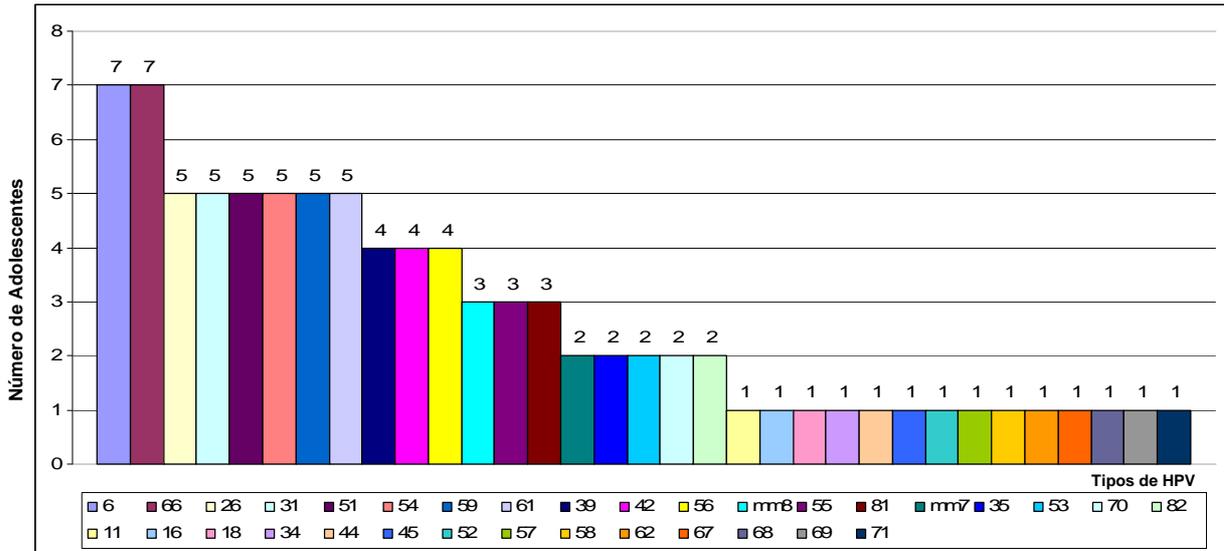


Figura 1 - Distribuição dos tipos de HPV em 39 adolescentes submetidas à reação de PCR, demonstrando a infecção em 29 estudantes. São Luís-MA: 2008-2009.

Observa-se na Figura 2 e 3 a divisão dos genótipos de HPV em: baixo risco, risco intermediário e alto risco, bem como os tamanhos dos amplicons gerados pela PCR - Nested. Os resultados mostraram que os genótipos de alto e baixo risco foram mais frequentes.

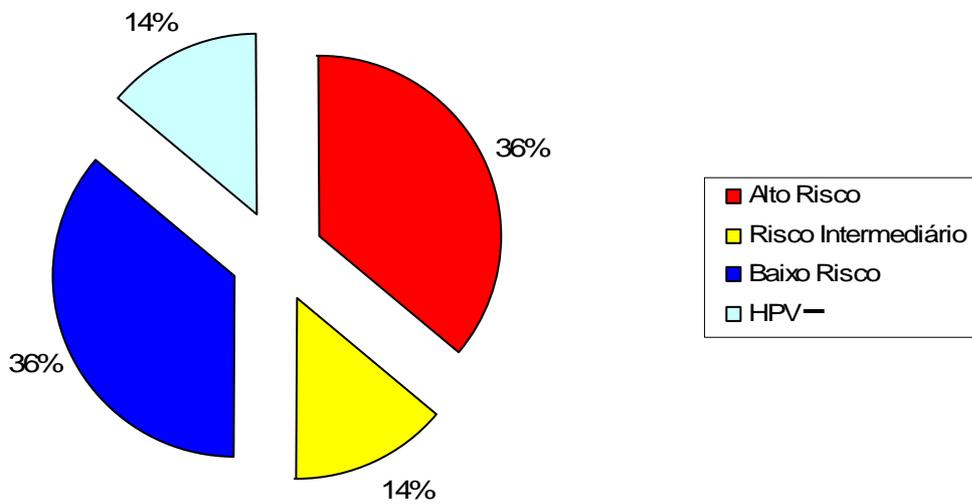


Figura 2 - Genótipos de HPV em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

Multiplex 1		Multiplex 2		Multiplex 3		Multiplex 4		Multiplex 5		Multiplex 6		Multiplex 7		Multiplex 8	
Tipo	Frag.	Tipo	Frag.												
														<i>β-Glo</i>	366
51	338	33	316	31	311	MM7	305	06	328	42	294	11	291	74	328
66	285	55	279	35	276	56	270	26	285	62	249	43	244	82	266
68	339	18	237	39	238	57	235	59	219	54	213	70	208	69	237
44	206	45	193	52	192	73	180	61	175	16	175	30	172	71	202
34	170	67	141	58	127	53	127	64	110	MM8	83	72	74	81	140

■ Alto risco     
■ Risco intermediário     
■ Baixo risco

Figura 3 – Tipos virais de HPV e tamanhos dos amplicons gerados pela PCR-Nested.

Na Tabela 12, são apresentados os resultados da genotipagem por PCR em comparação com os resultados do histopatológico. Verificou-se que a PCR foi positiva em 13 (86,6%) das adolescentes estudadas, ao passo que a histopatologia foi positiva em 6 (40,0%) das adolescentes. A histopatologia não fez o diagnóstico em 8 adolescentes das 13 diagnosticadas pela genotipagem por PCR-Nested. Portanto, apresentou sensibilidade de 46,1% e especificidade de 50,0%. O valor preditivo positivo foi de 85,7 % e o valor preditivo negativo foi de 12,5%.

Tabela 12 - Correlação entre a histopatologia e genotipagem em adolescentes de uma escola Pública de São Luís-MA em Julho de 2008 a junho de 2009.

Histopatológico	Genotipagem		Total
	Positivo	Negativo	
Sim	6	1	7
Não	7	1	8
Total	13	2	15

Sendo assim, o estudo da infecção por genótipos de HPV, mostrou que a maioria das adolescentes apresentou positividade para PCR–Nested, havendo predomínio para o tipo de alto risco 66 e infecções coexistentes (múltipla viral).

## 6 DISCUSSÃO

Analisando-se os aspectos sócio-demográficos das 39 adolescentes envolvidas neste estudo, observou-se que 13 (33,3%) adolescentes encontravam-se na idade de 17 anos, em concordância com os estudos de Melkert et al. (1993) e Barros e Rocha (2006), que verificaram a maior frequência desta infecção após o início da atividade sexual.

Este estudo demonstrou um predomínio da cor branca nas adolescentes (53,8%) em contrapartida com os achados de Barros e Rocha (2006), que revelaram uma prevalência da cor parda na maioria das infectadas. Mostrando também, maior contingente de adolescentes, estudantes em tempo integral e de origem urbana, cujas informações estão de acordo com a característica demográfica que abrangeu aquele estudo.

Considerando-se que a sexarca das adolescentes, apresentaram seu primeiro intercurso sexual abaixo dos 16 anos, cujos dados concordam com o estudo de Barros e Rocha (2006), o qual demonstrou que adolescentes apresentaram início da atividade sexual no intervalo de 16 a 19 anos.

No que diz respeito ao número de parceiros, 20 (51,3%) das adolescentes revelou ter um parceiro, demonstrando com prioridade o relacionamento monogâmico, entretanto torna-se difícil a verdadeira investigação quanto à ocorrência de promiscuidade devida possivelmente, à omissão de dados referentes à atividade sexual (KJAER et al. 1997; SHIN et al. 2004). Estes dados estão de acordo com Lopes et al. (2001), Antunes et al. (2004), Campos et al. (2005) e Barros e Rocha (2006), que questionam a tendência dos parceiros masculinos terem múltiplas parceiras, fato desconhecido pelas mesmas, levando ao risco de adquirir a infecção pelo HPV e outras DSTs.

Este estudo mostra o comportamento sexual das adolescentes, especialmente a infecção por HPV, que foi estudado também por Sanchez-Alemán, Uribe-Salas e Conde González (2002), Rama et al. (2006) e Dempsey et al. (2008), que demonstraram uma prevalência de infecção por HPV de alto risco, maior em mulheres abaixo de 25 anos.

A estimativa do número de abortos publicada por intermédio do Centro Nacional de Prevenção de Doenças Crônicas e Promoção de Saúde (NCCDPHP) (2009), com idade entre 10 a 24 anos, nos Estados Unidos, no período de 2002 a 2007, tende a ser inferior ao número publicado pelo Instituto Guttmacher (organização sem fins lucrativos focada em saúde sexual e reprodutiva, investigação, análise política e educação pública). Grande parte da

diferença reflete a ausência de informações para a Califórnia, Flórida, New Hampshire e oeste da Virgínia. Porém, os dados do Sistema de Vigilância (CDC) fornecem informações importantes sobre as características das mulheres que abortam como idade, estado civil, raça/etnia, número prévio de nascimentos e de abortos e idade gestacional ao aborto. Neste relatório, um quarto das mulheres entre 15-19 anos e 45% das pessoas com idades entre 20-24 anos estavam infectadas pelo HPV em 2003 e 2004. Estas informações indicam que a saúde sexual e reprodutiva de adolescentes da América continua a ser um importante problema de saúde pública.

As formas de infecção do HPV estão relacionadas com a idade, atividade sexual, sexarca precoce, número de parceiros, tabagismo, imunossupressão, anticoncepcional oral, infecções genitais transmitidas sexualmente e outros fatores de risco (MANRIQUE et al 2007; QUEIROZ; CANO; ZAIA, 2007). Os dados desta pesquisa mostram que a sexarca ocorreu antes dos 15 anos e a maioria negou acometimento de doenças sexualmente transmissíveis (DSTs), bem como não ser usuária de contraceptivo oral.

Segundo Aldrighi, Aldrighi e Petta (2002), a utilização de contraceptivos hormonais orais deve ser prescrita sob alerta em pacientes com riscos de infecção persistente pelo HPV. Portanto, devem ser informadas pelo maior risco de desenvolvimento do câncer de colo do útero, como também, mulheres com múltiplos parceiros, as quais deveriam ser submetidas a uma avaliação prévia do DNA – HPV, antes de se iniciar a contracepção hormonal oral. Em se tratando de usuárias de contraceptivos hormonais orais, neste estudo por longo tempo, deveriam ser incluídas em programas de rastreamento de câncer do colo do útero de forma mais prudente (MURTA et al. 2001).

O abortamento em três (7,7%) adolescentes deste estudo mostra informações oriundas da escola pública, compreendendo a idade entre 15 e 17 anos, inclusive com relato de parto em uma das estudantes aos 17 anos. Estes dados concordam com a pesquisa de Ramos et al. (2005), em que as entrevistadas numa amostra de 234 mulheres jovens tiveram de um a dois abortos (27,4%).

Campaner, Santos e Galvão (2007) associaram mulheres fumantes na população em geral com o desenvolvimento das NICs e do câncer cervical. Estudos epidemiológicos na década de 70 evidenciaram que a frequência do câncer cervical era mais elevada entre as mulheres fumantes. Nesta pesquisa, esse fato foi irrelevante, haja vista o levantamento dos dados terem sido efetuados de forma temporal num trabalho de estudo transversal, de julho de 2008 a junho de 2009.

Na análise dos achados microbiológicos, evidenciou-se a associação mais frequente com *Lactobacillus* sp. em 17 (43,6%) adolescentes, seguido de *Gardnerella* em 14 (35,9%) alunas, enquanto que Souza e Vianna, (2007), demonstraram predomínio de cocos, *Lactobacillus* e *Gardnerella*.

No que diz respeito à citopatologia da cérvix uterina na adolescência, o estudo de Novaes (2006) apresentou 22% das adolescentes com citologia cervical normal e 9,6% com LSIL. No estudo realizado nas adolescentes de uma escola pública do Maranhão, 37 (94,9%) alunas apresentaram resultado inflamatório e somente uma (2,6%) revelou LSIL.

A revisão de 210.296 exames citológicos cervicais de mulheres entre 10 e 19 anos realizadas por Mount e Papillo (1999), durante o período de um ano, demonstraram 3,2% de lesões intraepiteliais cervicais, 2,5% correspondendo a alterações de baixo grau e 0,7% alterações de alto grau, mostrando a não concordância com esta investigação em que a maioria das adolescentes encontrava-se infectada por HPV, pela genotipagem por PCR - Nested.

Entretanto, Rivoire et al. (2006) alertam que não há método de rastreamento diagnóstico que tenha 100% de certeza ou sucesso.

A associação entre esses métodos diagnósticos é uma das mais eficientes condutas terapêuticas utilizadas no diagnóstico das lesões intraepiteliais escamosas e câncer cervical (STIVAL et al. 2005).

O aumento da frequência de lesão intraepitelial escamosa (LSIL) durante a adolescência tem sido atribuído à iniciação sexual precoce entre outros identificados como responsáveis pelo aumento da susceptibilidade do colo do útero da adolescente para a infecção pelo HPV (MONTEIRO et al. 2006). Estas informações são consistentes e corroboram com os achados desta pesquisa, motivando a inclusão de mulheres em faixas etárias inferiores às aquelas incluídas pelo Ministério da Saúde (2001), que contou com a consultoria da Fundação Ontário para Tratamento e Pesquisa de Câncer no Canadá, a qual elaborou o Programa Viva Mulher, que foi implementado desde 1997.

Zeferino (2008) demonstrou que o controle do câncer do colo do útero está diretamente relacionado com a qualidade do sistema de saúde. A identificação de mulheres que precisam fazer controle exige garantia do diagnóstico, acesso fácil e ágil aos serviços e flexibilidade para marcar e remarcar consultas, principalmente, permitindo a rapidez no atendimento, essencialmente à mulher adolescente, como demonstra a pertinência deste

estudo de adolescentes de uma escola pública, concordando também com os estudos realizados em São Luís do Maranhão (MENDES; SILVEIRA; PAREDES, 2004).

As experiências de Ramírez et al. (2002) mostraram estudos com 372 jovens adolescentes de Santo Domingo, República Dominicana, das quais 48 apresentavam infecção pelo HPV, sendo que a idade mais afetada foi de 16 a 19 anos (70,8%), cujos dados concordam com os achados desta pesquisa em São Luís-Maranhão.

