

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCIANE TUCHOLSKI

**DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS E LESÕES INTRAEPITELIAIS
CERVICAIS NA PENITENCIÁRIA FEMININA SANT'ANA, SÃO PAULO-SP:
FATORES DE RISCO E PRESENÇA DE ALGUNS TIPOS ONCOGÊNICOS DE
HPV**

CURITIBA

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUCIANE TUCHOLSKI

**DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS E LESÕES INTRAEPITELIAIS
CERVICAIS NA PENITENCIÁRIA FEMININA SANT'ANA, SÃO PAULO-SP:
FATORES DE RISCO E PRESENÇA DE ALGUNS TIPOS ONCOGÊNICOS DE
HPV**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Suely Soares Leonart

Co-orientador: Prof. Dr. Aguinaldo José do Nascimento

CURITIBA

2009

Aos meus pais Augusto e Irene

“De nada adianta ser a luz senão iluminar o caminho dos demais”

Walt Disney

AGRADECIMENTOS

É impossível realizar sem participar. Felizmente, pude contar com a participação de muitos durante a realização deste trabalho, aos quais, expresso meus profundos agradecimentos.

A Deus, por tudo o que criou, por me fazer parte do tudo e ter saúde e discernimento para desfrutar a vida.

À minha orientadora e amiga, Dra. Maria Suely Soares, pela amizade, pelo conhecimento, pelo exemplo, pelo companheirismo e, claro, pelos quilos extras ganhos em nossas noites e madrugadas de trabalho. Em nosso caso de amor e ódio, o amor sempre prevaleceu.

Ao meu orientador, Dr. Aguinaldo José do Nascimento, pela amizade, pelo carinho, pelo apoio, por não permitir que eu esmorecesse, pelo conhecimento científico e de vida, pelos banquetes, pela companhia e, principalmente, pela paciência.

Aos meus pais, Augusto e Irene, pela minha existência, pelo amor incondicional, pelo carinho, pelo apoio, pela compreensão, pelo cuidado incessante e pela eterna torcida.

À minha irmã, Marilda, pelo amor, pela amizade, pelo companheirismo, pelo incentivo e, por ter assumido toda uma carga de trabalho para que hoje eu aqui estivesse.

Ao grande idealizador e colaborador científico deste trabalho, Prof. Marco Antonio Zonta, por acreditar na minha capacidade de realização deste trabalho.

Ao colaborador científico Dr. Antonio Carlos Campos Pignatari, pela disponibilidade e prontidão com que me recebeu.

À ex-secretária da Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR, Regina Montrezol, pelo seu esforço, profissionalismo e constante boa vontade em ajudar.

Aos professores Dr. Geraldo Picheth, Dra. Almeriane Weffort Santos e Dr. Marcio Chimelli, pelos conhecimentos compartilhados, pelo interesse, colaboração e atenção para com este trabalho.

À Dra. Irina Nastassja Riediger, pela prontidão e disposição em realizar os experimentos para o enriquecimento deste trabalho e também à Dra. Sueli Nakatami e ao Dr. Marcelo Pilonetto por abrirem as portas do Laboratório Central de Curitiba, PR (LACEN).

Ao amigo e colaborador Leonardo Mendonça, pelo grande auxílio na realização das coletas para este trabalho; sem sua ajuda, este momento seria inviável.

À toda equipe de trabalho do Laboratório In Cito, pela realização das etapas iniciais deste trabalho e, à Irene Ermelino Santos, amiga e funcionária do Laboratório de Hematologia e Citologia Clínica do Curso de Farmácia da UFPR pela amizade, pela colaboração e pelos bons momentos de conversa.

À Dra. Maria da Penha Risola Dias por permitir a entrada na Penitenciária Feminina de Sant' Ana e a todas as mulheres lá aprisionadas por colaborarem com este trabalho.

À Newprov, na pessoa do Prof. Carlos Augusto Albini, à BioMériux, especialmente representada por Adriana Medeiros e pelo consultor técnico Gabriel, à coordenação do Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas pela estrutura e materiais dispensados para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos e colegas do mestrado, pela agradável companhia durante estes últimos dois anos, em especial, aos meus afilhados Ivanna Grebogi e Carlos Pedroso, as minhas amigas de todas as horas Adélia Grzybowski e Paola Rosa Luz, por aliviarem o fardo e tornarem o mundo da ciência mais descontraído.

A todos os mestres e professores que compartilharam seu conhecimento comigo ao longo de minha vida.

A todos que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho e no meu crescimento pessoal e profissional.

LUCIANE TUCHOLSKI

Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná, Sócia diretora e Técnica Responsável pelo Gutya Laboratório de Citologia Diagnóstica S/S Ltda, atuou como Farmacêutica Responsável na Empresa Trajano e Cia Ltda nos períodos de 30/01/04 – 14/01/05; 02/12/02 – 20/05/03 e como Gerente Farmacêutica Trainee de 02/12/02 – 20/05/03 na empresa Fasamed Ltda, professora e vice-cordenadora do Curso de Especialização em Citologia Clínica do Conselho Regional de Farmácia do Paraná. Especialista em Citologia Clínica pelo Conselho Regional de Farmácia do Paraná em 2005, Graduada em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná em 2002.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	23
2.1 OBJETIVO GERAL.....	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3 REVISÃO DE LITERATURA	26
3.1 EXAME DE PAPANICOLAOU.....	27
3.2 MICRORGANISMOS.....	28
3.2.2 <i>Gardnerella vaginalis/ Mobiluncus sp</i>	28
3.2.3 <i>Trichomonas vaginalis</i>	29
3.2.4 <i>Candida spp</i>	30
3.2.5 <i>Chlamydia sp</i>	30
3.3 PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV).....	31
3.3.1 Tipos de Papilomavírus	32
3.3.2 Infecção por HPV	37
3.3.3 A vacina contra o HPV	40
3.4 EPITÉLIO CÉRVICO-VAGINAL	43
3.4.1 Câncer Cervical – Diagnóstico e Prevenção	43
3.4.2 Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US).....	46
3.4.3 Células escamosas atípicas, não é possível excluir uma lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H).....	47
3.4.4 Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL).....	48
3.4.5 Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL)	50
3.4.6 Carcinoma invasor.....	51
4 MATERIAL E MÉTODOS	52

4.1 MATERIAL	53
4.2 MÉTODOS	53
4.2.1 Reagentes, Material de Consumo e Equipamentos	53
4.2.1.1 Reagentes.....	53
4.2.1.2 Material de consumo.....	54
4.2.1.3 Equipamentos	54
4.2.2 Coleta de amostras.....	54
4.2.3 Aplicação do Instrumento de Avaliação	55
4.2.4 Exames citológicos	55
4.2.5 Análises biomoleculares	57
4.2.5.1 Extração do DNA	57
4.2.5.2 Reação de Amplificação e Detecção dos Ácidos Nucléicos	58
4.2.6 Análise estatística dos resultados.....	59
5 RESULTADOS.....	60
6 DISCUSSÃO	89
7 CONCLUSÕES	107
8 REFERÊNCIAS.....	110

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – COLORAÇÃO DE PAPANICOLOAU ADAPTADA	56
---	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. ORGANIZAÇÃO DO GENOMA DO HPV 16.....	33
FIGURA 2. INTERAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO HPV COM AS PROTEÍNAS DO CICLO CELULAR	35
FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA INFECÇÃO POR HPV	39
FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO DAS VÁRIAS ETAPAS DO DESENVOLVIMENTO NEOPLÁSICO NO COLO UTERINO	45
FIGURA 5. REPRESENTAÇÃO ESPACIAL DAS TAXAS BRUTAS DE INCIDÊNCIA POR 100.000 MULHERES ESTIMADAS PARA O ANO 2010, SEGUNDO A UNIDADE DA FEDERAÇÃO (NEOPLASIA MALIGNA DO COLO DO ÚTERO E DO ÚTERO, PORÇÃO NÃO ESPECIFICADA)	46
FIGURA 6. FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ATÍPICAS DE SIGNIFICADO INDETERMINADO	47
FIGURA 7. FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ATÍPICAS, NÃO É POSSÍVEL EXCLUIR HSIL.....	48
FIGURA 8. FOTOMICROGRAFIA DA MANIFESTAÇÃO CITOMORFOLÓGICA DO HPV COMPATÍVEL COM LSIL – COILÓCITO.....	49
FIGURA 9. ELETROMICROGRAFIA DA REPRESENTAÇÃO CITOLÓGICA DO DIAGNÓSTICO DE HSIL	
FIGURA 10. ELETROMICROGRAFIA DE CARCINOMA INVASOR	51
FIGURA 11. FAIXAS ETÁRIAS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	61
FIGURA 12. RELATO DO ESTADO CIVIL DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	62
FIGURA 13. RELATO DO NÍVEL DE ESCOLARIDADE PELAS DETENTAS DAPENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007 – 2008	62