Os dados sócio-demográficos apresentados mostram que a maioria das adolescentes estudadas tinha de 15 a 17 anos era de procedência urbana e estudantes em tempo integral, cor branca e escolaridade entre 12 e 14 anos. As maiores prevalências de HPV, são encontradas em mulheres abaixo dos 25 anos, com progressivo declínio linear após esta idade, devido à elevação da idade resultar em mudanças dos hábitos sexuais, tornando as mulheres menos expostas (ZEFERINO; BEDONE; OYAKAWA, 1998; ANSCHAU, 2008; RAMA et al. 2008).

Outros estudos relatam queda na prevalência da infecção por HPV, mesmo com o avanço da idade e intensa atividade sexual, sugerindo que essa queda é independente do comportamento sexual, estando relacionada ao desenvolvimento de imunidade tipo-específica à infecção pelo vírus (RAMA et al. 2008).

Pedrosa, Mattos e Koifman (2008), abordando a infecção pelo HPV, depois de instalada, afirmaram que a mesma pode estabilizar regredir, progredir e transformar-se, dando origem às neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) e/ou carcinomas, portanto, o achado de infecção por HPV na maioria das adolescentes por PCR - Nested, neste trabalho reflete conduta expectante. As NICs classificam-se de acordo com a maior ou menor probabilidade de evolução para câncer, em respectivamente, lesões de baixo grau (NIC I) e lesões de alto grau (NIC II e III).

Chacon et al. (2007), em estudos de amostras cervicais de 272 mulheres com avaliação de citologia, histologia e HPV pela genotipagem, detectaram os genótipos de alto risco 16 e 18 em 33% de 212 mulheres. A histopatologia de 61 mulheres com H-SIL e câncer foi de 55,73% para genótipos 16 e/ou 18; sendo este encontrado em 7,9% e 22% de mulheres com ASCUS (Atypical Squamous Cells Uncertain Significance) e L-SIL. (Low Grade-Squamous Intraepithelial Lesion).

Fletcher et al. (2009), objetivando determinar a frequência do HPV em pacientes com 20 anos ou menos, diagnosticadas com ASCUS, revisaram laudos citopatológicos na

Universidade da Florida/Shands-UF, encontrando HPV em 51% das pacientes estudadas, sendo que a colposcopia, associada ao diagnóstico histológico subsequente, revelou presença de NIC 2 / 3 em 11 (23%) do grupo positivo para HPV. Este estudo vem fundamentar a investigação acerca de adolescentes, que utiliza na sua metodologia os exames tradicionais para o diagnóstico do HPV.

O estudo de Sousa (2008), com 40 pacientes, detectou através da genotipagem por PCR-Nested 75% (n=30) de positividade para HPV, sendo 83,3% (n=25) infecções múltiplas e 16,7% (n=5) infecções simples, ratificando a investigação realizada nas adolescentes de uma escola de São Luís-MA em que a positividade para HPV foi de 74,3% (n=29) das 39 estudadas, sendo infecções múltiplas em 23 (79,3%) adolescentes e infecções simples em seis (20,7%) adolescentes.

Na pesquisa, também, realizada por Sousa (2008) em São Luís, foram encontrados 12 subtipos de alto risco (16, 31, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73); com predomínio dos subtipos 16, 39, 73, houve concordância com o estudo das adolescentes com 14 subtipos de alto risco: 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 e 82 com predomínio do genótipo de alto risco 66, além de outros, 31, 51 e 59; 39 e 56.

Quanto aos riscos intermediários foram encontrados cinco subtipos (6, 11, 42, 44, 57) com predomínio do genótipo 6 e 42. Em relação aos de baixo risco foram encontrados 14 subtipos (MM7, MM8, 26, 34, 53, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71 e 81) com predomínio de 26, 54, 61.

Smith et al. (2008), em suas pesquisas para HPV 16 e 18, tipos de alto risco, na Europa, Oriente Médio e América do Norte, estudaram 346.160 mulheres, e demonstraram a predominância de infecção adquirida na adolescência e o pico de prevalência na meia idade (35-50 anos) que varia com as regiões geográficas.

Widdice e Moscicki (2008) identificaram que 50% das adolescentes e mulheres jovens nos Estados Unidos após a sexarca adquirem infecção por HPV dentro de três anos, resultando numa alta taxa de prevalência, levando a um problema de saúde pública nesse país.

Alves e Netto (2004), estudando os fatores de risco para adquirir a infecção pelo HPV, consideraram a atividade sexual (número e comportamento sexual dos parceiros, sexarca precoce, frequência de relações sexuais) *versus* a proporção da circulação do vírus na região (tipo viral e a variação genética dos diferentes tipos virais), em conformidade com os dados encontrados nas adolescentes estudadas nesta pesquisa.

A citologia oncótica é o principal método utilizado no diagnóstico precoce das lesões cervicais (GIRIANELLI et al. 2004; SOUZA et al. 2004; ANDRADE, 2006). Em países desenvolvidos onde a qualidade, cobertura e seguimento de rastreamento citológico são elevados, a incidência do câncer cervical foi reduzida em até 80% dos casos (LONGATTO FILHO et al. 2002; SANTOS et al. 2004; CAETANO et al. 2006). Muitos autores citam problemas como limitações e casos de falso-negativos (baixa sensibilidade) e falso-positivos (baixa especificidade) na adoção do método em países em desenvolvimento (LAPIN; DERCHAIN; TAMBASCIA, 2000; ELUF NETO et al. 2000; BRINGHENTI; GONÇALVES, RODRIGUES, 2001; BIGIO; BAROBOSA; CAVALCANTI, 2002; JORDÃO et al. 2003; KANESHIMA et al. 2003; CARNEIRO; MOREIRA; NETTO, 2004; GONTIJO et al. 2004; CORDEIRO et al. 2005).

Estudos de meta-análises sugerem que o rastreamento citológico tem grande variação de sensibilidade para detectar lesões histológicas, por predominar trabalho manual, desde a coleta do material até a liberação do exame pelo laboratório, implicando laudos dependentes da valoração dos recursos humanos utilizados, segundo Gontijo et al (2005) e Russomano; Monteiro e Mousinho (2008), que são concordantes com esta investigação em adolescentes de uma escola de São Luís-MA, em que os laudos das citopatologias foram 79,5% (31) de Inflamação, 19,4% (seis) Inflamação + Metaplasia Escamosa Imatura, uma (2,6%) LSIL+HPV e outra (2,6%) Insatisfatória.

Fernandes et al (2008) analisaram citopatologias de 202 mulheres, entre 15 a 64 anos, na cidade de Natal – Rio Grande do Norte, Brasil. O estudo mostrou que 54,5% das mulheres apresentaram citologia normal e 45,5% tinham alterações citológicas, detectando, o vírus do HPV em 24,5% das mulheres com citologia normal, e em 59,8% das quais apresentaram citologia alterada, daí a relevância para utilização da PCR - Nested para o diagnóstico da virose em adolescentes.

Girianelli et al. (2004) e Derchain, Longatto Filho e Syrjänen (2005) estudaram o método da citologia do meio líquido para detectar células pré-cancerosas. Este método tem um custo mais elevado que o da citologia convencional, maior representatividade de células coletadas transferidas para a lâmina, redução das citologias convencionais insatisfatórias, possibilidade de utilizar o material remanescente para realizar testes de biologia molecular e sensibilidade maior para detecção de lesões de alto grau.

Métodos alternativos têm sido sugeridos para o rastreamento do câncer cervical, entre estes a inspeção visual após aplicação de ácido acético e os testes para detecção de

infecção pelo vírus do papiloma humano por intermédio da biologia molecular. É uma técnica de alternativa considerável para países em desenvolvimento, que requer mínima infraestrutura e poucos equipamentos; podendo ser realizada por enfermeiros ou outros profissionais em unidades de saúde com treinamento especializado para executá-la (GONTIJO et al. 2005).

As pesquisas de Leal et al. (2003), no município de Rio Branco-Acre, demonstraram a alta frequência de lesões precursoras do câncer de colo do útero em mulheres de 15 a 29 anos por acesso limitado da mulher aos centros de prevenção na realização de citopatologia oncótica e colposcopia, cujas informações estão em concordância com os estudos de Nascimento et al. (2003), De Lima Soares et al. (2003); Giuliano et al. (2004); Oliveira et al. (2006); Silveira et al. (2007), que foram pesquisas, inclusive, acerca do HPV.

Os exames citopatológicos e colposcópicos são influenciados, na sua acurácia por múltiplos fatores quanto à época da realização da coleta e leitura da citologia oncótica; a mesma situação ocorre com a colposcopia como à data de acontecer o exame, a experiência do observador, são imprescindíveis para a exatidão dos resultados (OLIVEIRA, 2008).

Pinotti (2005), ao avaliar a população feminina dos países integrantes do MERCOSUL, no Brasil, em São Paulo, detectou a frequência do HPV pelo exame de genotipagem por PCR em mulheres assintomáticas, detectando 16.4% em 2003; na Argentina foi de 91% em 1999. Na Bolívia a taxa de mortalidade por câncer de colo do útero foi de 22/100.000 mulheres e no Paraguai a taxa de incidência desse câncer foi de 41.1/ 100.000 mulheres, em conformidade com esta investigação realizada nas adolescentes assintomáticas com resultado de PCR - Nested para HPV de 74,3% (29) em 39 adolescentes estudadas.

Pesquisadores afirmam que, entre mulheres com atipia cervical, o acompanhamento exclusivamente com o esfregaço de Papanicolaou de repetição permite a falha na detecção de Lesão Glandular Atípica (LAG) em um terço dos casos (GREENE et al. 2004; CARVALHO; COLLAÇO, 2007; SILVEIRA et al. 2007).

Para suprir essa deficiência, e buscando excluir a colposcopia e diminuir o custo de rastreamento, defendem o uso do ácido acético logo após a coleta citológica de repetição. Em seus estudos, os autores apresentam resultados positivos para a técnica onde, à vista desarmada, somente as alterações aceto-brancas deveriam ser encaminhadas para avaliação colposcópica. O uso da mesma permitiria a diminuição de investimentos em programas de rastreamento e outros pesquisadores referendam essa técnica (NETTO et al. 2002).

O método de tipagem viral do DNA por PCR tem sua qualidade bem específica, haja vista possuir a propriedade de detectar carga viral muito baixa, promover a amplificação do vírus milhares de vezes (SOUSA, 2008), consegue detectar fragmentos do DNA do vírus do HPV mínimos e leves, tendo uma alta sensibilidade e boa especificidade com informação de infecção simples ou múltipla (DOBO; OSHIMA; GIANOTTI FILHO, 2002; NONNERNMACHER et al, 2002; GHEIT et al. 2006; FARIA 2007; GARGIULO et al. 2007).

Almeida, Sakama e Campos (2006), afirmam que os testes de biologia molecular, dentre os quais a PCR, é um dos métodos mais sensível, tornam as decisões na conduta clínica mais fáceis, baseando-as em critérios objetivos, ao invés de critérios morfológicos e colposcopias arbitrárias, estas experiências estão consonantes com a pesquisa realizada em adolescentes na escola pública.

Segundo Alves e Netto (2004), a colposcopia é um dos métodos de diagnóstico mais sensível para detectar a doença cervical invasiva e pré-invasiva, porém com baixa especificidade e exige profissional qualificado, assim, com seu custo elevado, limita seu uso para triagem primária, esses dados concordam com essa pesquisa abordando adolescentes.

Tuon et al. (2002) demonstraram que a imagem colposcópica, quando visualiza a JEC permite melhor avaliação dos critérios de gradação colposcópica. As suas vantagens estão na informação imediata da presença ou ausência de lesão significativa, topografia da mesma, permitindo indicar a melhor forma de tratar (SALVAJOLI; SOUHAMI; FARIAS 1999). As desvantagens, além do custo elevado, é o potencial para exagero no diagnóstico e tratamento (COX, 2003). Comparando esta com a citologia e histopatologia, leva vantagem, pois detecta as lesões imediatamente ao realizar este procedimento. A colposcopia é um exame adequado para pacientes identificadas pela citopatologia com de risco para o câncer de colo de útero (ALVES, 2003; AMARAL et al. 2008).

A técnica de PCR-Nested é eficiente para detectar a infecção viral fornecendo informações diagnósticas, como infecção simples e múltipla. A detecção do DNA viral como alternativa deve ser considerada em populações para as quais não há programas de triagem citológica e/ou esses sejam ineficazes. Considerando a pesquisa com adolescentes da escola pública em São Luís – Maranhão, utilizaram-se os métodos convencionais acrescidos da PCR - Nested, tendo em vista as experiências de Faria (2007), Faria et al. (2008) e Sousa (2008), as quais estão em acordo com esta pesquisa.

Quanto à relevância clínica deste estudo, evidencia-se a conotação contemporânea da saúde sexual do adolescente na escola pública, requerendo posterior acompanhamento e observações prospectivas para redução da morbimortalidade do câncer do colo do útero, que precede com infecções pelo Papilomavirus.

## 7 CONCLUSÕES

- A infecção por HPV na cérvix uterina em adolescentes constitui um problema de saúde pública em São Luís-Maranhão;
- Os fatores sócio-demográfico compreendem estudantes em sua maioria de 15 a 17 anos, com procedência urbana, cor branca e escolaridade entre 12 e 14 anos;
- A sexarca das adolescentes ocorreu antes dos 16 anos, e a metade diz ter tido parceiro único, e quanto ao abortamento ocorreu apenas em três adolescentes da amostra;
- A citopatologia demonstrou processo inflamatório elevado, tendo como agente etiológico *Lactobacilos* e *Gardnerella* e apenas uma adolescente com resultado de lesão de baixo grau (LSIL/HPV);
- A colposcopia revelou positividade baixa, diagnosticando apenas sete das trinta e nove adolescentes e a histopatologia quando avaliada com a genotipagem apresentou sensibilidade de 46,1% e especificidade de 50,0%;
- A colposcopia, a citopatologia e a histopatologia, revelaram achados de lesão menor e LSIL/HPV em apenas uma adolescente;
- A genotipagem por PCR-Nested para HPV diagnosticou os tipos de alto risco, sendo que os mais frequentes foram: 66/31/51/59/39/56/35/82, com predominância de 66 e raramente foram detectados os vírus 16 e 18;
- Das três adolescentes que abortaram: uma antes dos 15 anos com infecção múltipla, pelos tipos 45/51/56/81/82, uma de 16 anos com infecção simples (tipo 66) e a outra que não informou em que idade abortou com virose pelo tipo 6;
- As associações caracterizadas por infecções coexistentes (múltiplas) foram mais frequentes, ocorrendo HPV de alto risco, seguindo-se os intermediários e de baixo risco, requerendo acompanhamento prospectivo, considerando os tipos oncogênicos diagnosticados nestas adolescentes, com predominância do alto risco 66 e do intermediário 6.