FIGURA 14. RELATO SOBRE FAIXAS SALARIAIS ANTERIOR À DETENÇÃO, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	63
FIGURA 15. FREQUÊNCIA DO TABAGISMO ENTRE AS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	64
FIGURA 16. RELATO DA IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	65
FIGURA 17. RELATO SOBRE O NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DURANTE A VIDA POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	65
FIGURA 18. OPÇÃO SEXUAL RELATADA POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	66
FIGURA 19. RELATO SOBRE O USO DE PRESERVATIVOS EM RELAÇÕES HETEROSEXUAIS, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	66
FIGURA 20. RELATO SOBRE NÚMERO DE ABORTOS ANTERIORES, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	67
FIGURA 21. RELATO DE INTERCORRÊNCIAS ANTERIORES DE LESÕES OU SINAIS CLÍNICOS DE DST E DE SEUS AGENTES CAUSADORES CONHECIDOS, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	68
FIGURA 22. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NA REALIZAÇÃO DO EXAME DE PAPANICOLAOU NAS AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS RELACIONADOS COM O GRAU DE ESCOLARIDADE DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA	71
FIGURA 23. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO À FAIXA SALARIAL ANTES DO APRISIONAMENTO DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	71

FIGURA 24. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO AO TABAGISMO DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	72
FIGURA 25. FREQUÊNCIA RELATIVA PARA AS ATÍPIAS CELULARES EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL RELATADAS POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	73
FIGURA 26. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL (IAS) DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	74
FIGURA 27. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO AO NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	75
FIGURA 28. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO À OCORRÊNCIA DE ABORTOS RELATADA PELAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	76
FIGURA 29. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO A RELATOS DE INFECÇÃO POR HPV E HIV DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	77
FIGURA 30. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM <i>Gardnerella vaginalis</i> E/OU <i>Mobiluncus spp</i> E <i>Trichomonas vaginalis</i> DETECTADOS PELO EXAME DE PAPANICOLAOU NAS AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS EM RELAÇÃO À PARIDADE DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	79

- FIGURA 31. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *Gardnerella vaginalis* E/OU *Mobiluncus spp* EM ASSOCIAÇÃO COM *Trichomonas vaginalis* DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS EM RELAÇÃO AO TABAGISMO DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008..... 79
- FIGURA 32. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *Lactobacillus sp*, *Candida spp* E *Trichomonas vaginalis* DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS EM RELAÇÃO ÀS QUEIXAS RELATADAS PELAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008 80
- FIGURA 33. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *Lactobacillus sp*, E DE *Gardnerella vaginalis* E/OU *Mobiluncus spp* EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL (IAS) DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008..... 81
- FIGURA 34. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *Lactobacillus sp*, E DE *Trichomonas vaginalis* EM RELAÇÃO AO RELATO DE APENAS UM OU DE MAIS DE 15 PARCEIROS SEXUAIS, DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008 82
- FIGURA 35. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE MICRORGANISMOS OU DE SEUS EFEITOS CITOPÁTICOS ESPECÍFICOS, DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008 83
- FIGURA 36. OCORRÊNCIA DE ATIPIAS CELULARES ESCAMOSAS DETECTADAS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008 84

- FIGURA 37. OCORRÊNCIA DE ATIPIAS CELULARES GLANDULARES DETECTADAS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008..... 84
- FIGURA 38. RESULTADOS PARA mRNA E6/E7 DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS PELO TESTE NUCLISENS EASY Q HPV V.1® EM RELAÇÃO A RELATOS DE INFECÇÃO POR HPV E POR HIV POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008 86
- FIGURA 39. RESULTADOS PARA mRNA E6/E7 DE PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS PELO TESTE NUCLISENS EASY Q HPV V.1® EM RELAÇÃO A RELATOS DE INFECÇÃO POR HPV E POR HIV POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008..... 88

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. ADEQUABILIDADE DAS AMOSTRAS CITÓLOGICAS CÉRVICO-VAGINAIS COLHIDAS DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.....	69
TABELA 2. FREQUÊNCIAS DOS RESULTADOS DOS EXAMES CITOLÓGICOS DAS AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	70
TABELA 3. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL RELATADAS POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	73
TABELA 4. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	77
TABELA 5. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS, ISOLADOS E EM ASSOACIAÇÃO, DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008	78
TABELA 6. FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DE MICRORGANISMOS ENCONTRADOS NAS OCORRÊNCIAS GERAIS DE RESULTADOS DE ATIPIAS CELULARES	85
TABELA 7. RESULTADOS POSITIVOS PARA mRNA E6/E7 NO TESTE NUCLISENS EASY Q HPV V1® ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DAS INTERNAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2008	86
TABELA 8. RELAÇÃO ENTRE INTERPRETAÇÃO/RESULTADO, QUEIXAS E/OU SINTOMAS RELATADOS PELAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA E OS RESULTADOS DE mRNA E6/E7 TESTE NUCLISENS EASY Q® PARA HPV	87

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AG SOE	Células glandulares atípicas sem outras especificações
AG NEO	Células glandulares atípicas, provavelmente neoplásicas
ASC H	Células escamosas atípicas, não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau
ASC-US	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
CH	Captura híbrida
DNA	Ácido desoxiribonucléico
DST	Doença sexualmente transmissível
E	<i>Early</i>
FB	Flora bacilar
FBM	Flora bacteriana mista
FC	Flora cocóide
HPV	Papilomavírus Humano
HSIL (MI)	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau, com características suspeitas de invasão
IAS	Início da atividade sexual
ICTV	<i>International Committee on the Taxonomy of Viruses</i>
INCA	Instituto Nacional Câncer
L	<i>Late</i>
LCR	<i>Long control region</i>
LSIL	Lesão intraepitelial de baixo grau
HSIL	Lesão intraepitelial de alto grau
mRNA	Ácido ribonucléico mensageiro
NASBA	Água isenta de RNase/ DNase
NASBA	Técnica para a detecção e amplificação de ácidos nucleicos em tempo real
ORF	<i>Open reading frame</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
Rb	Retinoblastoma
Tris/HCl	Tampão tris (hidroximetil) aminometano/ ácido clorídrico
UCM	<i>Universal Collection Medium</i>

RESUMO

No Brasil, como em muitos outros países, a prevalência de doenças sexualmente transmissíveis (DST), incluindo a infecção por papilomavírus humano (HPV); bem como de câncer cervical, é elevada e se relaciona a aspectos educacionais e à insuficiência de políticas públicas adequadas. As populações prisionais estão entre as mais afetadas, devido ao desajuste social derivado dos resultantes da exclusão, que advém da carência de condições básicas de sobrevivência. Estudou-se 798 mulheres da Penitenciária Feminina de Sant' Ana – São Paulo-SP, com o seguinte perfil, de acordo com seus próprios relatos: 18 e 35 anos (70%); solteiras ou separadas (61%); com filhos (80%); abortos anteriores (42%); analfabetas (3%) ensino fundamental parcial ou completo (57%); renda de menos de 1 salário mínimo (39%); fumantes (66%), alcoolistas (57%), usuárias de drogas (56%); início da atividade sexual (IAS) entre 12 e 17 anos (81%); múltiplos parceiros sexuais (87%); heterossexuais (80%); não uso ou, uso esporádico de preservativos nas relações sexuais (73%); intercorrências anteriores de lesões ou sinais clínicos de DST (31%); realização anterior do exame de Papanicolaou (86%). No exame de Papanicolaou das detentas (n=620), observou-se 541 casos negativos para lesões intraepiteliais ou malignidade (NILM) e 79 de anormalidades epiteliais cervicais. Os principais organismos detectados foram: *Gardnerella vaginalis* e ou *Mobiluncus sp* (23,7%), *Trichomonas vaginalis* (11,5%) *Candida spp* (4,4%) e *Chlamydia trachomatis* (1,7%). Houve 13% de frequência de anormalidades epiteliais: 3,1% ASC-US, 1% ASC-H, 1% AGC, 5,2% LSIL e 2,4% HSIL. Entre as mulheres que apresentaram como microbiota *Trichomonas vaginalis*, 94% (29 em 31) não apresentaram sintomatologia, como também 55% (12 em 22) das que apresentaram *Candida spp*. Mulheres que relataram corrimento apresentaram sua microbiota vaginal composta *Candida spp* 41% (9 em 22) e *Lactobacillus sp* 22% (29 em 129). As mulheres que apresentaram anormalidades epiteliais, mostraram microbiota compatível com vaginose bacteriana (32,9%), *Trichomonas vaginalis* (10,2%) e *Chlamydia sp* (6,4%). Houve aumento da frequência de anormalidades epiteliais relacionado a: relato de infecções por HPV (31,3%, p=0,000), e HIV (50%, p=0,000); pouca escolaridade (17,2%, ensino fundamental; 6,2%, ensino médio); baixa renda (15,8%, 1 a 2 salários mínimos; 3,3%, 3 a 5 salários); tabagismo (15,2%, intenso e 16,3%, moderado; 7%, não

fumantes); IAS precoce (50%, 9 anos; 9,5%, 15 anos); número de parceiros sexuais (29%, mais de 100; 4,1%, 1); ocorrência de abortos (16,5%, sim; 9,8%, não). A associação de vaginose bacteriana e *Trichomonas vaginalis* foi mais freqüente em mulheres fumantes (54%, intensas; 33%, moderadas; 13%, não fumantes); maior incidência de *Lactobacillus sp* (22%) e *Candida spp* (41%) em queixas de corrimento; de vaginose bacteriana para IAS precoce aos (16,1%, 13 anos; 3,6%, 18 anos); de *Trichomonas vaginalis* para 15 parceiros (13,2%) em relação a apenas um (5,3%). Detectou-se a presença de mRNA E6/E7 de HPV (teste Nuclisens Easy Q) dos tipos 16(44%), 33 (21%), 31 e 45 (14%) e 18 (7%), em 10 de 19 amostras que apresentaram anormalidades epiteliais. Foi possível observar que a população prisional é jovem e, que a baixa escolaridade, renda mensal e idade de IAS; de parição e de abortos anteriores; de multiplicidade de parceiros sexuais e do tabagismo influenciou a ocorrência de DST e de lesões cervicais pré-neoplásicas.

ABSTRACT

In Brazil, as in many other countries, the prevalence of sexually transmissible diseases (DST), including infection of the human papillomavirus (HPV); as well as cervical cancer, is high and related to educational aspects and insufficient public politics. The prisoner populations are among the most affected, because of the social imbalance as a result of exclusion that happens due to the absence of basic conditions of survival. It was studied 798 women of the Feminine Prison of Sant'Ana, São Paulo - SP, with the following profile, in accordance with their statement: 18 - 35 years (70%); divorced or bachelors (61%); with children (80%); previous miscarriage (42%); illiterates (3%) partial or complete basic education (57%); income of less than 1 (39%); smokers (66%), alcoholics (57%), drug addicts (56%); beginning of sexual life (BSL) at 12 - 17 years (81%); multiple sexual partners (87%); heterosexuals (80%), homosexuals (5%), sporadically use of preservative or not, at sexual intercourse (73%); previous occurrence of injuries or clinical signals of STD (31%); previous accomplishment of Pap test (86%). In female prisoners Pap test (n=620) it was observed 541 negative cases for intra-epithelial injury or malignancy (NILM) and 79 of cervical epithelial abnormalities. The most prevalent microorganisms were: *Gardnerella vaginalis* and/or *Mobiluncus* sp (23.7%), *Trichomonas vaginalis* (11.5%) *Candida* spp (4.4%) and *Chlamydia trachomatis* (1.7%). It was observed 13% of frequency of epithelial abnormalities: 3.1% ASC-US, 1% ASC-H, 1% AGC, 5.2% LSIL and 2.4% HSIL. Woman with the presence of *Trichomonas vaginalis* 94% (29 in 31) were without symptoms as well as 55% (12 in 22) with *Candida* spp. Woman with epithelial abnormalities showed microbiota compatible with bacterial vaginosis (32.9%), *Trichomonas vaginalis* (10.2%), and *Chlamydia* sp (6.4%). It was observed an increase on the frequency of epithelial abnormalities related to: account for HPV infections (31.3%, p=0,000), HIV (50%, p=0,000); poor schooling levels (17.2%, basic education; 6.2% average education); low income (15.8%, 1-2 times; 3.3%, 3-5 times the minimum wage); tabagism (15.2%, intense, 16.3%, moderate, and 7%, not smokers); precocious BSL (50%, 9 years; 9.5%, 15 years); number of sexual partners (29%, more than 100; 4,1%, 1); miscarriage (16.5%, yes; 9.8%, no). Bacterial vaginosis association and *Trichomonas vaginalis* was more frequent in

smokers (54%, intense; 33%, moderate; 13%, not smokers); higher incidence of *Lactobacillus* sp (22%) and *Candida* spp (41%) in vaginal flow complaints; bacterial vaginosis for precocious BSL (16.1%, 13 years; 3.6%, 18 years); *Trichomonas vaginalis* for more than 15 partners (13,2%) in relation to only one (5.3%). It was detected the presence of mRNA E6/E7 of HPV (test Nuclisens Easy Q) of types 16 (44%), 33 (21%), 31 and 45 (14%) and 18 (7%), in 10 of the 19 samples with epithelial abnormalities. Thus, in a young prisoner population, it was detected influence of poor schooling levels, monthly income and age of BSL; number of babies and previous abortions; multiplicity of sexual partners; and tabagism in cases of STD and pre-neoplastic cervical injuries.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Entre as justificativas mais frequentes de procura por atendimento de saúde, em mulheres adultas jovens de países em desenvolvimento; estão as doenças sexualmente transmissíveis (DST). A alta prevalência destas doenças constitui importante problema de saúde pública no Brasil, pois além de afetar a produtividade econômica das pacientes, podem conduzir a várias complicações, até mesmo à morte (Da ROS e SCHIMITT, 2008; BARCELOS *et al.*, 2008). Dentre as DST mais comuns entre as mulheres, está a infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV). Este vírus está intimamente relacionado a processos de carcinogênese do colo do útero e, esta variação de câncer é a segunda mais comum entre mulheres. A estimativa para o ano de 2008 foi de 500.000 novos casos mundiais e de 230.000 mortes, sendo 80% delas concentradas em países em desenvolvimento. Para o Brasil, a previsão é de 18.430 novos casos para o ano de 2010 (OPS, 2002; AULT, 2006; MOREIRA JR *et al.*, 2006; BRASIL, 2007, 2008, 2010).

Os exames periódicos de colpocitologia, tanto pelo método de Papanicolaou convencional, como pelo método de citologia em meio líquido, possibilitam a detecção precoce do câncer de colo uterino e aumentam consideravelmente as chances de cura e de sobrevivência entre mulheres acometidas pela infecção pelo HPV. Permitem também, a concentração de esforços em ações preventivas para a redução das taxas de incidência de câncer e a detecção de vários microrganismos que podem habitar o epitélio cérvico vaginal de forma patológica, trazendo uma série de desconfortos às pacientes, além de favorecer a infecção pelo HPV (SOLOMON e NAYAR, 2005; KOSS e MELAMED, 2006).

Analisando as possíveis origens carcinogênicas de lesões cervicais, o HPV é considerado o grande vilão nos casos de carcinomas de colo de útero, pois o desenvolvimento de técnicas moleculares para detecção de material genético de HPV em tecidos humanos permitiu que sua presença fosse verificada em 99,7% dos casos, evidenciando-se o papel central deste vírus na etiologia do câncer cervical.

Apesar do alto percentual de cura espontânea por um indivíduo infectado, o que significa dizer que nem todos os indivíduos infectados por HPV desenvolverão câncer, a presença viral está diretamente relacionada ao desenvolvimento de câncer de colo uterino, e isto é motivo de grande preocupação, principalmente porque o número de casos de infecção pelo HPV vem aumentando drasticamente (IARC, 1995; PINHEIRO e VILLA, 2001; CARESTIATO *et al.*, 2006; KOSS e MELAMED, 2006; STEBEN e DUARTE-FRANCO, 2007). Aproximadamente 85% da população será infectada por este vírus ao longo de suas vidas e, de acordo com um estudo realizado nos Estados Unidos, a idade feminina na qual a infecção por HPV é mais prevalente é de 20 a 24 anos (STEBEN e DUARTE-FRANCO, 2007; Da ROS e SCHIMITT, 2008).

Há suspeitas de que diversificação nos hábitos sexuais esteja intimamente relacionada ao aparecimento de lesões pré-neoplásicas que tenham como agente causal o HPV e, por sua vez, estudos em populações prisionais podem contribuir de forma significativa para o conhecimento destas questões, já que estas populações representam um segmento social onde condições comportamentais e sexuais podem ser diferenciadas, especialmente pelo ambiente de confinamento a que estão submetidos os prisioneiros (NONNENMACHER *et al.*, 2002).

A realidade brasileira em relação à incidência de DST e de câncer cervical, bem como a constatação de que estas incidências estão relacionadas às condições sócio-econômicas da população, torna relevantes estudos sobre a incidência destas doenças em populações vulneráveis, incluindo as populações prisionais. Os conhecimentos adquiridos neste estudo poderão vir a ser úteis para o desenvolvimento de estratégias de prevenção de DST e de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas em populações prisionais, bem como da população como um todo.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Estudar as correlações entre a prevalência de DST e de lesões intraepiteliais cervicais, a presença de tipos oncogênicos de HPV e possíveis fatores de risco em população prisional da Penitenciária Feminina de Sant' Ana em São Paulo–SP.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o perfil sócio-econômico-cultural das detentas com os resultados citológicos;
- Verificar a prevalência de organismos relacionados a DST;
- Verificar a prevalência de lesões intraepiteliais cervicais;
- Investigar os fatores de risco para DST e para o desenvolvimento do câncer cervical presentes nesta população.
- Investigar a presença de HPV em amostras cérvico-vaginais suspeitas ou positivas para anormalidades epiteliais, identificando alguns tipos oncogênicos;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 EXAME DE PAPANICOLAOU

Mesmo com dificuldades para alcançar o consenso mundial em critérios citomorfológicos e maior uniformidade nas interpretações e emissão de laudos de amostras cervicais, ao longo dos anos, a metodologia de coloração proposta por George N. Papanicolaou (1927); perdurou e firmou seus alicerces e, sendo um exame relativamente barato, permaneceu de forma indispensável e incontestável até os dias atuais (SOLOMON e NAYAR, 2005; KOSS e MELAMED, 2006; COELHO *et al.*, 2008).

O exame de Papanicolaou, como ficou popularmente conhecido, baseia-se na associação de corantes como hematoxilina, Orange G e EA 36, para a evidenciação de caracteres morfológicos celulares de forma detalhada e variada, que permite ao citologista uma interpretação de uma amostra citológica. Esta associação fornece uma ação policrômica da mistura do matiz catiônica, aniônica e anfotérica e, como cada epitélio produz uma graduação de matiz, a diferenciação é possível (TAKAHASHI, 1982).