## REFERÊNCIAS

ALDRIGHI, J. M.; ALDRIGHI, A. P. S.; PETTA, C. A. Contraceção hormonal oral, HPV e risco de câncer cérvico-uterino. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 93-117, 2002.

ALMEIDA, A. C. G.; SAKAMA, A. T., CAMPOS, R. G. A correlação do câncer do colo uterino com papilomavírus humano. **Revista de Atenção Primária à Saúde**, Juiz de Fora, v. 9, n. 2, p. 1-15, 2006.

ALVES, R. R. F. **Papilomavírus humano, neoplasia intra-epitelial cervical e câncer do colo uterino**: performance dos métodos de triagem e diagnósticos em diferentes faixas etárias. 2003. 73 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Tropical e Saúde Pública) - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2003.

ALVES, R. R. F.; NETTO, J. C. D. A. Métodos de triagem e diagnóstico na infecção pelo papilomavírus humano, na neoplasia intra-epitelial e no câncer uterino. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 33, n. 2, p. 169-182, 2004.

AMARAL, R. G.; MANRIQUE, E. J. C.; GUIMARÃES, J. V.; SOUSA, P. J.; MIGNOLI, J. R. Q.; XAVIER, A. F.; OLIVEIRA, A. Influência da adequabilidade da amostra sobre a detecção das lesões precursoras do câncer cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 11, p. 556-560, 2008.

ANDRADE, J. M. O diagnóstico de células escamosas atípicas em citologia oncológica cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 2, p. 71-74, 2006.

ANSCHAU, F. Do carcinoma cervical *in situ* ao invasor: o papel da expressão da P16<sup>INK4A</sup> na progressão e na recorrência. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 11, p. 583, 2008.

ANTONIAZZI, B. N.; D'ALESSANDRO, T. A. L.; TEIXEIRA, R. A. Epidemiologia do câncer de colo do útero. **Prática Hospitalar**, São Paulo, ano X, n. 60, p. 99-104, nov. - dez. 2008.

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

BAGARELLI, L. B.; OLIANI, A. H. Tipagem e estado físico de papiloma vírus humano in situ em lesões intra-epiteliais do colo uterino. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v.26, n. 1, p. 59-64, jan./fev. 2004.

BARRETO, R. G. **Alterações inflamatórias e processos displásicos do colo do útero e sua relação com o papilomavírus humano (HPV) em adolescentes e mulheres jovens**. 2007. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2007.

BARROS, L. D. F.; ROCHA, J. E. S. Infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV) em adolescentes: diagnóstico biomolecular. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 11, p. 685-7, 2006.

BEHBAKHT, K.; FRIEDMAN, J.; HEIMLER, I; AROUTCHEVA, J. S.; FARO, S. Role of the vaginal microbiological ecosystem and cytokine profile in the promotion of cervical dysplasia: a case-control study. **Infections diseases in obstetrics and gynecology**, New York, v. 10, p. 181-86, 2002.

BERTELSEN, B. I.; KUGARAJH, K.; SKAR, R.; LAERUM, O. D. HPV subtypes in cervical cancer biopsies between 1930 and 2004: detection using general primer pair PCR and sequencing. **Virchow's Archive: An International Journal of Pathology**, Heidelberg, v. 449, p. 141-147, Aug. 2006.

BEZERRA, S. J. S.; GONÇALVES, P. C.; FRANCO, E. S.; PINHEIRO, A. K. B. Perfil de mulheres portadoras de lesões cervicais por HPV quanto aos fatores de risco para câncer de colo uterino. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v. 17, n. 2, p. 143-148, 2005.

BIGIO, C. T.; BARBOSA, F. A.; CAVALCANTI, S. M. B. Detecção e tipagem viral para papilomavirus humano: progressos recentes e perspectivas clínicas. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v.14, n. 4, p. 32-35, 2002.

BORGES, S. C. V.; MELO, V. H.; MORTOZA JÚNIOR, G. M.; ABRANCHES, A.; LIRA NETO, J. B.; TRIGUEIRO, M. C. Taxa de detecção do papilomavírus humano pela captura híbrida II, em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 105-110, 2004.

BOYLE, P.; LEVIN, B. (ed.). Cervical cancer. In: \_\_\_\_\_. **World Cancer Report**, Lyon: IARC, p. 419-423, 2008. Disponível em: <[http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr\\_2008.pdf](http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr_2008.pdf)>. Acesso em: 25 nov. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Programas de Controle do Câncer. **Estimativa de incidência e mortalidade por câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2001.

BRASIL. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Ministério da Saúde. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 3, p. 213-236, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. **Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **DST atinge 10,3 milhões de brasileiros**. DST e Aids na mídia. Brasília: MS: Nov. 2008. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISE77B47C8ITEMID28B732FCC66A405DB0EC2B5196749B27PTBRIE.htm>>. Acesso em: 19 ago. 2009.

BRINGHENTI, M. E. Z.; GONÇALVES, T. L.; RODRIGUES, Y. B. HPV na gênese de lesões cérvico-uterinas- Métodos diagnósticos (Citopatologia – Tipagem viral). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 33, n. 3, p. 117-120, 2001.

CAETANO, R.; VIANNA, C. M. M.; THULER, L. C.; GIRIANELLI, V. R. Custo-efetividade no rastreamento do câncer cérvico-uterino no Brasil: um estudo exploratório. **Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 99-118, 2006.

CÂMARA, G. N. N. L.; CRUZ, M. R.; VERA, V. S.; MARTINS, C. R. F. Os papilomavírus humanos – HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. **Revista Universitas Ciências da Saúde**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 149-158.

CAMPANER, A. B.; SANTOS, R. E.; GALVÃO, M. A. L. Importância do tabagismo na carcinogênese do colo uterino. **Revista Femina**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 11, p. 713-717, 2007.

CAMPOS, R. R.; MELO, V. H.; DEL CASTILHO, D. M.; NOGUEIRA, C. P. F. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 5, p. 248-56, 2005.

CARNEIRO, S. C.; MOREIRA, M. A. R.; NETTO, J. C. A. HPV e câncer do colo uterino. **Revista de Patologia Tropical**, v. 33, n. 1, p. 01-20, jan./jun. 2004.

CARVALHO, N. S. D.; L. M. COLLAÇO. O tocoginecologista, o patologista e o exame de Papanicolaou. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 29, n.8, p. 383-6, 2007.

CATES, J. R.; BREWER, N. T.; FAZEKAS, K. I.; MITCHELL, C. E.; SMITH, J. S. Racial differences in HPV knowledge, HPV vaccine acceptability and related beliefs among rural, southern women. **The Journal of Rural Health**, Kansas City, v. 25, n. 1, p. 93-7, 2009.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Sexual and Reproductive Health of Persons Aged 10–24 Years — United States, 2002–2007**, *MMWR* Surveill Summ v. 58, n. SS-6, Jul. 2009. Disponível em: < <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/ss/ss5806.pdf>>. Acesso em: 02 ago. 2009.

CHACON, J.; SANZ, I.; RUBIO, M. D.; DE LA MORENA, M. L.; DIAZ, E.; MATEOS, M. L.; BAQUERO, F. Detection and genotyping of high-risk human papillomavirus in cervical specimens. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Espanha, v. 25, n. 5, p. 311-316, 2007.

CODES, J. S. D.; COHEN, D. A.; MELO, N. A.; TEIXEIRA, G. G.; SILVA, T. J.; OLIVEIRA, M. P. R. Detecção de Doenças Sexualmente Transmissíveis em Ambientes Clínicos e Não Clínicos na Cidade de Salvador, Bahia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.22, n.2, p.325 - 334. 2006.

COELHO, R. A.; FACUNDO, M. K. F.; NOGUEIRA, A. L.; SAKANO, C. R. S. B.; RIBALTA, J. C. L.; BARACAT, E. C. Relação entre diagnóstico citopatológico de neoplasia intra-epitelial cervical e índices de células CD4 + e de carga viral em pacientes HIV - soropositivas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 97-102, 2004.

CONTI, F. S., BORTOLIN, S., KULKAMP, I. C. Educação e Promoção à Saúde: Comportamento e Conhecimento de Adolescentes de Colégio Público e Particular em relação ao Papilomavírus Humano. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v. 18, n. 1, p. 30-35, 2006.

CORDEIRO, M. R. A.; COSTA, H. L. F. F.; ANDRADE, R. P.; BRANDÃO, V. R. A.; SANTANA, R. Inspeção visual do colo uterino após aplicação de ácido acético no rastreamento das neoplasias intra-epiteliais e lesões induzidas por HPV. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, p. 51-7, 2005.

COX, J. T. The Clinician's View: Role of Human Papillomavirus Testing in the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology Guidelines for the Management of Abnormal Cervical Cytology and Cervical Cancer Precursors. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, Estados Unidos, v. 127, n. 8, p. 950-958, 2003.

DE LIMA SOARES, V.; DE MESQUITA, A. M.; CAVALCANTI, F. G.; SILVA, Z. P.; HORA, V.; DIEDRICH, T.; DE CARVALHO SILVA, P.; DE MELO, P. G.; DACAL, A. R.; DE CARVALHO, E. M.; FELDMEIER, H. Sexually transmitted infections in a female population in rural north-east Brazil: prevalence, morbidity and risk factors. **Tropical Medicine and International Health**, Estados Unidos, v. 8, n. 7, p. 595-603, 2003.

DE PALO, G; TESTA, R. (Executive Board of IFCPC). The International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy (IFCPC). **Journal of Lower Genital Tract Disease**, v. 8, n. 1, p. 3-5, 2004.

DEMPSEY, A. F.; GEBREMARIAM, A.; KOUTSKY, L.; MANHART, L. Behavior in early adolescence and risk of human papillomavirus infection as a young adult: results from a population-based study. **Pediatrics**, Elk Grove Village-USA, v.122, n.1, p.1-7, 2008.

DERCHAIN, S. F. M.; LONGATTO FILHO, A.; SYRJÄNEN, K. J. Neoplasia intra-epitelial cervical: diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 7, p. 425-33, 2005.

DIÓGENES, M. A. R.; VARELA, Z. M. V.; BARROSO, G. T. Papillomavirus Humano: repercussão na saúde da mulher no contexto familiar. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, Porto Alegre, v. 27, n. 2, p. 266-73, 2006.

DISCACCIATI, M. G.; RABELO-SANTOS, S. H.; CAMPOS, E. A.; SIMÕES, J. A.; DERCHAIN, S. F. M.; SARIAN, L. O. Z.; ZEFERINO, L. C. Vaginose bacteriana e DNA de papilomavírus humano de alto risco oncogênico em mulheres submetidas a conização com alça diatérmica para tratamento de neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 9, p. 721-5, 2004.

DOBO, C.; OSHIMA, C. T. F.; GIANOTTI FILHO, O. Método de hibridização *in situ* para detecção da infecção pelo papilomavírus humano (HPV) em regiões de vulva, vagina e colo uterino. **Folha Médica**, v. 121, n. 3, p. 154-164, jul./set. 2002.

DOORBAR J., STERLING J.C. **The biology of human papillomavirus**. In: Sterling JC and Typing, SK (ed.), Human Papillomaviruses: Clinical and Scientific Advances. London, Arnold, 2001. pp. 10-23.

DRAIN, P. K.; HOLMES, K. K.; HUGHES, J. P.; KOUTSKY, L. A. Determinants of cervical cancer rates in developing countries. **International Journal of Cancer**, Estados Unidos, v. 100, p. 199-205, 2002.

ELEUTÉRIO JÚNIOR, J.; GIRALDO, P. C.; CAVALCANTE, D. I. M.; GONÇALVES, A. K.; ELEUTÉRIO, R. M. N. Associação entre a carga viral de HPV de alto risco, expressão de p.16<sup>INK4A</sup> e lesões intra-epiteliais escamosas do colo uterino. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 53, n. 6, p. 530-5, 2007.

ELUF NETO, J.; ZEFERINO, L. C.; DORES, G. B.; PASSOS, M. R. L. Prevenção da Infecção pelo Papilomavirus Humano. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v. 12, n.1, p. 39-42, 2000.

FARIA, I. M. D. **Estudo comparativo entre a colpocitologia e a reação em cadeia de polimerase para o diagnóstico do papilomavírus humano no colo uterino de mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana**. 2007. 196 f. Dissertação (Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia) - Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

FARIA, I. M.; MELO, V. H.; CASTRO, L. P. F.; FARIA, F. M.; CARVALHO, N. O.; ARAÚJO, A. C. L.; OLIVEIRA, H. C. Acuidade da citologia oncótica para o diagnóstico da infecção pelo HPV no colo uterino de mulheres portadoras do HIV. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v.30, n.9, p.437-444, 2008.

FEBRASGO – Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia. Papilomavírus humano (HPV): diagnóstico e tratamento. In: **Projeto diretrizes**: Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, 2002. Disponível em: <[http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto\\_diretrizes/079.pdf](http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/079.pdf)>. Acesso em: 21 set. 2008.

FERNANDES, A. P. M.; GONÇALVES, M. A. G.; SIMÕES, R. T.; QUINTANA, S. M.; DUARTE, G.; DONADI, E. A. Influência da Infecção pelo HIV -1 Sobre a Presença do HPV em Lesões do Colo Uterino. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v. 16, n. 1, p. 21-25, 2004.

FERNANDES, T. A. A. M.; MEISSNER, R. V.; BEZERRA, L. F.; AZEVEDO, P. R. M.; FERNANDES, J. V. Infecção por papilomavírus humano em mulheres atendidas em um serviço de prevenção ao câncer do colo do útero em Natal, Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 573-78, 2008.

FIGUEIRÊDO, P. G.; DERCHAIN, S. F. M.; SARIAN, L. O. Z.; GONTIJO, R. C.; ANDRADE, L. A. A. A.; CAMPOS, E. A.; MARTINEZ, E. Z. Detecção do DNA do papilomavírus humano após excisão da zona de transformação com alça diatérmica para tratamento de neoplasia intra-epitelial cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 1, p. 9-15, 2003.

FLETCHER A.H.; WILKINSON, E.J.; KNAPIK, J.A. Oncogenic human papillomavirus testing in an adolescent population with atypical squamous cells of undetermined significance. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, Gainesville, v. 13, n. 1, p. 28-32, 2009.

FLORES, Y.; SHAH, K.; LAZCANO, E.; HERNÁNDEZ, M; BISHAI, D; FERRIS, D. G.; LÖRINCZ, A.; HERNÁNDEZ, P.; SALMERÓN, J. Design and methods of the evaluation of an HPV-based cervical cancer screening strategy in Mexico: The Morelos HPV Study. **Salud Pública de México**, México, v. 44, n. 4, p. 338-342, 2002.

FONSECA, L. A. M.; RAMACCIOTTI A. S.; ELUF NETO, J. Tendência da mortalidade por câncer do útero no município de São Paulo entre 1980 e 1999. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 136-142, 2004.

FUNDAÇÃO ONCOCENTRO DE SÃO PAULO. **Registro de Câncer no Brasil e sua história**. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2005.

GARCÍA, T.; LORETO, A.; RUBIO, M. D. P; RUBIO, M.; PÉREZ, M. Patología de cuello uterino en adolescentes con vida sexual activa. **Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría**, Caracas, v. 68, n. 3, p. 106-112, 2005.

GARGIULO, F.; DE FRANCESCO, M. A.; SCHREIBER, C.; CIRAVOLO, G.; SALINARO, F.; VALLONCINI, B.; MANCA, N. Prevalence and distribution of single and multiple HPV infections in cytologically abnormal cervical samples from Italian women. **Virus Research**, Holanda, v. 125, p. 176-182, 2007.

GHAZAL-ASWAD, S. Cervical cancer prevention in the human papilloma virus vaccine era. **Annals of the New York Academy of Sciences**, Nova York, n. 1138, p. 253-256, set. 2008.

GHEIT, T.; LANDI, S.; GEMIGNANI, F.; SNIJDERS, P. J. F.; VACCARELLA, S.; FRANCESCHI, S.; CANZIAN, F.; TOMMASINO, M. Development of a sensitive and specific assay combining multiplex PCR and DNA microarray primer extension to detect high-risk mucosal human papillomavirus types. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 44, n. 6, p. 2025-2031, 2006.

GIRIANELLI, V. R.; THULER, L. C. S.; SZKLO, M.; DONATO, A.; ZARDO, L. M. G.; LOZANA, J. A.; ALMEIDA NETO, O. F.; CARVALHO, A. C. L.; MATOS, J. H.; 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. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro. v. 50, n. 3, p. 225-226, 2004.

GIULIANO, A. R.; PAPPENFUSS, M.; ABRAHAMSEN, M.; DENMAN, C.; DE ZAPIEN, J. G.; HENZE, J. L.; ORTEGA, L.; BROWN DE GALAZ, E. M.; STEPHAN, J.; FENG, J.; BALDWIN, S.; GARCIA, F.; HATCH, K. Human papillomavirus infection at the united states-mexico border: implications for cervical cancer prevention and control. **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, Estados Unidos, v. 10, p. 1129-1136, 2004.

GLUCHOWISKI, G. S.; SILVA, S. H. M.; NAKAMURA, E. K.. O Desconhecimento das mulheres sobre o HPV e o carcinoma Cervical. **Revista de Enfermagem - UNIANDRADE**, v. 8, n. 18, p. 1302-08, 2007. Disponível em: <[www.uniandrade.com.br/links/menu3/.../revista.../artigo18.pdf](http://www.uniandrade.com.br/links/menu3/.../revista.../artigo18.pdf)>. Acesso em: 05. mar. 2008.

GOMES, C. M.; RADES, E.; REZENDE, W.; ZUGAIB, M. Condiloma acuminado e gestação: transmissão vertical e tratamento. **Revista Femina**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 9, p. 543-9, 2008.

GONTIJO, R. C.; DERCHAIN, S. F. M.; MONTEMOR, E. B. L.; SARIAN, L. O. Z.; SERRA, M. M. P.; ZEFERINO, L. C.; JUHANI, K. Citologia oncológica, captura de híbridos II e inspeção visual no rastreamento de lesões cervicais. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 141-149, 2005.

GONTIJO, R. C.; DERCHAIN, S. F. M.; ROTELI-MARTINS, C.; SARIAN, L. O. Z.; BRANGANÇA, J. F.; ZEFERINO, L. C.; SILVA, S. M. Avaliação de métodos alternativos à citologia no rastreamento de lesões cervicais: detecção de DNA-HPV e inspeção visual. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 269-275, 2004.

GREENE, F. L. ; PAGE, D.; MORROW, M.; BALCH, C.; HALLER, D.; FRITZ, A.; FLEMING, I. **Manual de estadiamento do câncer**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2004. 432 p.

GROSS, G. E.; BARRASO, R. **Infecção por papilomavírus humano: Atlas clínico de HPV**. São Paulo: Artmed, 1999.

GUANILO, M. C. T. U.; MOURA, R. F.; CONCEIÇÃO, C. A.; NICHATA, L. Y. I. Papilomavírus humano e neoplasia cervical: a produção científica dos países da América Latina e caribe nos últimos 11 anos. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v. 18, n. 1, p. 58-61, 2006.

GUARISI, R.; HARDY, E.; DERCHAIN, S. F. M.; FONSECHI-CARVASAN, G. A., BORGES, J. B. R. Rastreamento, diagnóstico e tratamento das lesões precursoras e do câncer invasor de colo uterino no município de Franco da Rocha, SP. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 50, n. 1, p. 7-15, 2004.

GUIMARÃES, J. V.; SALGE, A. K. M.; OLIVEIRA, F. A.; LINO JÚNIOR, R. S.; CASTRO, E. C. C.; REIS, M. A.; TEIXEIRA, V. P. A. Frequência de alterações cérvico-vaginais em mulheres submetidas ao exame citopatológico. **Revista Eletrônica de Enfermagem** (on-line), Goiânia, v. 9, n. 3, p. 815-820, 2007. Disponível em: <http://www.fen.ufg.br/revista/v9/n3/v9n3a20.htm>. Acesso em: 13 mar. 2009.

HOUFLIN DEBARGE, V.; COLLINET, P.; VINATIER, D.; EGO, A.; DEWILDE, A.; BOMAN, F.; LEROY, J. L. Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions. **Gynecologic Oncology**, Estados Unidos, v. 90, n. 3, p. 587-592, 2003.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. IARC **Screening Group - cervical cancer research studies**. Lyon, França, 2009. Disponível em: <http://screening.iarc.fr/cervicalindex.php>. Acesso em: 30 jul. 2009.

INTERNATIONAL FEDERATION FOR CERVICAL PATHOLOGY AND COLPOSCOPY. **Laudo Colposcópico**. XI World Congress in Barcelona in 2002. Disponível em: [www.colposcopy.org.br/laudo.php](http://www.colposcopy.org.br/laudo.php). Acesso em: 14 jun. 2008.

JACYNTHO, C. M. A. **Prevalência de Lesão Intra-epitelial Escamosa Anal em Mulheres com Lesão Intra-epitelial Escamosa Genital**. 2005. 129 f. Tese (Doutorado em Tocoginecologia) - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

JORDAN A. Aspects of Students Health: Adolescent gynecology. **British Medical Journal**, Inglaterra, v. 1, p. 98-99, 1977.

JORDÃO, A. V.; RUGGERI, L. S.; CHIUCHETA, G. I. R.; PIVA, S.; CONSOLARO, M. E. L. Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico citológico de papilomavírus humano. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 81-89, 2003.

KANESHIMA, E. N.; SUZUKI, L. E.; IRIE, M. M. T.; YOSHIDA, C. S.; SILVA, S. F. M.; CONSOLARO, M. E. L. Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico citopatológico de papilomavírus humano (HPV) previamente detectado por PCR. **Acta Bioquímica Clínica Latino americana**, v. 39, n. 1, p. 61-68, 2005.

KJAER, S. K.; VAN DER BRULE, A. J. C.; BOCK, J. E.; POLL, P. A.; ENGHOLM, G.; SHERMAN, M. E.; WALBOOMERS, J. M. M.; MEIJER, C. J. L. M. Determinants of genital human papillomavirus (HPV) infection in 1000 randomly chosen young danish women with normal pap smear: are there different risk profiles for oncogenic and nononcogenic HPV types? **Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention**, Estados Unidos, v. 6, p. 799-805, 1997.

KOSS, L. G.; GOMPEL, C. **Introdução à Citopatologia Ginecológica com Correlações Histológicas e Clínicas**. São Paulo: Roca, 2006.

LAPIN, G. A.; DERCHAIN, S. F. M.; TAMBASCIA, J. Comparação entre a colpocitologia oncótica de encaminhamento e a da gravidade das lesões cervicais intra-epiteliais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 2, p.120-5, 2000.

LEAL, E. A. S.; LEAL JÚNIOR, O. S.; GUIMARÃES, M. H.; VITORIANO, M. N.; NASCIMENTO, T. L.; COSTA, O. L. N. Lesões Precursoras do Câncer de Colo em Mulheres Adolescentes e Adultas Jovens do Município do Rio Branco - Acre. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p.81-86. 2003.

LEHTOVIRTA, P.; FINNE, P.; NIEMINEN, K. S.; SAVONIUS, H.; PAVONEN, J.; HEIKINHEIMO, O. Prevalence and risk factors of squamous intraepithelial lesions of the cervix among HIV-infected women – a long-term follow-up study in a low-prevalence population. **International Journal of STD and AIDS**, Estados Unidos, v. 17, n. 12, p. 831-834, 2006.

LESSA, G. Educação sexual nas escolas: Projeto dê sinal verde à vida. **Núcleo de Oncologia da Bahia**, v. 8, n. 1, 2008. Disponível em:  
<<http://www.nucleodeoncologia.com.br/novidades/eventos/?item=o-nucleo-vai-as-escolas-educacao-sexual-e-prevencao-do-hpv>>. Acesso em: 23 jan. 2009.

LI, Y.; WANG, Y.; JIA, C.; MA, Y.; LAN, Y. WANG, S. Detection of human papillomavirus genotypes with liquid bead microarray in cervical lesions of northern Chinese patients. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, Estados Unidos, v. 182, n. 1, p. 12-17, 2008.

LIEN, T. T.; SÀNCHEZ, J. V. Infección por papiloma virus humano en adolescente. **Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología**, Cuba, v.32, n.2, p.1-5, 2006.

LINARD, A. G.; FERNANDES, A. F. C.; ROCHA, C. M. Nível de conhecimento da mulher jovem sobre HPV (papilomavírus humano). **Pesquisa Médica de Fortaleza**, Fortaleza, v.2, n.3/4, p.84-89, 1999.

LONGATTO FILHO, A.; ALMEIDA, D. C. B.; ADURA, P. J. D.; MARZOLA, V. O.; CAVALIERE, M. J. Influência da qualidade do esfregaço cérvico-vaginal na detecção de lesões intra-epiteliais cervicais. **Folha Médica**, São Paulo, v. 121, n. 2, p. 79-83, 2002.

LONGATTO FILHO, A.; UTAGAWA, M. L.; PEREIRA, S. M. M.; PITTOLI, J. E.; AGUIAR, L. S.; MAEDA, M. Y. S.; DI LORETO, C.; ROTELI-MARTINS, C.; LIMA, T. P.; GALVANE, J. O.; SYRJANEN, K. J. Low and high-risk HPV types detected with hybrid capture II – HC2 - in liquid-based cytology - DNA Citoliq System: experience from the LAMS - Latin American Screening Study. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v. 16, n. 1, p. 17-20, 2004.

LOPES, F.; LATORRE, M. R. D. O.; PIGNATARI, A. C. C.; BUCHALLA, C. M. Prevalência de HIV, papilomavírus humano e sífilis na penitenciária feminina da capital, São Paulo, 1997-1998. **Cadernos de Saúde Pública**, São Paulo, v. 17, n. 6, p. 1473-1480, 2001.

LÓPEZ MARTI, M. G.; IRIGOYEN, M.; ARBERTER, A. Nueva vacuna contra el HPV (Human Papillomavirus = Papiloma virus Humano). **Archivos Argentinos de Pediatría**, Argentina, v. 105, n. 3, p. 260-261, 2007.

LOURO, I. D.; SOUZA, L.S.; RANGEL, L. B. A.; SILVA, I. V. Avanços biotecnológicos no diagnóstico e tratamento do câncer cervical causado pelo HPV. **Revista das Sociedades Brasileiras de Câncer**, v. 15, n. 4, p. 28-34, 2007.

MALDONADO, M. **Vacina para o HPV**, 2006. Disponível em: <<http://marianamaldonado.com.br/2006/01/espaco-mulher/vacina-para-o-hpv>> 2006. Acesso em: 23 fev. 2009.

MANDELBLATT, J. S.; LAWRENCE, W. F.; WOMACK, S. M.; JACOBSON, D.; YI, B.; HWANG, Y.; GOLD, K.; BARTER, J.; SHAH, K. Benefits and cost of using HPV testing to screen for cervical cancer. **The Journal of the American Medical Association**, Estados Unidos, v. 287, n.18, p. 2372-81, 2002.

MANOS, M.M., TING, Y., WRIGHT, D.K., LEWIS, A.J., BROKER, T.R., WOLINSKY, S.M. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. **Cancer Cells**, v. 7, p. 209-214, 1989.

MANRIQUE, E. J. C.; TAVARES, S. B. N.; SOUZA, N. L. A.; ALBUQUERQUE, Z. L. P.; ZEFERINO, L. C.; AMARAL, R. G. A revisão rápida de 100% é eficiente na detecção de resultados falsos-negativos dos exames citopatológicos cervicais e varia com a adequabilidade da amostra: uma experiência no Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 8, p. 408-13, 2007.

MARTINS, L. F. L.; THULER, L. C. S.; VALENTE, J. G. Cobertura do exame de Papanicolaou no Brasil e seus fatores determinantes: uma revisão sistemática da literatura. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 8, p. 485-92, 2005.

MELKERT, P. W.; HOPMAN, E.; VAN DEN BRULE, A. J.; RISSE, E. K.; VAN DIEST, P. J.; BLEKER, O. P.; HELMERHORST, T.; SCHIPPER, M. E.; MEIJER, C. J.; WALBOOMERS, J. M. Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent. **International Journal of Cancer**, Estados Unidos, v. 53, n.6, p. 919-23, 1993.

MENDES, J. C.; SILVEIRA, L. M. S.; PAREDES, A. O. Lesão intra-epitelial cervical: existe correlação entre o tempo de realização do exame de Papanicolaou e o aspecto do colo uterino para o aparecimento da lesão? **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 191-196, 2004.

MIRANDA, D. O. ; RESENDE, T. C.; URZEDO, R. O exame ginecológico na perspectiva da adolescente de 15 a 19 anos que já tenha iniciado sua atividade sexual. In: IX Congresso Brasileiro dos Conselhos de Enfermagem, 2006, Porto Seguro. **Anais eletrônicos... CBCENF**, 2006. Disponível em: <<http://www.cbcef.com.br/anaiscofen/pdf9/0270.pdf>>. Acesso em: 12 dez 2008.