A técnica de coloração de Papanicolaou tem papel relevante no reconhecimento das alterações inflamatórias e reativas benignas, bem como das alterações reativas associadas ao tratamento por radiação no trato genital; possibilita a avaliação da intensidade inflamatória, sua evolução e, até mesmo, a designação do agente causal por consistências morfológicas. Sobretudo, a maior contribuição do exame citológico pela técnica de coloração de Papanicolaou, é permitir a visualização de critérios morfológicos que levam a achados de malignidade em amostras cervicais, hoje consensualmente descritos pelo Sistema Bethesda para Diagnóstico Citológico, e o encaminhamento adequado das pacientes com a finalidade de prevenção e cura (SOLOMON e NAYAR, 2005; MARTINS *et al.*, 2007).

Dentre os agentes causadores de inflamação e infecção do trato genital feminino, identificáveis no exame de Papanicolaou estão: *Gardnerella vaginalis*/

Mobiluncus sp; *Trichomonas vaginalis*; *Candida* spp; *Actinomyces* sp; bem como os efeitos citopáticos correspondentes à infecção por *Chlamydia* sp; vírus Herpes e HPV (SOLOMON e NAYAR, 2005; BRASIL/MS, 2006; KOSS e MELAMED, 2006).

3.2 MICRORGANISMOS

3.2.2 *Gardnerella vaginalis/ Mobiluncus* sp

Atualmente, estes dois microrganismos são agrupados pela Nomenclatura Brasileira para Laudos Citológicos com a denominação de bacilos supracitoplasmáticos (sugestivos de *Gardnerella vaginalis/ Mobiluncus* sp), por se tratar de difícil distinção no exame após coloração e fixação para a técnica citológica, a fim de buscar a indicação morfológica destes agentes microbianos, igualmente importantes e que, de modo geral, respondem aos mesmos tratamentos (BRASIL/MS, 2006).

A sua presença no esfregaço cérvico-vaginal se deve à substituição dos lactobacilos, componentes da microbiota normal, e é indicativa de um processo designado vaginose bacteriana, considerada por muitos autores a causa mais comum de infecções vaginais e endocervicais, na maioria dos casos sem infiltrado leucocitário importante e não raramente encontrada durante a gravidez. Pode ser sugerida mediante visualização das *clue cells* ou das *comma cells* em meio a um esfregaço de fundo dito “arenoso”. As *clue cells* e as *comma cells*, resultantes da presença de *Gardnerella vaginalis*, na forma de cocobacilos e de *Mobiluncus* sp, na forma de bacilos finos e curvos, respectivamente, são células epiteliais descamadas do epitélio cérvico-vaginal, que se formam devido ao acúmulo destes microrganismos aderidos em sua superfície de forma heterogênea. Estas células apresentam bordas borradas e escuras, muitas vezes obscurecidas pelos microrganismos. Os esfregaços indicativos de vaginose bacteriana não apresentam citólise (MIKAMO *et al.*, 1999; SILVA FILHO e LONGATO FILHO, 2000; SOLOMON e NAYAR, 2005; KOSS e MELAMED, 2006; KARANI *et al*, 2007).

A vaginose bacteriana pode ser assintomática, porém pode ser associada a aumento de risco obstétrico e a morbidade ginecológica, incluindo doença inflamatória pélvica, infecção pós-operatória, cervicite e endometriose. O sintoma

mais característico associado à vaginose bacteriana é o forte odor de aminas, principalmente após a adição de KOH na amostra, acompanhado por pH vaginal superior de 4,5, com tendência à basicidade. Também pode estar presente corrimento grumoso ou bolhoso, em quantidade variável, com coloração acinzentada (KONEMAN *et al.*, 2001; KOSS e MELAMED, 2006; KARANI *et al.*, 2007).

3.2.3 *Trichomonas vaginalis*

É um protozoário parasita unicelular flagelado, transmitido sexualmente, embora a transmissão por fômites seja também relatada por médicos e pacientes. É o organismo de causa mais frequente em uretrites não gonocócicas e vaginites. Em mulheres, pode ser uma doença assintomática (10 a 50% dos casos), que evolui para uma doença inflamatória profundamente aguda (WANG, 2000; GARCIA *et al.*, 2004).

No esfregaço cérvico-vaginal, corado por Papanicolaou, a *Trichomonas vaginalis* apresenta-se como organismo em formato oval ou redondo, cianofílico, com variações em seu tamanho entre 10 e 30 µm, com núcleo pálido e vesicular, de localização excêntrica, sendo que em geral não é possível a visualização de seus flagelos. A tricomoníase é um protótipo de cervicite, traduzida pelo padrão de esfregaço inflamatório com grande número de leucócitos polimorfonucleares e presença de histiócitos e pela presença de alterações celulares reativas intensas. A alteração mais comum no esfregaço é a marcada eosinofilia nas células superficiais, intermediárias e parabasais maduras e, com uma área clara envolvendo o núcleo ou halo perinuclear. Também é possível observar no esfregaço a presença de núcleos empalidecidos e aumentados, necrose celular e, ocasionalmente, apoptose. As células endocervicais podem estar aumentadas de tamanho e vacuolizadas, e a presença de células com nucléolos evidentes, indicativas de processo de reparo, também são comuns (SOLOMON e NAYAR, 2005; KOSS e MELAMED, 2006)

A tricomoníase é considerada como uma das doenças sexualmente transmissíveis mais comuns e, estima-se afetar cerca de 180 milhões de mulheres por ano mundialmente, a despeito de seu tratamento ser eficaz e bem descrito desde 1960. É um microorganismo associado ao aumento da aquisição do vírus da imunodeficiência humana (WANG, 2000; SOPER, 2003; GARCIA *et al.*, 2004). A tricomoníase também tem sido apontada por predispor ao câncer cervical (ZHANG

et al., 1995; VIIKKI *et al.*, 2000). Geralmente a *Trichomonas vaginalis* infecta o epitélio escamoso do trato genital, mas pode também ser encontrada na uretra, nas tubas uterinas e em outros órgãos pélvicos. Estes protozoários são dotados de capacidade de ingestão de *Lactobacillus sp* e de células epiteliais vaginais (GARCIA *et al.*, 2004).

3.2.4 *Candida spp*

O gênero *Candida* engloba, entre outras, as espécies *glabrata* e *albicans*. São os fungos mais comumente encontrados em amostras de citologia cervical, podendo aparecer nas formas de pseudohifas e leveduras. Enquanto as pseudohifas consistem em formas alongadas semelhantes a “bambu”, de coloração rosada; as células leveduriformes são arredondadas, pequenas e encapsuladas, podendo apresentar brotamentos, e aparecem rodeadas por um pequeno halo esbranquiçado e com coloração que varia desde a eosinofílica até marrom acinzentada. Sua transmissão não é exclusivamente sexual e a infecção pode estar associada com diabetes, gravidez e AIDS. De um modo geral, estão associadas a um processo inflamatório acentuado, com grande número de leucócitos, e a alterações celulares reativas intensas, com degeneração celular (SILVA FILHO e LONGATO FILHO, 2000; SOLOMON e NAYAR, 2005; KOSS e MELAMED, 2006).

3.2.5 *Chlamydia sp*

As informações sobre *Chlamydia sp* foram mantidas como parte da interpretação e resultados pela Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais, apesar de este achado ter sido excluído pelo Sistema Bethesda por se ter considerado a sensibilidade do exame de Papanicolaou em detectar seus efeitos citopáticos relativamente baixa em comparação a outros métodos laboratoriais. Na nomenclatura brasileira, foi considerado que em um país com as proporções geográficas e as dificuldades econômicas como o Brasil, a realização do exame de Papanicolaou pode vir a ser a única oportunidade de detecção de uma infecção por este microrganismo e, conseqüentemente, de acesso a tratamento adequado, para a maioria das mulheres (SOLOMON e NAYAR, 2005; BRASIL/MS, 2006).

Trata-se de uma bactéria Gram negativa, parasita intracelular obrigatório e que, no exame de Papanicolaou, mostra-se no citoplasma de células escamosas, metaplásicas e endocervicais, formando um corpo corado circulado por uma área vacuolar clara (KOSS e MELAMED, 2006).

Além de se tratar de uma infecção em geral assintomática, pode causar graves seqüelas e, até mesmo, levar à infertilidade. Muitos estudos indicam a correlação entre a presença de *Chlamydia sp* e maior risco para o desenvolvimento de câncer cervical (ELEUTÉRIO *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2007; GABRIEL *et al.*, 2008).

3.3 PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

Embora seja um vírus pequeno, com aproximadamente 55 nm de diâmetro, não envelopado, com tropismo epitelial, genoma composto por dupla fita de DNA, disposto em forma circular, com aproximadamente 7500 a 8000 pares de bases, e capsídeo viral composto de 72 capsômeros arranjados em forma icosaédrica, sua biologia molecular é muito complexa (VENTURI *et al.* 2004; De VILLIERS *et al.*, 2004; MARTINS, 2005; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006; KOSS e MELAMED, 2006).

O HPV pertencia à família *Papovaviridae*, juntamente com os poliomavírus, por apresentar capsídeo não envelopado e por ambos possuírem DNA circular em dupla fita, mas foi recentemente re-classificado em uma família própria denominada *Papillomaviridae*, oficialmente reconhecida pelo “*International Committee on the Taxonomy of Viruses (ICTV)*”. Esta reclassificação ocorreu pelo fato de que, estes dois vírus apresentam genomas de tamanhos diferentes e organizados de maneira completamente distinta, sem qualquer similaridade na suas sequências de aminoácidos (DE VILLIERS *et al.*, 2004; STEBEN e DUARTE-FRANCO, 2007; MONSONEGO, 2010).