MONTEIRO, D. L. M.. A cérvix uterina da adolescente: estudo da prevalência dos fatores associados ao câncer de colo uterino e suas lesões precursoras em população de adolescentes atendidas em hospital público do município do Rio de Janeiro. (Resumo de tese). **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 10, p. 819-824, 2004.

MONTEIRO, D. L. M.; TRAJANO, A. J. B.; SILVA, K. S.; RUSSOMANO, F. B. Doença cervical pré-invasiva e câncer cérvico-uterino em adolescentes brasileiras: prevalência e fatores associados. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 12, p. 2539-2548, 2006.

MOTA, M. L. F.; MEDEIROS, M. C. M.; MONTARROIOS, R. A.; JIMÉNEZ, S. M. C. Educação em saúde: o exame preventivo do câncer de colo uterino e a importância de fazê-lo. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 6, n.183, 2006.

MOUNT, S. L.; PAPILLO, J. L. A study of 10,296 pediatric and adolescent Papanicolaou smear diagnoses in northern New England. **Pediatrics**, v. 103, n. 03, p. 539-45, 1999.

MURTA, E. F. C.; SOUZA, M. A. H.; ADAD, S. J.; ARAÚJO JÚNIOR, E. Infecção pelo papilomavírus humano em adolescentes: relação com o método anticoncepcional, gravidez, fumo e achados citológicos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 217-221, 2001.

NCCN - NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK. Clinical Practice Guidelines in Oncology. **Cervical Cancer Screening**. 2009. Disponível em: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/PDF/cervical.pdf](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/cervical.pdf)>. Acesso em: 25 fev. 2009.

NCI BETHESDA SYSTEM 2001 WORKSHOP – Diane Solomon – Division of Cancer Prevention – National Cancer Institute – **National Institutes of Health**. Disponível em: <http://www.bethesda2001.cancer.gov>>. Acesso em: 17 out. 2009.

NASCIMENTO, M. D. S. B.; PEREIRA, A. C. S.; SILVA, A. M. N.; SILVA, L. M.; VIANA, M. G. C. Programa nacional de combate ao câncer de colo uterino no estado do Maranhão: análise de aspectos citológicos e epidemiológicos. **Acta Oncológica Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 530-535, 2003.

NASCIMENTO, M. I.; PIRES, E. S.; GIL, D. Q.; NUNES, G. G.; BLBOAS, V.; STASIAKI, F. V.; CUNHA, A. A. Características de um grupo de adolescentes com suspeita de neoplasia intra-epitelial cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 10, p. 619-26, 2005.

NETTO, A. R.; RIBALTA, J. C. L.; FOCCHI, J.; BARACAT, E. C. Alternativas para o rastreamento do câncer do colo uterino. **Revista Femina**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 10, p. 693-8, 2002.

NONNENMACHER, B.; BREITENBACH, L. L. V.; PROLLA, J. C.; BOZZETI, M. C. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 95-100, 2002.

NORONHA, V. L.; NORNONHA, R.; CARMONA, B.; MACEDO, L. A.; CRUZ, E. M.; NAUM, C.; MELLO, W.; VILLA, L. Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres com citologia oncótica dentro dos limites da Normalidade. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Niterói, v. 17, n. 1, p. 49-55, 2005.

NORONHA, V.; MELLO, W.; VILLA, L.; BRITO, A.; MACÊDO, R.; BISI, F.; MOTA, R.; SASAMOTO, K.; MONTEIRO, T.; LINHARES, A. Papilomavírus humano associado a lesões de cérvix uterina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 32, n. 3, p. 235-240, 1999.

NOVAES, H. M. D. A vacina contra o HPV e o câncer de colo de útero: desafios para a sua incorporação em sistemas da saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 11, n. 3, p. 505-25, 2008.

NOVAES, J. M. D. C. Importância da colpocitologia na adolescência. **Adolescência e Saúde**. v. 03, n. 01, p.18-21, 2006.

OLIVEIRA, E. R. Z. M. D. **Detecção de infecção genital por papilomavírus humano e anormalidades citológicas em mulheres jovens de baixo risco para doenças sexualmente transmissíveis**. 2002. 88 f. Dissertação. (Mestrado em Tocoginecologia)- Faculdade Estadual de Ciências Médicas de Campinas, São Paulo, 2002.

OLIVEIRA, M. M. H. N.; SILVA, A. A. M. S.; BRITO, L. M. O.; COIMBRA, L. C. Cobertura e fatores associados à não realização do exame preventivo de Papanicolaou em São Luís, Maranhão. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 325-34, 2006.

OLIVEIRA, Z. F. R. **Comparação do desempenho entre a citopatologia-colposcopia e os achados da histopatologia nas lesões do colo uterino**. 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Saúde)- Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

Organización Mundial de la Salud (OMS). El embarazo y el aborto en la adolescência. Ginebra; 1975. (Serie de Informes Técnicos, 583).

ORÍÁ, M. O. B.; ALVES, M. D. S. Adolescente com papilomavírus humano no contexto familiar. **Revista de Enfermagem – UERJ**. Rio de Janeiro, v. 12, n. 01, p. 44-48, 2004.

ORIEL, J. Natural history of genital warts. **British Journal of Venereal Diseases**. Inglaterra, v. 47, n. 01, p. 1-13, 1971.

PARKIN, D. M.; FREDDIE, BRAY; JACQUES, F.; PAOLA; P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. **International Journal of Cancer**, Estados Unidos, v. 94, n. 2, p. 153-156, 2001.

PEDROSA, M. L.; MATTOS, I. E.; KOIFMAN, R. J. Lesões intra-epiteliais cervicais em adolescentes: estudo dos achados citológicos entre 1999 e 2005, no Município do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n.12, p.2881-2890, 2008.

PEREIRA, C. R. N. **Fatores de risco para lesões intra-epiteliais cervicais de alto grau e câncer cervical**: Um estudo de caso-controle no serviço de Patologia Cervical do HUAP. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas)- Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, 2006.

PINOTTI, J. A. Panorama do HPV no Brasil e no Mercosul. In: ROSENBLATT, C.; WROCLASKI, E. R.; LUCON, A. M.; PEREYRA, E. A. G. (Org.). **HPV na Prática Clínica**. 1ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, v. 1, p. 263-273, 2005.

PINTO, A. P.; TULIO, S.; CRUZ, O. R. Co-fatores do HPV na oncogênese cervical. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 73-8, 2002.

QUEIROZ, A. M. A.; CANO, M. A. T.; ZAIA, J. E. O papilomavírus humano (HPV) em mulheres atendidas pelo SUS, na cidade de Patos de Minas – MG. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p. 151-157, 2007.

QUEIROZ, D. T.; PESSOA, S. M. F.; SOUSA, R. A.. Infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV): incertezas e desafios. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 190-6, 2005.

RAMA, C. H.; ROTELI-MARTINS; C. M.; DERCHAIN, S. F. M.; LONGATTO-FILHO, A.; GONTIJO, R. C.; SARIAN, L. O. Z.; SYRJÄNEN, K.; ALDRIGHI, J. M. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 1, p.123-130, 2008.

RAMA, C. H.; ROTELI-MARTINS; C. M.; DERCHAIN, S. F. M.; OLIVEIRA, E. Z.; ALDRIGHI, J. M.; NETO, C. M. Detecção sorológica de anti-HPV 16 e 18 e sua associação com os achados do Papanicolaou em adolescentes e mulheres jovens. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 52, n. 1, p. 43-7, 2006.

RAMÍREZ, G. L. F.; REYES, Z. B.; TELLERÍA, C. J. C.; GUTIÉRREZ, A. M. R.; DE LEÓN, R. A. Incidencia de HPV en adolescentes que acudieron a una consulta ginecológica privada. **Revista Médica Dominicana**, Santo Domingo, v. 63, n. 2, p. 112-114, 2002.

RAMOS, A. S. M. B.; MOCHEL, E. G.; CUNHA, C. V.; BARROS, L. M. Prevenção de câncer cérvico-uterino: sentimentos e reações vivenciadas por mulheres da rede básica em São Luis. **Revista de Ciências da Saúde**, São Luís, v. 7, p. 25-31, 2005.

RAMOS, A. S.; PALHA, P. F.; COSTA JÚNIOR, M. L.; SANT'ANNA, S. C.; LENZAS, N. F. B. Perfil de mulheres de 40 a 49 anos cadastradas em um núcleo de saúde da família, quanto à realização do exame preventivo de Papanicolaou. **Revista Latino americana de Enfermagem**, v. 14, n. 2, p. 170-174, 2006.

RICHARDSON, H.; FRANCO, E.; PINTOS, J.; BERGERON, J.; ARELLA, M.; TELLIER, P. Determinants of low-risk and high-risk cervical human papillomavirus infections in Montreal university students. **Sexually Transmitted Diseases**, Estados Unidos, v. 27, n. 2, p.79-86, 2000.

RICHART, R.M.; PATTEN R. **Lesões Escamosas (Epidermóides) Pré-Cancerosas do Colo Uterino**. Introdução à Citopatologia Ginecológica com Correlações Histológicas e Clínicas. São Paulo: Roca, 2006.

RIETHMULLER, D.; GABELLEA, C.; RAMANAHA, R.; SAUTIÈREA, J. L.; PRÈTETB, J. L.; SCHAALC, J. P.; KANTELIPD, B.; MOUGINB, C.; MAILLET, R. Intégration du test HPV dans le dépistage primaire ? **Journal de Gynécologie, Obstétrique et Biologie de la Reproduction**, França, Suplemento 37, p. 139-151, 2008.

RIOS, S. S. Lesão intra-epitelial cervical: Abordagem Diagnóstica com o Uso da Colpocitologia Oncótica e Colposcopia com Biópsia Dirigida. (Resumo de Tese). **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 10, p. 818, 2004.

RIVOIRE, W. A.; CAPP, E.; CORLETA, H. E.; SILVA, I. S. B. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 2, p. 179-84, 2001.

RIVOIRE, W. A.; CORLETA, H. E.; BRUM, I. S.; CAPP, E. Biologia Molecular do câncer cervical. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 6, n. 4, p. 447-451, 2006.

ROSA, M. I.; MEDEIROS, L. R.; ROSA, D. D.; BOZZETI, M. C.; SILVA, F. R.; SILVA, B. R. Papilomavírus humano e neoplasia cervical. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 5, p. 953-964, mai. 2009.

ROTELI-MARTINS, C. M.; LONGATTO-FILHO, A.; HAMMES, L. S.; DERCHAIN, S. F. M.; NAUD, P.; MATOS, J. C.; ETLINGER, GONTIJO, R. C.; MAEDA, M. Y. S.; SYRJÄNEN, K. J. Associação entre idade ao início da atividade sexual e subsequente infecção por papiloma vírus humano: resultados de um programa de rastreamento brasileiro. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 11, 2007.

RUSSOMANO, F.; MONTEIRO, A. C. S.; MOUSINHO, R. O. O diagnóstico citológico de células escamosas atípicas - uma avaliação crítica das recomendações diagnósticas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 11, p. 573-82, 2008.

SALCEDO, M. M. B. P.; SILVEIRA, G. P. G.; ZETTLER, C. G. A expressão da proteína p 16 e herpes simples vírus tipo 2 em lesões pré-neoplásicas e neoplásicas do colo do útero. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 2, p. 61-66, 2008

SALEH, M. M.; SEOUD, A. A.; ZAKLAMA, M. S. Abnormal cervical smears in adolescents: a ten-year comparative study of demographic criteria and management. **Clinical & Experimental Obstetrics & Gynecology**. v. 34, n. 3, p. 139-42, 2007.

SALVAJOLI, J. V.; SOUHAMI, L.; FARIAS, S. L. **Radioterapia em oncologia**. Rio de Janeiro: Medsi, 1999. p. 961-987.

SÁNCHEZ-ALÈMAN, M. A.; URIBE-SALAS, F.; CONDE-GONZÁLEZ, C. J. La infección por el virus del papiloma humano, un posible marcador biológico de comportamiento sexual en estudiantes universitarios. **Salud Pública de México**, México, v. 44, n. 5, p. 442-447, 2002.

SANDRI, M. T.; LENTATI, P.; BENINI, E.; DELL'ORTO, P.; ZORZINO, L.; CAROZZI, F. M.; MAISONNEUVE, P.; PASSERINI, R.; SALVATICI, M.; CASADIO, C.; BOVERI, S.; SIDERI, M. Comparison of the digene HC2 assay and the roche AMPLICOR human papillomavirus (Hpv) test for detection of high-risk hpv genotypes in cervical samples. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 44, n. 6, p. 2141-2146, 2006.

SANTOS, A. L. F.; DERCHAIN; S. F. M.; SARIAN, L. O.; CAMPOS, E. A.; SANTOS, M. R.; FONSECHI-CARVASAN, G. A. Resultados Histológicos e Detecção do HPV em Mulheres com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado e Lesão Escamosa Intra-epitelial de Baixo Grau na Colpocitologia Oncológica. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 6, p. 457-462, 2004.

SANTOS, C. E. R.; MELLO, E. L. R. **Manual de Cirurgia Oncológica**. 2ª ed. Ribeirão Preto: Tecmedd, p. 561-582, 2008.

SARIAN, L. O. Z.; SANTOS, A. L. F.; DERCHAIN, S. F. M.; FIGUEIREDO, P. G.; MORAIS, S. S. Carga viral do papilomavírus humano na predição da gravidade de lesões cervicais em mulheres com atipias celulares na colpocitologia oncológica. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 05, p. 365-370, 2003.

SCHIFFMAN, M.; HERRERO, R.; DESALLE, R.; HILDESHEIM, A.; WACHOLDER, S.; RODRIGUEZ, A. C.; BRATTI, M. C.; SHERMAN, M. E.; MORALES, J.; GUILLEN, D.; ALFARO, M.; HUTCHINSON, M.; WRIGHT, T. C.; SOLOMON, D.; CHEN, Z.; SCHUSSLER, J.; CASTLE, P. E.; BURK, R. D. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. **Virology**, Estados Unidos, v. 337, n. 1, p. 76-84, 2005.

SELLORS, J. W.; KARWALATJTYS, T. L.; KACZOROWSKI, J.; MAHONY, J. B.; LYTWYN, A.; CHONG, S.; SPARROW, J.; LORINCZ, A. Incidence, clearance and predictors of human papillomavirus infection in women. **Canadian Medical Association Journal**, Canadá, v. 168, n. 4, p. 421-25, 2003.