Como qualquer vírus, o HPV depende do maquinário celular para sua replicação e, embora os primeiros tipos de HPV tenham sido isolados há mais de 30 anos, a dificuldade em encontrar culturas celulares apropriadas para a multiplicação destes vírus, dificultou o progresso no estudo das funções virais e limitou estabelecer uma taxonomia baseada em suas propriedades biológicas (CAN, 1997;

BIBBO *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2003; De VILLIERS *et al.*, 2004; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006).

A maioria dos conhecimentos sobre a estrutura e função dos genes do HPV é derivada de clonagens moleculares e transfecção de células de mamíferos com DNA viral clonado. O desenvolvimento da classificação taxonômica destes vírus foi fundamentado em hibridização genômica cruzada e padrões de restrição em um sistema de algoritmos filogenéticos, comparados tanto com sequências genômicas completas, como com segmentos subgenômicos. Há fortes evidências de que o genoma do papilomavírus seja estático, considerando-se que mudanças em suas sequências por mutação ou recombinação são eventos muito raros (CAN, 1997; BIBBO *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2003; De VILLIERS *et al.*, 2004; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006; COELHO *et al.*, 2008).

Os primeiros genomas de HPV a serem sequenciados completamente foram os do HPV tipos 1, 6 e 16 (De VILLIERS *et al.*, 2004; MONSONEGO, 2010).

O genoma do papilomavírus humano pode ser dividido em regiões denominadas região regulatória “*long control region*” (LCR); região precoce “*early*” (E) e, região tardia “*late*” (L). A região denominada LCR está compreendida entre os genes L1 e E6 e não possui uma sequência aberta de leitura ou “*open reading frame*” (ORF). A LCR tem função regulatória do ciclo viral por ser o local onde se ligam os fatores de transcrição celulares e virais. As regiões precoce e tardia são divididas em genes que são expressos a partir de um mRNA policistrônico transcrito a partir de apenas uma das fitas de DNA viral. Estas regiões estão dispostas em apenas uma das fitas de DNA, a qual será transcrita (De VILLIERS *et al.*, 2004; COELHO *et al.*, 2008; MONSONEGO, 2010).

A região E é constituída dos genes E1, E2, E4, E5, E6 e E7 e, em alguns HPV, E8, os quais são ligados ao controle da replicação e da transcrição do DNA e na transformação celular, e conseqüentemente, à oncogênese. A região L codifica as proteínas L1, principal e, L2, secundária que constituem o capsídeo viral e tem especial importância, pois os estudos direcionados à tipificação viral e ao desenvolvimento de vacinas profiláticas são baseados nesta região viral (TYRING, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2003; KOSS e MELAMED, 2006; THOMISON III *et al.*, 2008; COELHO, 2008). A organização do genoma do HPV 16 está representada esquematicamente na Figura 1.

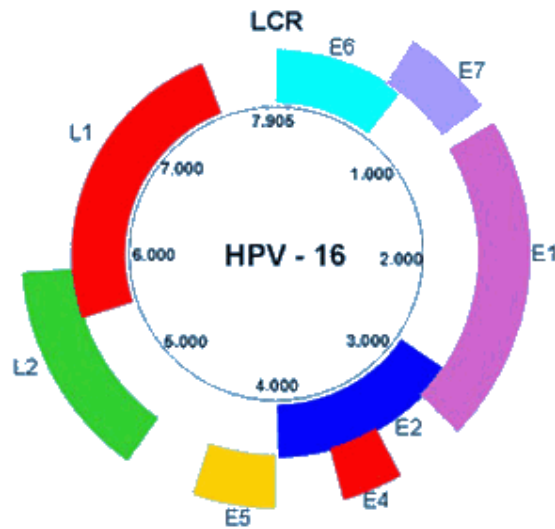


FIGURA 1. ORGANIZAÇÃO DO GENOMA DO HPV 16

FONTE: INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DO PORTO (IPO – PORTO). [HTTP://WWW.IPOPORTO.MIN-SAUDE.PT/FORMACAOEENSINO/HPV2.HTM](http://www.iportodoporto.min-saude.pt/formacaoeensino/hpv2.htm). DISPONÍVEL EM MARÇO DE 2008.

A proteína E1 interage com a polimerase celular α , pode se ligar a um sítio específico do DNA, e é reconhecida por uma sequência no segmento 3' de LCR, que precisa ser desenrolado para a replicação viral, além de possuir atividade de helicase ATP - dependente. E1 complexada com E2 é essencial para a replicação viral e, assim como E2, interage com a topoisomerase I (DOORBAR, 2005; VILLA, 2006; WOODMAN *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2008).

A proteína viral E2 tem função de fator de transcrição e afeta a expressão viral pela formação de dímeros em sítios específicos de LCR. Quando o genoma viral é integrado ao genoma celular, cessa a expressão de E2, evento observado em biópsias de cânceres de colo uterinos e que não está presente em lesões precursoras do tumor (GARCIA-VALLVÉ *et al.*, 2005; WOODMAN *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2008).

A função da proteína E4 ainda não está bem elucidada, parece estar envolvida na maturação e liberação de partículas virais para o meio extracelular. O gene que codifica para a proteína E5 está frequentemente deletado nos tumores da região ano genital, entretanto sua expressão é detectada em lesões intraepiteliais precursoras de baixo grau. É capaz de amplificar o sinal mutagênico do receptor do fator de crescimento epidérmico, porém não parece ter papel imprescindível na

maturação e na transformação maligna celular (DOORBAR, 2005; COELHO *et al.*, 2008).

As oncoproteínas E6 e E7 são os dois maiores oncogenes virais expressos no tecido neoplásico. A proteína E6, entre todos os tipos de HPV, é em geral bem conservada e, as proteínas E6 de HPV de alto risco têm a capacidade de se ligar à proteína p53 e levá-la à degradação pela via da ubiquitina, eliminando o controle de supressão tumoral exercido por p53. A proteína E6 do HPV 16 também é capaz de induzir a atividade da telomerase em queratinócitos humanos. A proteína E7 é comumente localizada na região nuclear e tem a capacidade de interagir com a forma hipofosforilada de proteína pRb expressa a partir do gene supressor de tumor retinoblastoma. Quando E7 se liga à pRb, induz a degradação de pRb pela via da ubiquitina, eliminando o controle negativo de pRb sobre o ciclo celular, liberando os fatores de transcrição E2F. As proteínas E7 de HPV de alto risco têm maior afinidade por pRb e, maior capacidade de sinergia com o oncogene *ras* quando comparadas às proteínas E7 de HPV de baixo risco. A expressão de E7 de HPV de alto risco também é capaz de desencadear a produção de um número suficiente de centrossomos anormais em queratinócitos humanos primários, gerando instabilidade genômica e aneuploidia das células infectadas (ANSCHAU *et al.*, 2005; GARCIA-VALLVÉ *et al.*, 2005; VILLA, 2006; COELHO *et al.*, 2008).

A maioria dos cânceres cervicais abriga uma seqüência de DNA de HPV de alto risco e, nestes carcinomas, as oncoproteínas E6 e E7 são expressas e parecem ser essenciais na indução da transformação e imortalização celular pelo HPV por suas interações com p53 e pRb, respectivamente (De FILIPPIS *et al.*, 2003; BRENNAN e SYRJÄNEN 2003; BRENNAN *et al.*, 2004; VENTURI *et al.*, 2004; VILLA, 2006). A Figura 2 ilustra, de forma esquematizada, a ação das oncoproteínas virais E6 e E7 nas proteínas p53 e pRb.

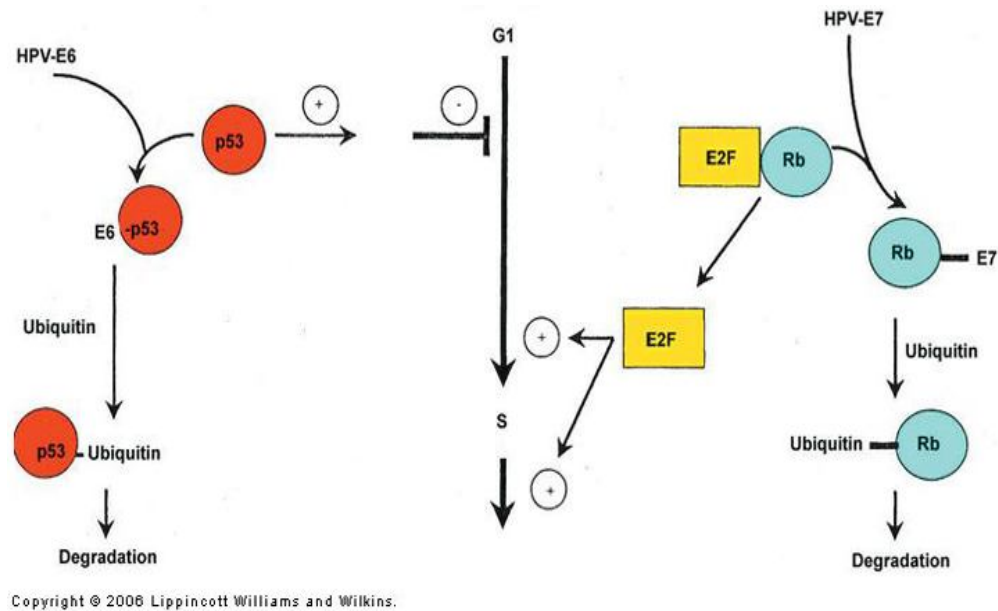


FIGURA 2. INTERAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO HPV COM AS PROTEÍNAS DO CICLO CELULAR.
 FONTE: KOSS E MELAMED, 2006.

Além da sabida associação do HPV com lesões do trato genital, o vírus também está associado a outros sítios, como por exemplo, em lesões de pele, lesões anais, câncer oral, carcinoma de esôfago, papilomatose conjuntival e respiratória (MOORE, 2001; STERLING, 2005; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006; KOSS e MELAMED, 2006).

3.3.1 Tipos de Papilomavírus

Com base na seqüência de nucleotídeos, foram descritos aproximadamente 120 tipos diferentes de papilomavírus, sendo que mais de 40 tipos são capazes de infectar o epitélio e a mucosa de revestimento do trato ano genital humano. A evolução do HPV é lenta e parece estar associada à evolução do *Homo sapiens* e, sua diversidade molecular viral reflete a origem africana e a propagação da raça humana pelo mundo (BERNARD *et al.*, 1994b; MARTINS, 2005; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006; STEBEN e DUARTE-FRANCO, 2007).

A região L1 é a utilizada para a identificação do tipo de PV. Um fragmento da região L1 é amplificado por um *primer* de consenso pela técnica de PCR e, então o produto desta amplificação é submetido à hibridização ou analisado pelo

polimorfismo do comprimento dos fragmentos gerados quando clivados por enzimas de restrição. Estes fragmentos precisam, posteriormente, serem caracterizados por sua sequência de nucleotídeos (BERNARD, 1994; De VILLIERS *et al.*, 2004).

Considera-se um novo tipo de papilomavírus quando seu genoma completo foi clonado e a sequência de DNA da região L1 difere em mais de 10% de um tipo de papilomavírus conhecido. Os cálculos para a avaliação destas semelhanças e diferenças entre as sequências de nucleotídeos são por meio de algoritmos. Diferenças entre 2 e 10% na homologia definem um subtipo viral e quando estas diferenças não ultrapassam 2%, julga-se como uma variante viral. As relações filogenéticas entre os tipos virais estão relacionadas a semelhanças de comportamentos biológicos. Quando uma sequência genômica isolada e completa é determinada, determina-se um tipo viral, que passa a ser designado por um algarismo arábico (BERNARD *et al.*, 1994; De VILLIERS *et al.*, 2004; MARTINS, 2005; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006; STEBEN e DUARTE-FRANCO, 2007; COELHO *et al.*, 2008; MONSONEGO, 2010).

Os papilomavírus são designados pela abreviatura PV, e a letra inicial, no caso dos humanos, H, designa a espécie que hospeda um determinado papilomavírus. A designação de um tipo de HPV por um determinado algarismo e sua correta identificação tem importância clínica, pois alguns tipos de HPV estão diretamente relacionados a lesões específicas, como lesões cutâneas ou de epitélios mucosos, ou originam verrugas benignas ou carcinomas malignos. O número atribuído a um determinado tipo de HPV obedece à ordem cronológica da descrição de sua sequência de nucleotídeos (De VILLIERS, 2004; BERNARD, 2005).

Dentro da nova classificação taxonômica dos papilomavírus, existem 16 gêneros que são identificados por letras gregas, dos quais são exclusivamente compostos por HPV e alguns papilomavírus encontrados em macacos. Nos demais gêneros, estão agrupados tipos encontrados em vários mamíferos e aves. O gênero de maior importância clínica é o designado alfa papilomavírus por conter tipos de HPV associados a lesões mucosas e genitais. De uma maneira geral, os HPV que infectam a mucosa genital, dependendo de seu potencial carcinogênico, são subdivididos em dois grupos; denominados de baixo risco e alto risco. A relação de afinidade entre as proteínas virais com as proteínas celulares é o fator que determina este potencial, e conseqüentemente, a que grupo determinado HPV irá pertencer (De VILLIERS, 2004; BERNARD, 2005; VILLA, 2006).

O grupo de HPV considerado de alto risco inclui os tipos virais que apresentam forte interação com as proteínas celulares e estão envolvidos em lesões pré-malignas e malignas, enquanto os de baixo risco são aqueles que têm interação fraca e estão mais comumente associados a processos benignos. Como exemplos de HPV de alto risco têm-se os tipos 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 e 70 e entre os de baixo risco é possível citar os HPV tipos 6, 11, 42, 43 e 44 (KUMAR *et al.*, 2005; MARTINS, 2005; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006, QUEIROZ *et al.*, 2006).

3.3.2 Infecção por HPV

A infecção pelo HPV é estabelecida pela penetração dos vírions por uma escara qualquer na superfície epitelial que permita o acesso às células-tronco basais multipotentes. A exposição destas células permite a penetração das partículas virais e a infecção por HPV é iniciada. Essa escara pode ser ocasionada ao menor trauma, mesmo durante a relação sexual e, permite o acesso viral ao epitélio. A entrada viral na célula parece ser via um receptor intermediário de endocitose, dependente de clatrina, porém muito do mecanismo de entrada do vírus na célula ainda permanece sem elucidação (DAY *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2003; THOMISON III, 2008; MONSONEGO, 2010).

A porta de entrada para infecção por HPV no epitélio cérvico-vaginal, de modo geral, é a junção escamo-colunar, onde a transmissão do HPV acontece na grande maioria dos casos pela via sexual, mas pode também acontecer pela via materno-fetal ou por fômites e a partir daí pode haver comprometimento do epitélio estratificado e também do endocervical (SILVA FILHO e LONGATO FILHO, 2000; CASON e MANT, 2005; MEDEIROS *et al.*, 2005; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006).

No início da infecção viral, em uma fase dita produtiva, coordenada pelas proteínas E1 e E2, que são amplamente expressas, acontece uma multiplicação limitada do genoma viral, nas células jovens do epitélio, durante a fase S do ciclo celular, seguida por uma fase de conservação de genomas virais que acontecem nas células basais e suprabasais do epitélio, para manutenção do número de genoma viral. Estes genomas são então distribuídos às células filhas, da mesma maneira que o DNA celular, à medida que acontecem as divisões celulares. Para o

amadurecimento celular, fatores implicados neste processo são liberados. Estes fatores ativam também os genes tardios do vírus, que levarão à expressão dos genes L1 e L2 nas camadas celulares maduras e mais externas do epitélio, responsáveis pela formação do capsídeo que envolve o genoma viral, havendo então a produção de novos vírions completos. A liberação de partículas virais completas acontece em conjunto com o processo de descamação do epitélio, e tornam a mucosa muito infectante. Nestas etapas do desenvolvimento viral, quase não há a expressão dos genes virais E6 e E7, responsáveis pela progressão tumoral celular e o DNA viral permanece na forma episomal, não integrado. As proteínas E6 e E7 do HPV somente são expressas em grande quantidade quando não há mais a ação de E1 e E2, ou seja, quando não acontece mais a multiplicação viral, e para tal expressão, é necessário que ocorra a integração do genoma viral ao DNA celular, fenômeno associado aos HPV de alto risco. Com a expressão destas proteínas liberadas, acontece a perda da regulação do ciclo celular, pelas inativações da proteína do retinoblastoma (pRb) pela proteína E7 e da proteína p53 pela proteína E6 viral, levando a célula a sofrer transformações gênicas devido à indução da instabilidade do DNA por estas proteínas (BIBBO *et al.*, 1998; BRENNAN e SYRJÄNEN, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2003; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006; COELHO *et al.*, 2008; MONSONEGO, 2010).

A resposta imunológica pode ter uma ação efetiva e promover o total *clearance* viral, que é o que acontece na maioria dos casos de infecção por HPV, porém, em alguns casos, esta infecção torna-se latente, assintomática, somente identificada por exames biomoleculares. Esta infecção latente, tanto pode tornar-se novamente ativa devido a uma imunodepressão como evoluir para uma progressão tumoral do epitélio, observada em casos de infecção por HPV de alto risco (DOUVIER e DALAC, 2004; GARCIA-VALLVÉ *et al.*, 2005; WOODMAN *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2008; MONSONEGO, 2010).

O processo de infecção por HPV está representado esquematicamente na Figura 3.

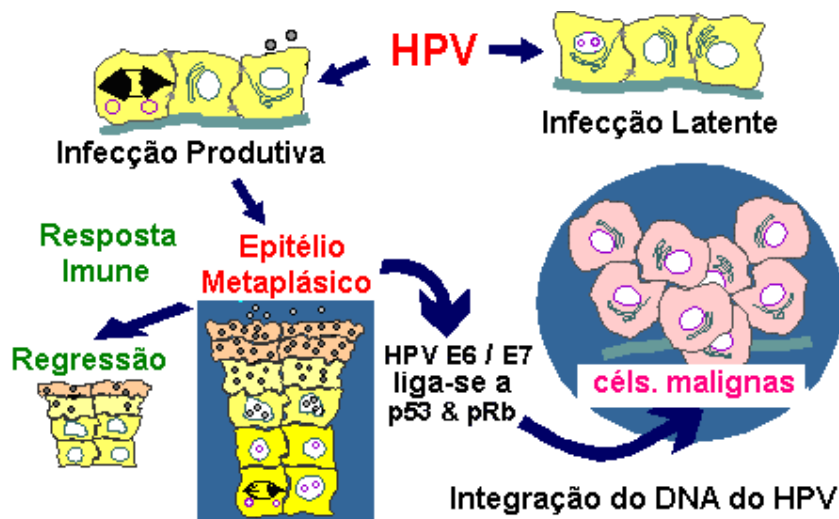


FIGURA 3. REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA INFECÇÃO POR HPV

Fonte: Adaptada de

[HTTP://WWW.STANFORD.EDU/GROUP/VIRUS/PAPILLOMA/2004GOGLINCARNEVALE/PAPILLOMA_CANCER_FILES/IMAGE001.GIF](http://www.stanford.edu/group/virus/papilloma/2004goglincarnevale/papilloma_cancer_files/image001.gif). DISPONÍVEL EM ABRIL DE 2008.