SHIN, H.; FRANCESCHUI, S.; VACCARELA, S.; ROH, J.; JU, Y.; OH, J.; KONG, H.; RHA, S.; JUNG, S.; KIM, J.; JUNG, K.; VAN DOORN, L.; QUINT, W. Prevalence and determinants of genital infection with papillomavirus, in female and male university students in Busan, South Korea. **International Journal of Infectious Diseases**, Estados Unidos, v. 190, n. 3, p. 468-476, 2004.

SILVA, T. T.; GUIMARÃES, M. L.; BARBOSA, M. I. C.; PINHEIRO, M. F. G.; MAIA, A. F. Identificação de tipos de papilomavírus e de outros fatores de risco para neoplasia intra-epitelial cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 5, p. 285-91, 2006.

SILVEIRA, L. M. S.; SILVA, H. A.; PEREIRA, I.P; PINHEIRO, V. M. F. Critérios citomorfológicos para o diagnóstico de HPV e sua relação com a gravidade da neoplasia intra-epitelial cervical. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 127-132, 2005.

SILVEIRA, L. M. D. S.; SILVA, H. A.; PINHEIRO, V. M. F.; VELOSO, A. O. L.; EVERTON, H. F. S. N. Anormalidades citológicas na cérvix de mulheres atendidas no laboratório central de saúde pública do Maranhão. **NewsLab**, v. 81, n. 1, p.130-135, 2007.

SIRIAUNKGUL, S.; SUWIWAT, S.; SETTAKORN, J.; KHUNAMORNPOONG, S.; TUNGSINMUNKONG, K.; BOONTHUM, A.; CHAISUKSUNT, V.; LEKAWANVIJIT, S.; SRISOMBOON, J.; THORNER, P. S. HPV genotyping in cervical cancer in Northern Thailand adapting the linear array HPV assay for use on paraffin-embedded tissue. **Gynecologic Oncology**, Estados Unidos, v. 108, p. 555-560, 2007.

SMITH, J. S.; MELENDY, A.; RANA, R. K.; PIMENTA, J. M. Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. **Journal Adolescent Health**, Estados Unidos, v. 43, n. 4, p. 5-25, 2008.

SODRÉ, A. Frequência do Câncer no Brasil. **Brasil-Médico**, v. 3, n. 18, p. 229-232, 1904.

SOTLAR, K.; DIEMER, D.; DETHLEFFS, A.; HACK, Y.; STUBNER, A.; VOLLMER, N.; MENTON, S.; DIETZ, K.; WALLWIENER, D.; KANDOLF, R.; BULTMANN, B. Detection and Typing of Human Papillomavirus by E6 Nested Multiplex PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington D. C., v. 42, n. 7, p. 3176-3184, 2004.

SOTO, S. S.; VERA, E. G. Guia práctica para el abordaje y manejo de lesiones anogenitales por virus de papiloma humano en adolescentes. **Acta Pediátrica Mexicana**, v. 27, n. 3, p. 151-6, 2006.

SOUSA, L. B.; PINHEIRO, A. K. B.; BARROSO, M. G. T. Ser mulher portadora do HPV: uma abordagem cultural. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 737-43, 2008.

SOUSA, R. M. S. **Genotipagem de Papilomavírus Humano em Pacientes com Indicação Clínica da Infecção, em São Luís, MA**. 2008. 43 f. Monografia (Título de Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas) - Departamento de Biologia. Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2008.

SOUZA, E.P. Epidemiologia da Infecção Genital por HPV e Anormalidades na Citologia Cervical em Mulheres Jovens Brasileiras, Campinas, SP. 2004. 151 f. Tese (Doutorado em Tocoginecologia). Faculdade de Ciências Biomédicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, SP, 2004.

SOUZA, J. H. K.; KALIL, I. V.; LEITE, J. M.; GEBER, S. Avaliação de lâminas de colpocitologia oncológica previamente diagnosticadas como ASCUS: comparação interensaios e interobservadores. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 3, p. 233-240, 2004.

SOUZA, L. G.; VIANNA, A. C. C. Análise dos exames colpocitológicos de clientes atendidas pelo ambulatório de ginecologia preventiva do hospital geral de Bonsucesso, RJ, no período entre maio/2004 e abril/2005, **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 5, p. 01-16, 2007.

STIVAL, C. O.; LAZZAROTO, M.; RODRIGUES, Y. B.; VARGAS, V. R. A. Avaliação comparativa da citopatologia positiva, colposcopia e histopatologia: destacando a citopatologia como método de rastreamento do câncer do colo do útero. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, p. 215-218, 2005.

THULER, L. C. S. Mortalidade por câncer do colo do útero no Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 5, p. 216-218. 2008.

TRIGLIA, R. M.; METZE, K.; ZEFERINO, L. C.; ANDRADE, L. A. L. A. HPV in situ hybridization signal patterns as a marker for cervical intraepithelial neoplasia progression. **Gynecologic Oncology**, Estados Unidos, v. 112, n. 1, p. 114-118, 2009.

TUBAKI, M. E. **HPV na adolescência aumenta o risco para NIC?** In: PEREYRA, E. A. G.; MARTINS, N. V. (Org.). Atualização em patologia do trato genital inferior. 1 ed. São Paulo: Sterchele, 2001, p. 55-62.

TUBAKI, M. E. Evento sobre oncologia em ginecologia e mastologia. **Instituto Fleury/HC - FMUSP**, v. 5, n. 3, p.18, 2004.

TULIO, S.; PEREIRA, L. A.; NEVES, F. B.; PINTO, A. P. Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico citológico de lesões de alto grau. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 1, p. 2-11. 2007.

TUON, F. F. B.; BITTENCOURT, M. S.; PANICHI, M. A.; PINTO, A. P. Avaliação da sensibilidade e especificidade dos exames citopatológico e colposcópico em relação ao exame histológico na identificação de lesões intra-epiteliais cervicais. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 140-4. 2002.

VEIGA, F. R.; RUSSOMANO, F.; CAMARGO, M. J.; MONTEIRO, A. C. S.; REIS, A.; TRISTÃO, M. A. Prevalência das Lesões intra-epiteliais de Alto-grau em pacientes com citologia com diagnóstico persistente de ASCUS. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 2, p. 75-80. 2006.

VICARIO, M. I. H.; BARCA, G. C. Virus del papilloma humano y adolescencia. **Boletín de la sociedad de pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León**, v. 47, p. 213-218, 2007.

VIEIRA, G. S.; PARREIRA, K. S.; BONETTI, A. M.; INÁCIO, J.; GOULART, L. R. Avanços Moleculares na Detecção e Tipagem do Papilomavirus Humano. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, 2001.

VIEIRA, M.A.S.; GUIMARÃES, E. M. B.; BARBOSA, M. A.; TURCHI, M. D.; ALVES, M. F. C.; SEIXAS, M. S. C.; GARCIA, M. M. D.; MINAMISAVA, R. Fatores associados ao uso de preservativo em adolescentes do gênero feminino no município de Goiânia. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 16, p. 77-83, 2004.

WIDDICE, L.; A. MOSCICKI. Updated guidelines for papanicolaou tests, colposcopy, and human papillomavirus testing in adolescents. *The Journal of Adolescent Health*, Estados Unidos, v. 43, n. 4, p. 41-51, 2008.

WORDL HEALTH ORGANIZATION. World Cancer Research Fund. Food, nutrition and prevention of cancer: A global perspective. Washington: American Institute for Cancer Research, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION . **The World Health Report 1998**: Life in the 21st century a vision for all. Geneva: WHO. p. 61-111, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **National cancer control programs**: Policies and managerial guidelines. 2nd ed. Geneva: WHO. 2002.

WRIGHT JUNIOR, T. C.; MASSAD, L. S.; DUNTON, C. J.; SPITZER, M.; WILKINSON, E. J.; SOLOMON, D. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Estados Unidos, v. 197, n. 4, p. 246-255, 2007.

ZAMPIROLO, J. A.; MERLIN, J. C.; MENEZES, M. E. Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Híbrida II) em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 265-268, 2007.

ZEFERINO, L. C.; BEDONE, A. J.; OYAKAWA, N. Duração da neoplasia intra-epitelial e do carcinoma invasor do colo uterino: estudo epidemiológico. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 10, p. 565-569, 1998.

ZEFERINO, L. C. O desafio de reduzir a mortalidade por câncer do colo do útero. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 5, p. 213-215, 2008.

ZUR-HAUSEN, H. Human Papillomavirus. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 48, p. 427-447, 1994.

ZUR-HAUSEN, H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. **Virology**. v. 384, n. 2, p. 260-265, 2009.

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está convidada a participar, como voluntária desta pesquisa, a qual tem a finalidade de relacionar a prevenção da mulher com suspeita do câncer do colo do útero em adolescentes de uma escola pública em São Luís-MA. No caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e a qualquer momento, você poderá retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com a pesquisadora ou com a Escola. Você receberá uma cópia deste termo onde constam os telefones e endereços dos pesquisadores, podendo tirar suas dúvidas sobre a pesquisa a qualquer momento. Sendo assim eu, Elionôra de Jesus Carneiro Jansen de Mello e a Profa. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento (orientadora) resolvemos escrever um projeto de pesquisa tendo como objetivo de encontrar os casos suspeitos e com câncer do colo uterino em adolescentes. Sua participação é importante e nos ajudará aprofundar nossos conhecimentos na prevenção do câncer na adolescência. Não há riscos e o desconforto será mínimo permitindo a utilização de aparelhos ginecológicos esterilizados, descartáveis e adequados para adolescentes. Será realizada uma entrevista para caracterizar a suspeita e do câncer do colo do útero e infecções. Nós poderemos oferecer a você mais informações sobre o câncer do colo do útero e tirar quaisquer dúvidas. Os resultados da pesquisa serão informados aos familiares de cada adolescente a fim de orientar o diagnóstico precoce. Não haverá nenhum gasto com sua participação e também não receberá nenhum pagamento. Garantimos que suas informações pessoais tais como nome e identidade não serão divulgados. Os dados serão colocados em pesquisas científicas, mantendo-se o sigilo, buscando dessa forma uma melhoria na qualidade de sua vida. Se você se encontra suficientemente esclarecido (a) e concorda em participar da pesquisa, assine abaixo

São Luís / de 2009

---

**NOME E ASSINATURA DO SUJEITO RESPONSÁVEL** (menor de 18 anos):

RG: \_\_\_\_\_ SSP UF \_\_\_\_\_

---

(Nome por extenso)

(Assinatura)

---

**Assinatura do Pesquisador Responsável**

**PARA QUAISQUER INFORMAÇÕES, POR FAVOR, DIRIGIR-SE AOS SEGUINTE ENDEREÇOS:**

**MÉDICA:** PROF.<sup>a</sup>. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

**ENDEREÇO:** Rua Duque Bacelar, Qd-33, nº 41, Quintas do Calhau

CEP 65067510 São Luís -MA

**TELEFONE:** (98) 81472745

**ALUNA:** Elionôra de Jesus Carneiro Jansen de Mello

**ENDEREÇO:** Rua da Engenharia Qd. 13 casa 22 COHAFUMA

CEP 65070-170

**TELEFONE:** (98) 32463250 / 32311549

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:**

**ENDEREÇO:** Rua Barão de Itapary , 27 São Luis -.Ma 0, 4º andar. Hospital Universitário Presidente Dutra, CEP 65020 070

**TELEFONE :** (098) 2109 1223

**COORDENADOR DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:**

Prof. Dr. Wildoberto Batista Gurgel

HUUFMA – Unidade Presidente Dutra

Rua Barão de Itapary s/n Centro – São Luís-MA

Fone (098) 2109 1223

## APÊNDICE B – Ficha Protocolo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL-MESTRADO  
ACADÊMICO

### **FICHA PROTOCOLO**

PROJETO: Papilomavírus Humano (HPV) em Adolescentes de uma escola Pública, São Luís-MA, Brasil.

### **DADOS DE IDENTIFICAÇÃO**

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

Endereço atual: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_

Endereço anterior: \_\_\_\_\_

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

Idade: \_\_\_\_\_ Ocupação: \_\_\_\_\_ Grau de instrução: \_\_\_\_\_

Procedência: \_\_\_\_\_

A rural                      B urbano.....

### **ANTECEDENTES PESSOAIS**

1- Sexarca

A 12 a 15 anos

B 16 a 19 anos.....

2- N° de parceiro

A único

B além de dois.....

3- Frequência de relações sexuais

A 01/semana

B duas ou mais/semana

4- DSTs

A sim

B não.....