Os indivíduos acometidos pela infecção assintomática ou latente podem ter a cura dentro de um ano, 70% dos casos; ou dentro de um período de dois anos, 90% dos casos (CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006).

O HPV está diretamente relacionado ao desenvolvimento de câncer de colo uterino, sendo evidenciada a sua presença em 99,7% dos casos, e dentre este percentual, 70% a presença é do HPV do tipo 16 ou 18, considerados de alto risco oncogênico (PINHEIRO e VILLA, 2001; STEBEN e DUARTE-FRANCO, 2007). Vale salientar que a infecção por um tipo de HPV não isenta uma co-infecção por outro tipo e que, há evidências de que múltiplos tipos infectando o epitélio agem de forma sinérgica e conduzem a um pior prognóstico, mesmo quando um dos HPV envolvidos é de baixo risco (ROSSEAU *et al.*, 2003a; ROSSEAU *et al.*, 2003b; TROTTIER *et al.*, 2006).

Apesar da infecção por HPV ser necessária para o desenvolvimento de câncer cervical, isolada ela não é suficiente para tal evento. Além da indução da carcinogênese pelas proteínas virais os papéis genético, hormonal e imunológico do hospedeiro também são importantes (KADISH *et al.*, 2002).

Há alguns anos, o HPV vem sendo identificado como o principal agente etiológico envolvido na patogênese do câncer cervical e de suas lesões precursoras. A infecção pelo vírus e a integração do DNA viral podem encaminhar células

cervicais normais a se tornarem células pré-malignas em lesões intraepiteliais escamosas (SIL) e resultarem em malignidades cervicais posteriormente (YAGINUMA e WESTPHAL, 1991; WHANG e LEE, 1997; PINHEIRO e VILLA, 2001).

3.3.3 A vacina contra o HPV

Estabelecida a associação do HPV com o câncer cervical e, identificados os tipos virais mais prevalentes neste processo, ao longo dos anos de 1970, a pesquisa científica passou a ser direcionada na busca da prevenção do câncer pelo combate a infecção viral propriamente dita, por meio da criação de vacinas (STANLEY, 2008b; MONSONEGO, 2010).

Existem dois tipos de vacinas contra a ação do HPV, profilática e terapêutica. Somente a vacina profilática está devidamente aprovada e comercialmente disponível. Este tipo de vacina tem pouca ou nenhuma ação no indivíduo que já teve contato com o vírus, porém detém a capacidade de provocar boa resposta imunológica em indivíduos que nunca tiveram contato com o vírus, muito superior à resposta imunológica natural ao vírus. Por se tratar de uma vacina que somente produz efeitos desejados em pessoas que não tiveram contato com o vírus, a idade da vacinação deve ser precoce, antes do início das atividades sexuais e, este fato, traz à tona questões éticas, religiosas e culturais que precisam ser consideradas para que se consiga uma boa adesão aos programas de vacinação (COLGROVE, 2006; CHARO, 2007; COMEAU, 2007; VAN de VELDE *et al.*, 2007; COELHO *et al.* 2008; MONSONEGO, 2010).

As duas vacinas comercializadas são baseadas na capacidade da proteína L1, formadora do capsídio viral de desdobramento e automontagem espontânea, o que permite que esta proteína sozinha seja capaz de formar o um capsídio esférico muito semelhante ao do vírus original. Essas partículas, denominadas de pseudovirais ou VLP, do inglês "*virus like particles*", apesar de não serem infectantes, pois não contêm material genético, têm a capacidade de ativar o sistema imunológico, de forma a obter uma resposta imunológica forte o suficiente para eliminar o vírus, já que a infecção por papilomavírus de alto risco é caracterizada pela incapacidade da resposta imune natural em proteger o organismo de uma nova exposição, ou mesmo de eliminar efetivamente o vírus, também chamada de

tolerância imunológica (COELHO *et al.* 2008; STANLEY, 2008a; MONSONEGO, 2010).

Atualmente, existem duas vacinas profiláticas disponíveis no mercado que são a Gardasil® (Merck) e a Cervarix® (Glaxo Smith Kline). A Gardasil® é uma vacina recombinante quadrivalente que utiliza as VLP dos HPV 6, 11, 16 e 18 que tem como adjuvante universal o alumínio que provoca a potencialização da reação imunológica. Apesar dos HPV 6 e 11 não provocarem câncer e serem associados a processos unicamente benignos como a formação de verrugas genitais, são de grande relevância no contexto de saúde pública, pois as verrugas são incômodas, dolorosas e geradoras de constrangimentos psicológicos consideráveis, por esta razão foram incorporados na formulação desta vacina. A Cervarix® trata-se de uma vacina bivalente que contempla as infecções por HPV 16 e 18 e tem como adjuvante original o ALO4, que é um imunoestimulante novo, com grande capacidade de potencializar a resposta imune humoral (MONSONEGO, 2010). Estas vacinas também estão sendo estudadas na prevenção primária de carcinomas orais ocasionados por infecção por HPV (GILLISON, 2008).

As VLP têm grande poder imunológico quando administradas em dose de 10 a 50 microgramas em três injeções intramusculares administradas com intervalo de 0, 2 e 6 meses no caso da vacina Gardasil® (Merck) e de 0, 1 e 6 meses, no caso da vacina Cervarix® (Glaxo Smith Kline). O alto custo para a instalação de programas de vacinação em grande escala ainda são alvo de recusa por muitos países em adotar este tipo de programa de prevenção. O custo para Cervarix® é de 360 dólares, e para a Gardasil® é de 404 dólares, para o tratamento completo, ou seja, para as três injeções. Além do alto custo, os efeitos da redução da incidência do câncer só serão percebidos décadas depois, devido ao curso natural da infecção pelo HPV, o que ocasiona desinteresse por alguns países em adotar a vacinação como programa de prevenção (WINER *et al.*, 2005; COMEAU, 2007; MONSONEGO, 2010).

Para a população masculina, o maior benefício seria a prevenção de verrugas genitais propiciado por uma das duas vacinas, a Gardasil®, visto que 90% destas manifestações são ocasionadas pelos tipos virais 6 e 11 presentes nesta vacina, porém carece considerar que o custo para a vacinação de ambos os sexos seria muito superior e que, os estudos nesta população ainda precisam ser estendidos (BASU, 2007; MONSONEGO, 2010).

A duração da eficácia da vacina, até o momento, só está confirmada com conhecimento, para 5 anos e, a taxa mínima de anticorpos, responsável por produzir uma proteção eficaz, ainda não foi estabelecida. É imperativo que exista muita cautela na divulgação da vacina, a fim de evitar a formação de uma imagem errônea de que a vacinação seria capaz de proteger amplamente a população feminina do câncer de colo de útero, pois além da vacina não proteger contra todos os tipos oncogênicos de HPV, esta imagem pode ocasionar uma falsa impressão de proteção, o que pode impulsionar um comportamento mais descompromissado em relação a exposição de fatores conhecidamente relacionados ao risco de infecção por HPV e instauração do processo de carcinogênese do câncer de colo de útero (GOLDIE *et al.*, 2007; MONSONEGO, 2010).

Como as vacinas não protegem de todos os HPV associados ao câncer de colo, o rastreamento citológico necessita ser realizado com os mesmos intervalos e cuidados, já estabelecidos pelos programas de prevenção. Deve-se considerar que infecções por outros tipos oncogênicos de HPV, que não são contemplados pelas vacinas existentes, podem acontecer e, sobretudo, não existem conhecimentos suficientes até o momento que permitam afirmar com segurança que a vacinação contra os HPV 16 e 18 não propicie uma seleção e favoreça o desenvolvimento de outros genótipos virais até então muito raramente implicados nesse câncer. Ainda, é preciso analisar a competição imunológica, conforme os tipos virais associados à vacina (MONSONEGO, 2010).

O desempenho para prevenir o câncer de colo de útero depende dos tipos virais associados à vacina e da extensão da participação da população. O rastreio citológico e a vacinação são duas ações de prevenção sinérgicas e complementares, e é necessário que se evite a oposição entre estas duas atitudes, pois a vacinação deve ser vista como um aspecto de segurança adicional, de grande valia, ao rastreio. Até o momento, não é conhecido se a utilização em larga escala da prevenção vacinal não seria capaz de selecionar ou, até mesmo, favorecer o desenvolvimento de outros genótipos virais até então muito raramente implicados com o câncer de colo de útero. Ainda são necessários mais estudos e pesquisas direcionados para se avaliar a aplicação destas vacinas (SAWAYA, 2007; STANLEY, 2008b; MONSONEGO, 2010).

As vacinas terapêuticas, em fase de estudo pré-clínico, prometem ação sobre infecções já estabelecidas, e são baseadas em peptídeos contra E6 e E7 de HPV16.

Apesar de ainda inconclusivos, os resultados preliminares apresentaram-se muito promissores, com regressão de tumores sólidos em camundongos e, talvez sejam a grande esperança na redução da mortalidade pelo carcinoma uterino (KAST, 2006; LINHARES e VILLA, 2006; COELHO *et al.* 2008).