5- Gestação

A 01

B 02 ou mais

6 - Idade da 1° gestação

A 12 a 15 anos

B 16 a 19 anos

**7- CONTRACEPTIVOS**

A sim B não

**8- PARTOS**

A eutócicos B Cesáreos

**9- ABORTAMENTO**

A sim B não

**10- CURETAGEM**

A sim B não

**11- TABAGISMO**

A sim B não

**12- INGESTA DE BEBIDA ALCOÓLICA**

A sim B não

**13- Prurido**

A sim B não

**14- Leucorréia**

A sim B não

**15- Ardência**

A sim B não

**16- Dispareunia**

A sim B não

**17- Sinusorragia**

A sim B não

**18- OCORRÊNCIA DE NEOPLASIA INTRAEPITELIAL**

A sim B não

**ANTECEDENTES FAMILIARES****19- TIREOIDOPATIAS**

A sim B não

**20- DIABETES**

A sim B não

**21- NEOPLASIAS**

A sim B não

**AValiação GINECOLÓGICA:****22- LESÕES VULVARES**

A sim B não



## APÊNDICE C – Artigo científico submetido à Revista Virology

---

### **Papilomavírus Humano de alto risco e coexistência com outros tipos na cérvix uterina de adolescentes da escola pública em São Luís-Maranhão, Nordeste do Brasil.**

---

**Elionôra de Jesus Carneiro Jansen de Mello<sup>1</sup>, Dulcelena Ferreira Silva<sup>2</sup> Luciane Maria Oliveira Brito<sup>3</sup>, Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>*Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal do Maranhão.*

<sup>2</sup>*Departamento de Morfologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão. Doutoranda do DINTER UERJ/Universidade Federal do Maranhão.*

<sup>3</sup>*Departamento de Medicina III, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão. Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal do Maranhão.*

<sup>4</sup>*Departamento de Patologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão. Programa de Pós-graduação em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal do Maranhão.*

### **RESUMO**

Tendo em vista a elevada frequência da infecção viral pelo HPV e o seu poder carcinogênico, tem sido desenvolvido pesquisas em biologia molecular para a melhoria do diagnóstico. Propõe-se diagnosticar, pela genotipagem com PCR-Nested, a frequência dos tipos de HPV de alto, intermediário e baixo risco oncogênicos, relacionados à infecção da cérvix uterina em adolescentes de uma escola pública. Foi realizado um estudo transversal, observacional e descritivo com 39 adolescentes entre 15 a 19 anos cursando o ensino médio, no período de julho/2008 a junho/2009. Levantaram-se os dados sócio-demográficos e comportamento sexual, por meio de um questionário. Os exames utilizados foram: genotipagem por PCR-Nested, citopatologia, colposcopia e colpobiópsia. O critério de inclusão compreendeu atividade sexual e foram excluídas as adolescentes que não tiveram atividade sexual, positividade para HIV e/ou gravidez. Os dados foram avaliados e transferidos para um banco de dados informatizado nos softwares Excel/Office 2007 e Epi-Info versão 6.04, utilizando-se intervalo de confiança de 95%. Os dados demográficos mostraram que a maioria das adolescentes tinha entre 15 e 17 anos, era de origem urbana e estudantes em tempo integral. A sexarca da maioria ocorreu antes dos 16 anos, praticamente a metade diz ter parceiro único; não usar contraceptivos orais; três delas tiveram abortos; e a maior parte consome alcoólica. Os resultados dos exames citopatológicos foram inflamatórios em 37 adolescentes; com um de LSIL/HPV. A biópsia foi realizada em 15 (38,4%) alunas; tendo sete apresentado colócitos e alteração sugestiva de HPV (46,6%). A genotipagem por PCR-Nested foi positiva

em 29 (74,3%) alunas e negativa em 10 (25,6%). Os subtipos mais frequentes de alto risco em 21 (72,4%) adolescentes, foram: 66 (24,1%); 31, 51 e 59 (17,2%); 39 e 56 (13,7%); 35 e 82 (6,8%); 16, 18, 52 e 68 (3,4%). Este método de biologia molecular detectou nas adolescentes estudadas os tipos de alto risco 16/18/31/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68/82; sendo que os mais frequentes foram 31/35/39/51/56/59/66/82, destacando-se o tipo 66 na região. Ressalta-se, ainda, que os tipos 16 e 18 foram os menos frequentes.

**Palavras-chave:** Infecções por Papilomavirus. Reação em Cadeia da Polimerase. Saúde do Adolescente. Educação Sexual.

### ABSTRACT

Given the high frequency of viral infection by HPV and its power carcinogen, molecular biology research has been developed to improve diagnosis. It is proposed to diagnose, by genotyping with Nested PCR, the frequency of HPV types of high, intermediate and low oncogenic risk related to uterine cervix infection in adolescents of a public school. We conducted a cross-sectional, observational and descriptive with 39 female adolescents aged 15 to 19 years, at high school, from July 2008 to June 2009. Data were collected on demographic and sexual behavior by means of a questionnaire. The tests used were genotyping by Nested PCR, cytology, colposcopy and cervical biopsy. The inclusion criteria were sexual activity and were excluded adolescents who had sexual activity, positivity to HIV and/or pregnancy. Data were evaluated and transferred to computer database using the software Excel / Office 2007 and Epi-Info version 6.04. Demographic data showed that most adolescents were between 15 and 17 years, lived in urban area and were full-time students. Most of their first sexual intercourse occurred before age 16, almost half said to have only one partner, not to use oral contraceptives, three of them had abortions, and the most drank alcohol. The results of cervical screening were inflammatory in 37 adolescents, with one of LSIL / HPV. Biopsy was performed in 15 (38.4%) students, and seven presented koilocytes and abnormalities HPV suggestive (46.6%). Genotyping by Nested PCR was positive in 29 (74.3%) students and negative in 10 (25.6%). The most common subtypes of high risk in 21 (72.4%) adolescents were: 66 (24.1%), 31, 51 and 59 (17.2%), 39 and 56 (13.7%), 35 and 82 (6.8%), 16, 18, 52 and 68 (3.4%). This method of molecular biology found, in adolescents studied, the high risk types 16/18/31/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68/82, and the most common were 31 /

35/39/51/56/59/66/82, especially type 66 in this geographic region. It should be noted also that types 16 and 18 were the least frequent.

**Keywords:** Papillomavirus Infections. Polymerase Chain Reaction. Adolescent Health. Sex Education.

## **Introdução**

A história natural da infecção viral do HPV é afetada pela coexistência de outros tipos de cargas virais. A infecção múltipla pelo papilomavírus humano (HPV) é comum na população feminina.<sup>1</sup>

Os tipos de HPV estão agrupados de acordo com a sequência de DNA e são filogeneticamente classificados em espécies. A maioria dos HPVs oncogênicos está compreendida entre A9 e A7, os quais são representados respectivamente pelo HPV 16 e 18<sup>2,3</sup>.

O HPV 16 e 18 têm sido detectados em mulheres com e sem co-infecção com outros tipos virais, participando de Lesões Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (ASCUS) e Lesões Intraepiteliais de Baixo Grau (LSIL)<sup>1</sup>.

Aproximadamente um milhão e meio de mulheres estão infectadas pelo HPV e são diagnosticadas com lesões de baixo grau nos Estados Unidos<sup>4</sup>, contudo, estes genótipos constituem a proposta de vacinação que reduzirá os achados anormais a nível cervical<sup>5</sup>.

Na África e ainda na América Latina há maior prevalência de HPV de alto risco, oncogênicos, cujos tipos são 16, 18, 31, 35, 45, 51, 52, 58 e 59. O HPV 16 é o mais frequente no mundo, exceto na Indonésia e Argélia, onde o HPV 18 é o mais comum, já o HPV 45 apresenta alta frequência na África Ocidental. Os tipos 33, 39 e 59 se concentram na América Central e América do Sul<sup>6</sup>.

A distribuição dos genótipos de HPV no Brasil tem sido aventada, a exemplo da recente informação de Paesi et al.<sup>7</sup> que mostraram alta prevalência do tipo de HPV 58 em pacientes com lesões pré-malignas do colo do útero em mulheres do sul do país. Esta pesquisa no Rio Grande do Sul identificou 51,2% da positividade de DNA do HPV, compreendendo a maior prevalência dos genótipos dos tipos 16 (34,7%), 58 (13,8%), 33 (9,72%), 11 (8,33%) e 18 (5,55), além de outros.

Os métodos moleculares são mais efetivos para detecção de HPV clínico, subclínico ou a forma latente da doença viral afetando a mulher. A Reação de Cadeia de Polimerase (PCR) é o mais sensível método de estudo da infecção por HPV. A amplificação de fragmento de DNA complementa a especificidade do PCR, bem como a detecção de infecção múltipla<sup>2,8</sup>.

Cem mil novos casos são estimados para 2008 no Brasil<sup>9</sup>. Em Goiânia, segundo Rabelo-Santos houve predominância do HPV 16 que pode mostrar-se associado a outros tipos<sup>10</sup>.

A estimativa para o Maranhão para 2008, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) é que ocorreriam 630 novos casos de câncer de colo do útero, com taxa de 19,67% casos para cada 100 mil mulheres<sup>9</sup>.

O HPV está associado às lesões intraepiteliais escamosas e ao câncer cervical. O grupo de baixo risco para a oncogênese são os tipos 6, 11, 26, 42, 44, 54, 70 e 73, que produzem o aparecimento de verrugas comuns, condiloma acuminado na região anogenital. O grupo de alto risco inclui os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 55, 56, 58, 59, 66 e 68, estão associados com o desenvolvimento do carcinoma acidental<sup>11</sup>.

A infecção pelo HPV está associada a outros fatores de risco na carcinogênese cervical, que compreende sexarca precoce, multiplicidade de parceiros, multiparidade, ser jovem, hábito de fumar, baixo nível socioeconômico, anticoncepcional oral, deficiências nutricionais, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e outras infecções genitais sexualmente transmissíveis<sup>12</sup>.

O objetivo deste estudo é diagnosticar, pela genotipagem com PCR-Nested, a frequência dos subtipos de HPV de alto, intermediário e baixo risco, relacionados à infecção da cérvix uterina em adolescentes da escola pública.

## **Materiais e Métodos**

Em um contingente de 350 alunas, foram recrutadas as que se sensibilizaram em participar e preencheram os critérios de inclusão para pesquisa de infecção por HPV em uma escola pública estadual, Centro Integrado do Rio Anil (CINTRA), localizada na área urbana de São Luís, capital do Estado do Maranhão. Obteve-se uma amostra de 39 (trinta e nove) adolescentes, na faixa etária de 15 a 19 anos, no período de julho de 2008 a junho de 2009.

O tamanho da amostra contingenciada compreendeu as variáveis que descrevem as categorias em que as participantes da pesquisa se enquadravam.

Consideraram-se como critérios de inclusão, adolescentes com atividade sexual, idade entre 15 e 19 anos, estudantes de nível médio, que espontaneamente escolheram participar da pesquisa.

Após o recebimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, utilizou-se um questionário com itens relacionados aos dados sócio-demográficos, acrescidos de informações sobre a saúde sexual.

Anamnese, exame ginecológico, coleta da secreção para genotipagem por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)-Nested, foram realizadas. Em seguida, realizou-se a colposcopia, seguida de colpobiópsia para os casos com indicação. Todas as adolescentes foram aconselhadas a submeter-se ao exame sorológico anti-HIV.

Técnica de biologia molecular pela PCR – Nested, foi realizada, sendo o material coletado da região cérvicovaginal através de escovado, utilizando kits específicos fornecidos pelo Laboratório BioGenetics Tecnologia Molecular Ltda, sendo obedecidas as instruções do fornecedor para fins de detecção e genotipagem dos tipos de HPV através da análise de DNA, bem como a determinação dos subtipos do vírus nas adolescentes. O material foi retirado das 39 alunas, como mencionado anteriormente e armazenado em 1 mL de tampão de lise nuclear (TLN); colocado em geladeira a uma temperatura entre 4° a 7 °C até seu processamento<sup>2,8</sup>.

As reações de PCR foram acondicionadas com o apoio concedido pelo Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão e realizadas no Laboratório BioGenetics Tecnologia Molecular Ltda de Uberlândia, Minas Gerais.

A extração do DNA foi realizada por meio das amostras cérvicovaginais coletadas das 39 alunas, seguindo as instruções do fornecedor e amplificado com primers degenerados MY09 e MY11, seguido por uma reamplificação com *primers* HPV- específicos, combinados em 08 (oito) reações de PCR – multiplex, cada qual contendo 05 (cinco) pares de *primers* para genotipagem de 05 (cinco) subtipos de HPV<sup>8</sup>.

#### Análise estatística

A frequência dos genótipos do HPV de alto risco e a coexistência com outros tipos na cérvix de adolescentes foram expressos percentualmente, de acordo com os níveis de significância estatística de 95%.

## Resultados

Os dados demográficos apresentados na Tabela 1 mostram que a maioria das adolescentes estudadas tinha de 15 a 17 anos era de procedência urbana e estudantes em tempo integral, cor branca e escolaridade entre 12 e 14 anos.

**Tabela 1** - Dados demográficos das adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

Idade	Nº	Cor	Nº	Profissão	Nº	Procedência	Nº
15	10	Branca	21	Só estudante	35	Urbana	33
16	9	Preta	8	Estudante + outra	4	Rural	6
17	13	Parda	10				
18	5						
19	2						
<b>Total</b>	<b>39</b>		<b>39</b>		<b>39</b>		<b>39</b>

O exercício da sexualidade comparativamente com a infecção pelo HPV detectado na reação de PCR - Nested nas adolescentes estudadas mostrou que a idade da sexarca ( $p=0,02809$ ), ocorreu predominantemente em menores de 16 anos, (20; 51,28%), as quais informaram ter uma relação por semana (15; 38,46%), ( $p=0,4936$ ). As adolescentes estudadas, em a maioria, não fumava, mas consumia bebidas alcoólicas, de forma eventual, como mostra a Tabela 2.

**Tabela 2** - Correlação entre saúde sexual e PCR - Nested em adolescentes de uma escola pública de São Luís-MA. Julho de 2008 a junho de 2009.

Características	PCR-NESTED		P
	Positiva	Negativa	
<b>Idade na sexarca</b>			
De 12 a 15	20	5	0,2809
De 16 a 19	9	5	
<b>Nº de parceiros</b>			
Único	12	8	0,0822
2 a 3	14	1	
4 ou mais	3	1	
<b>Contraceptivos</b>			
Não	23	7	0,6915
Sim	5	2	
Não informa	1	1	
<b>Relações sexuais por semana</b>			
1	15	3	0,4936
2 a 4	12	6	
5 ou mais	2	1	
<b>DST</b>			
Não	23	9	0,7040
Sim	1	0	
Não informa	5	1	
<b>Alcoolismo</b>			
Sim	18	7	0,6521
Não	11	3	
<b>Tabagismo</b>			
Sim	4	1	0,4936
Não	23	7	
Não informa	2	2	

As adolescentes estudadas sete (7) como mostra a Tabela 3, estavam predominantemente, infectadas pelos tipos de HPV de alto risco (31/39/52/58/59/66/68), seguindo-se do tipo intermediário (6/11/42/44/57) e baixo risco, além de outras 7 (sete) adolescentes apresentando alto e baixo risco, como também 6 (seis) destas estudantes com positividade somente para os tipos de alto risco (31/35/51/56/59/66/82).

Verifica-se ainda na Tabela 3 o predomínio de infecção múltipla por vírus do HPV. O genótipo 66 foi detectado predominantemente associado a infecções múltiplas, sendo que apenas uma adolescente (3,5%) foi identificada com este genótipo 66, isoladamente (infecção simples).

**Tabela 3** - Distribuição da genotipagem por PCR-Nested para HPV de acordo com os subtipos de adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís – MA.

Genotipagem por PCR para HPV				
Alto risco	Risco Intermediário	Baixo risco	Nº de adolescentes	%
31/39/52/58/59/66/68	6/11/42/44/57	MM8/26/34/53/55/61/62	7	24,1
Negativo	6	MM8/26/54/55	3	10,3
16/18/31/35/39/45/51/56/59/66/82	Negativo	MM7/MM8/26/54/55/61/67/70/71/81	7	24,1
66	42	Negativo	1	3,5
Negativo	Negativo	MM7/54/61/69/70	3	10,3
Negativo	6/42	Negativo	2	7,0
31/35/51/56/59/66/82	Negativo	Negativo	6	20,7
<b>Total</b>			<b>29</b>	<b>100,0</b>

A positividade em 29 adolescentes (74,3%) apresentou predominância para alto risco em 21 (72,4%), seguida da de baixo risco em 20 (69,0%) e risco intermediário em 13 (44,8%), conforme a Tabela 4.

A genotipagem por PCR-Nested foi positiva para infecção simples em 6 (seis) adolescentes (20,7%) e para infecção múltipla em 23 (vinte e três) adolescentes (79,3%), demonstrada na Tabela 4.

Observa-se a diversidade de associações dos genótipos de HPV de alto risco, havendo predominância os genótipos: 66 (alto risco), 42 (intermediário), seguindo-se 26 (baixo risco) e 31, 39, 51 (alto risco), além de outros.

**Tabela 4** - Distribuição dos tipos de HPV para infecção simples e múltipla em adolescentes de uma escola pública. Julho de 2008 a junho de 2009. São Luís-MA.

<b>Tipos de HPV</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
11; 16; 18; 34; 44; 45; 52; 57; 58; 62; 67; 68; 69; 71	1	3,4
35; 53; 70; 82; MM7	2	7,0
55; 81; MM8	3	10,3
39; 42; 56	4	13,8
26; 31; 51; 54; 59; 61	5	17,3
6; 66	7	24,1
<b>Infecção Simples</b>		
6	1	3,4
31	2	6,9
66	1	3,4
70	1	3,4
82	1	3,4
<b>Infecção Múltipla/Vírus Coexistentes</b>		
39; 52; 59; 11; 61; 62	1	3,4
54; 61	1	3,4
69; MM7	1	3,4
MM7; 26; 71; 81; 18; 39; 59	1	3,4
54; 06	1	3,4
54; 61; 81; 16	1	3,4
06; 31; 39; 61	1	3,4
06; 55; MM8	1	3,4
06; 26	1	3,4
31; 35; 54; 55; 70; MM8	1	3,4
06; 26; 59; MM8	1	3,4
42; 53; 66	1	3,4
06; 42	1	3,4
51; 53; 66	1	3,4
42; 66	1	3,4
45; 51; 56; 81; 82	1	3,4
51; 56	1	3,4
67; 51; 56; 66	1	3,4
34; 55; 57; 66	1	3,4
51; 54	1	3,4
35; 59; 66	1	3,4
26; 39; 44; 61; 68	1	3,4
26; 42; 31; 58; 59	1	3,4

\*Comparação de coexistência dos tipos de HPV, obtidos por Xi et al. (2009), particularmente, aqueles da mesma amostra de esfregaço por PC

A infecção por HPV em adolescentes apresentou genotipagem com positividade para PCR–Nested para HPV, havendo para o tipo de alto risco 66 e infecções coexistentes (múltipla viral).

## Discussão

A distribuição dos genótipos de HPV 16 e sua relação com lesões de baixo grau tem mostrado associação com as lesões (LSIL), que, segundo Clifford et al<sup>13</sup>, a evolução para a malignidade pode ocorrer mediante características de diferenças regionais.

A sexarca das adolescentes estudadas evidencia que 25 (64,1%) delas, apresentaram seu primeiro intercuro sexual abaixo dos 16 anos, em concordância com o estudo de Barros e Rocha<sup>14</sup>, que demonstrou 18 % das adolescentes apresentando início da atividade sexual no intervalo de 16 a 19 anos.

No que diz respeito ao número de parceiros, 20 (51,3%) adolescentes revelaram ter parceiro único, demonstrando com prioridade o relacionamento monogâmico. Estes dados estão de acordo com Barros e Rocha<sup>14</sup>, que questiona a tendência dos parceiros masculinos terem múltiplas parceiras, fato desconhecido pelas mesmas, levando ao risco de adquirir a infecção pelo HPV e outras DSTs.

As infecções múltiplas por HPV são muito comuns, contudo ainda não se conhece, largamente, a coexistência de outros tipos deste vírus, caracterizados como co-infecção. Analisando o estudo de Sousa, Pinheiro, Barroso<sup>15</sup> com 40 pacientes, os quais detectaram através da genotipagem por PCR-Nested 75% (n=30) de positividade para HPV, sendo 83,3% (n=25) infecções múltiplas e 16,7% (n=5) de infecções simples. A investigação realizada nas adolescentes de uma escola de São Luís-MA foi assim ratificada, pois mostrou a positividade para HPV em 74,3% (n=29) das 39 estudadas, e infecções múltiplas em 23 (79,3%) adolescentes e infecções simples em seis (20,7%) adolescentes.

Sousa, Pinheiro, Barroso<sup>15</sup>, também em sua pesquisa encontrou 12 subtipos de alto risco (16, 31, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73); com predomínio dos subtipos 16, 39, 73, concordando com este estudo em que as adolescentes apresentaram 14 subtipos de alto risco: 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 e 82 com predomínio HPV 66 (n=7; 24,1%); seguindo-se dos tipos 31, 51 e 59 (n=5; 17,2%), além de 39 e 56 (n=4; 13,7%).

Quanto aos tipos de riscos intermediários, foram encontrados cinco (6,11,42,44,57) com predomínio do tipo 6 (n=7; 24,1%) e 42 (n=4; 13,7%). Em relação aos de baixo risco foram encontrados 14 tipos (MM7, MM8, 26, 34, 53, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71 e 81) com predomínio do tipo 26, 54, e 61. Estes dados concordam com Clifford et al<sup>11</sup>, que demonstraram as diferenças regionais de relativa importância do tipo do HPV nas lesões de baixo risco, que podem evoluir para a malignização. Widdice e Moscicki<sup>16</sup> identificaram,

também, que 50% das adolescentes e mulheres jovens nos Estados Unidos após a sexarca adquirem infecção por HPV dentro de três anos, resultando numa alta taxa de prevalência, levando a um problema de saúde pública nesse país.

Nesta pesquisa a maioria das adolescentes apresentou genotipagem com positividade pelo método PCR – Nested para HPV, havendo predomínio para alto risco do tipo 66, para risco intermediário do tipo 6 e infecção múltipla viral, concordando com Xi, Edelstein, Meyers, Ho, Cherne e Schiffman<sup>1,17</sup>, que alertam a importância deste aspecto, inclusive pela coexistência de outros tipos.

Os dados obtidos neste estudo mostram que a genotipagem por PCR para HPV envolveu os tipos de alto risco 16/18/31/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68/82; sendo que os mais frequentes foram 66/31/51/59/39/56/35/82 e os tipos 16 e 18 foram menos frequentes. A co-infecção com os tipos 16, 31, 35, 52 e 58 está de acordo com as experiências de Xi, Edelstein, Meyers, Ho, Cherne e Schiffman<sup>1</sup>, estudando a coexistência de HPV, com a espécie A9 (HPV16) e A7 (HPV18).

A técnica de PCR-Nested é eficiente para detectar a infecção viral identificando os tipos, fornecendo informações diagnósticas, como infecção simples e múltipla, possibilitando terapia e conduta mais segura.

### **Agradecimentos**

Ao Centro Integrado do Rio Anil (CINTRA), escola pública estadual, localizada na área urbana de São Luís, capital do Estado do Maranhão e ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil da Universidade Federal do Maranhão, que viabilizou esta pesquisa.

### **Referências**

1. Xi LF, Edelstein ZR, Meyers C, Ho J, Cherne SL, Schiffman M. Human Papillomavirus Types 16 and 18 DNA Load in Relation to Coexistence of Other Types, Particularly Those in the Same Species. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Aug; 18(9):1-6. Available from URL:
2. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324:17–27.

3. Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005;32(Suppl 1):1–6.
4. Zur-Hausen H. Papillomaviruses causing cancer evasion from host-cell control in early events in carcinogeneses. *J. Natl Cancer Inst.* 2000; 92: 690-8.
5. Wheeler CM. The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV; types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in sexually active women aged 16-26 years. *J Infect Dis.* 2009 Apr 1; 199 (7): 936-44.
6. Queiroz AMA, Cano MAT, Zaia JE. O papilomavírus humano (HPV) em mulheres atendidas pelo SUS, na cidade de Patos de Minas – MG. *Rev Bras Anal Clin* 2007; 39(2):151-7.
7. Paesi S, Serafini EP, Barea, F, Madi, SRC, Echeverrgaray, S. High prevalence of human papillomavirus type 58 in patients with cervical pre-malignant lesions in Southern Brazil. *J Med Virol.* 2009;81:1270-5.
8. Iftner T, Villa LL. Chapter 12: human papillomavirus technologies. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003:80–8.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Estimativas 2008: Incidência de Câncer no Brasil. INCA: Rio de Janeiro, 2007
10. Rabelo-Santos, SH, Zeferino L, Villa LL, Sobrinho JP, Amaral RG, Magalhães AV. Human Papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial and invasive cervical câncer from Goiânia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98(2): 181-84.
11. Stival CO, Lazzarotto M, Rodrigues YB, Vargas VRA. Avaliação comparativa da citopatologia positiva, colposcopia e histopatologia: destacando a citopatologia como método de rastreamento do câncer do colo do útero. *Rev Bras Anal Clin* 2005; 37(4): 215-18.
12. Nonnenmacher B et al. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. *Rev Saúde Pública* 2002; 36(1): 95-100.
13. Clifford GM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gough G, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2005;14:1157–64.
14. Sousa LB, Pinheiro, AKB. Barroso, MGT. Ser mulher portadora do HPV: uma abordagem cultural. *Rev Esc Enfermagem USP* 2008; 42(4): 737-43.
15. Barros LDF, Rocha, JES. Infecção genital pelo papilomavírus humano (HPV) em adolescentes: diagnóstico biomolecular. *Rev Bras Ginecol Obst* 2006 28(11): 685-7

16. Widdice L, Moscicki, AB. Updated guidelines for papanicolaou tests, colposcopy, and human papillomavirus testing in adolescents. *J Adolesc Health* 2008 Oct; 43 (4 Suppl): S41-51.
17. SCHIFFMAN, M.; HERRERO, R.; DESALLE, R.; HILDESHEIM, A.; WACHOLDER, S.; RODRIGUEZ, A. C.; BRATTI, M. C.; SHERMAN, M. E.; MORALES, J.; GUILLEN, D.; ALFARO, M.; HUTCHINSON, M.; WRIGHT, T. C.; SOLOMON, D.; CHEN, Z.; SCHUSSLER, J.; CASTLE, P. E.; BURK, R. D. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. Estados Unidos, *Virology*, v. 337, n. 1, p. 76-84, 2005.

## ANEXO A – Requisição de exame citopatológico colo do útero

 <b>MINISTÉRIO DA SAÚDE</b>		<b>REQUISIÇÃO DE EXAME CITOPATOLÓGICO - COLO DO ÚTERO</b> <i>Viva Mulher - Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e de Mama</i>	
UF	CNES da Unidade de Saúde		
Unidade de Saúde			
Município		Prontuário	
INFORMAÇÕES PESSOAIS			
Nome Completo da Mulher			
Nome Completo da Mãe			
Identidade		Apelido da Mulher	CNPJ (CPF)
Data de Nascimento		Idade	Cartão SUS
Dados Residenciais			
Logradouro			
Número	Complemento		UF
Município		Bairro	
CEP	DDD	Telefone	
Ponto de Referência			
ESCOLARIDADE: <input type="checkbox"/> Analfabeto <input type="checkbox"/> 1º Grau Incompleto <input type="checkbox"/> 1º Grau Completo <input type="checkbox"/> 2º Grau Completo <input type="checkbox"/> 3º Grau Completo			
DADOS DA ANAMNESE			
1. Fez o exame preventivo (Papanicolaou) alguma vez? <input type="checkbox"/> Sim. Quando fez o último exame? ano _____ <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe		6. Já fez tratamento por radioterapia? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe	
2. Usa DIU? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe		7. Data da última menstruação / regra: _____ / _____ / _____ <input type="checkbox"/> Não sabe / Não lembra	
3. Está grávida? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe		8. Tem ou teve algum sangramento após relações sexuais? (não considerar a primeira relação sexual na vida) <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não / Não sabe / Não lembra	
4. Usa pílula anticoncepcional? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe		9. Tem ou teve algum sangramento após a menopausa? (não considerar o(s) sangramento(s) na vigência de reposição hormonal) <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não / Não sabe / Não lembra / Não está na menopausa	
5. Usa hormônio / remédio para tratar a menopausa? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não sabe			
EXAME CLÍNICO			
10. Inspeção do colo <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Ausente (anomalias congênitas ou retirado cirurgicamente) <input type="checkbox"/> Alterado <input type="checkbox"/> Colo não visualizado		11. Sinais sugestivos de doenças sexualmente transmissíveis? <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Data da coleta		Coletor	
_____ / _____ / _____		_____	

ATENÇÃO: Não serão processados os exames que não tiverem o nome, idade, endereço e nome da mãe da paciente preenchidos



ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário  
Presidente Dutra



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO  
COMITÊ ÉTICA EM PESQUISA**

**PARECER CONSUBSTANCIADO**

Parecer Nº.1323/07

Pesquisador (a) Responsável: **Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento**

Equipe executora: **Elionôra de Jesus Carneiro Jansen de Mello**

Tipo de Pesquisa: Tese de mestrado.

Registro do CEP: 329/07 Processo Nº. **33104 - 1323/07**

Instituição onde será desenvolvido: **Colégio Universitário da UFMA**

Grupo: **III**

Situação: **APROVADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão analisou na sessão do dia 15.01.2008 o processo Nº.33104-1323/07, referente ao projeto de pesquisa: “**correlação colpo-histológica das lesões precursoras de câncer do colo uterino em adolescentes de uma escola pública, São Luis-Ma, Brasil**”, tendo como pesquisadora responsável **Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento**, cujo objetivo é “**correlacionar a colpo-cito-histologia das lesões precursoras de câncer em 411 adolescentes em uma escola pública de São Lis-Ma.**”. (somente se houve pendências anteriores acrescentar) Tendo apresentado pendências na época de sua primeira avaliação, veio em tempo hábil supri-las adequada e satisfatoriamente de acordo com as exigências das Resoluções que regem esse Comitê.

Assim, mediante a importância social e científica que o projeto apresenta, a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Solicita-se à pesquisadora o envio a este CEP, de relatórios parciais sempre quando houver alguma alteração no projeto, bem como o relatório final gravado em CD-ROM.

**Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão**

Rua Barão de Itapary, 227 Centro C.E.P. 65. 020-070 São Luís – Maranhão Tel: (98) 3219-1223

E-mail huufma@huufma.br

ADM-14

  
Wilber Roberto Batista Gurgel  
FILOSÓFO  
CEP-HU-UFMA