3.4 EPITÉLIO CÉRVICO-VAGINAL

3.4.1 Câncer Cervical – Diagnóstico e Prevenção

Nenhuma outra forma de câncer exemplifica melhor o efeito extraordinário de prevenção, diagnóstico precoce e terapia curativa no combate ao índice de mortalidade, como o câncer de cérvix.

Há cinquenta anos, o câncer de cérvix era o líder de causa de mortes por câncer em mulheres nos Estados Unidos, mas este índice teve um grande declínio e, atualmente, ocupa o oitavo lugar. Esta redução de mortalidade está intimamente relacionada com o aumento da frequência de detecção de cânceres precoces e condições pré-cancerosas. Os créditos desta redução são devidos, em muito, à efetividade do teste de Papanicolaou em detectar lesões pré-cancerosas cervicais e à acessibilidade da cérvix para colposcopia e biópsia. O *screening* pelo esfregaço de Papanicolaou aumentou a detecção de cânceres potencialmente curáveis, bem como a detecção e a erradicação de suas lesões precursoras, algumas das quais, poderiam progredir para câncer caso não fossem descobertas em tempo (PINHO e FRANÇA JUNIOR, 2003; KUMAR *et al.*, 2005).

São extensivos os relatos de que o carcinoma invasivo da cérvix, independente do tipo, desenvolve-se a partir de uma lesão precursora na superfície de um epitélio normal. A investigação destas lesões foi facilitada pela possibilidade de submeter amostras citológicas e histológicas não somente ao escrutínio microscópico, mas também à citogenética e a análises de biologia molecular (NONNENMACHER *et al.*, 2002; CAVALCANTI e CARESTIATO, 2006).

Apesar das alterações citomorfológicas representativas de lesões intraepiteliais cervicais serem observadas no exame de Papanicolaou por microscopia óptica, há situações em que o diagnóstico é de difícil interpretação. São casos em que as amostras não apresentam critérios citomorfológicos quali ou

quantitativamente suficientes para se definir a presença e/ou o grau da lesão intraepitelial escamosa (SIL), porém apresentam anormalidades mais intensas que as esperadas para a designação de processos reativos, inflamatórios ou regenerativos, e não podem deixar de ser relatadas ao escrutínio da lâmina. Tais situações estão representadas nas condições denominadas como células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) e células escamosas atípicas, não podendo excluir lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H). No caso das anormalidades insuficientes para a definição do diagnóstico de lesão estarem presentes em células glandulares, a denominação é: células glandulares atípicas (AGC), as quais podem ainda ser classificadas como endocervicais ou endometriais (SOLOMON e NAYAR, 2006; COELHO *et al.*, 2008).

Nos casos supracitados, a identificação do DNA viral pelas técnicas biomoleculares torna-se de grande valia, pois estas pacientes tanto podem estar em condições normais ou subclínicas, como serem portadoras de lesões intraepiteliais, ou mesmo, de carcinoma invasor. A associação entre estas técnicas e o exame citopatológico amplia a capacidade de se obter um diagnóstico confiável, pois esta sinergia entre as metodologias aumenta significativamente a sensibilidade diagnóstica de lesões precursoras e malignas, tanto do trato genital feminino como da cavidade oral (NONNENMACHER *et al.*, 2002; CARESTIATO *et al.*, 2006).

Outra vantagem em se utilizar as ferramentas moleculares como auxiliares no diagnóstico é a possibilidade de se identificar o tipo viral presente em determinada amostra, o que indica a probabilidade de agravamento da lesão ou prognóstico, e permitir uma melhor condução do tratamento da paciente. Ademais, o uso destas técnicas torna possível inclusive a identificação de novos tipos virais presentes na população estudada e a caracterização de um tipo de HPV menos prevalente (BERNARD, 1994; PINHEIRO e VILLA, 2001; KANESHIMA *et al.*, 2001).

A proposta de programas de prevenção ao câncer uterino é identificar as lesões precursoras em preparações cérvico-vaginais, acompanhando-as e, se necessário, erradicando-as e, desta forma, prevenir a ocorrência de cânceres invasivos. O sucesso destes programas se confirmou, pois após meio século de sua implantação, o índice de câncer invasivo de cérvix uterina se reduziu em aproximadamente 70% nos Estados Unidos e em países em desenvolvimento também se observou redução da incidência de câncer de cérvix, embora esta continue sendo uma doença comum, com altos índices de mortalidade; a segunda

maior entre as mulheres (BRENNAN *et al.*, 2004; KOSS e MELAMED, 2006; BRASIL, 2008). Na Figura 4, é possível observar uma representação, em quadrantes, ilustrando o processo canceroso e suas lesões precursoras no colo uterino.

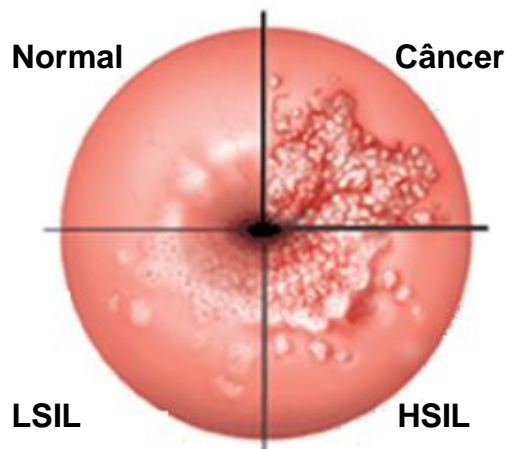


FIGURA 4 - REPRESENTAÇÃO DAS VÁRIAS ETAPAS DO DESENVOLVIMENTO NEOPLÁSICO NO COLO UTERINO

FONTE: ADAPTADA DE [HTTP://WWW.THEHPVTEST.COM/ABOUT-HPV/CERVICAL-CANCER-FAQS.HTML](http://www.thehpvtest.com/about-hpv/cervical-cancer-faqs.html). DISPONÍVEL EM MARÇO DE 2008.

A estimativa do Instituto Nacional do Câncer (BRASIL) para o ano de 2010 é de 18.430 novos casos de câncer de colo de útero. Na Figura 5, observa-se a representação espacial das taxas brutas de incidência por 100.000 mulheres estimadas para o ano 2010, por Unidade da Federação, considerando-se neoplasia maligna do colo do útero e do útero, porção não especificada (BRASIL / MS, 2010).

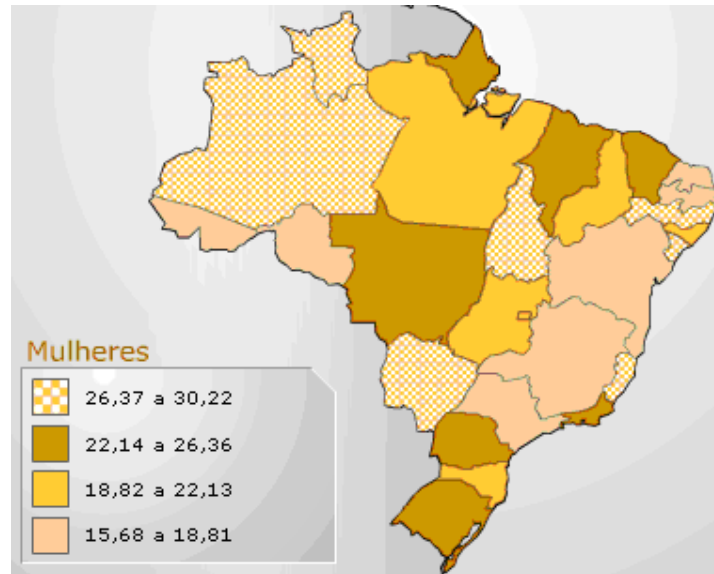


FIGURA 5. REPRESENTAÇÃO ESPACIAL DAS TAXAS BRUTAS DE INCIDÊNCIA POR 100.000 MULHERES ESTIMADAS PARA O ANO 2010, SEGUNDO A UNIDADE DA FEDERAÇÃO (NEOPLASIA MALIGNA DO COLO DO ÚTERO E DO ÚTERO, PORÇÃO NÃO ESPECIFICADA).

FONTE: INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER.

[HTTP://WWW.INCA.GOV.BR/ESTIMATIVA/2010/INDEX.ASP?LINK=MAPA.ASPEID=5](http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=mapa.aspeid=5). DISPONÍVEL EM MARÇO DE 2010

A razão para o *screening* do esfregaço de Papanicolaou ser tão eficaz na prevenção do câncer cervical é que a maioria destes cânceres é precedida por lesões pré-cancerosas detectáveis, além de se tratar de um exame relativamente simples e de custo acessível (TUON *et al.*, 2002; KOSS e MELAMED, 2006; RAMOS *et al.*, 2009).

3.4.2 Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US)

Caracterizam-se por núcleos de tamanho aumentados, sendo 2,5 a 3 vezes o núcleo de uma célula escamosa intermediária normal, a proporção núcleo/citoplasma (N/C) também aparece com ligeiro aumento e a cromatina pode apresentar hipercromasia e distribuição irregular mínimas. São anormalidades epiteliais quase sempre associadas a citoplasma orangeofílico denso ou paraceratose atípica, em que não se consegue distinguir entre uma lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL) e fenômenos inflamatórios no sentido amplo (SOLOMON e NAYAR, 2004; MONSONEGO, 2010). As alterações celulares compatíveis com diagnóstico citológico de ASC-US estão ilustradas na Figura 6.

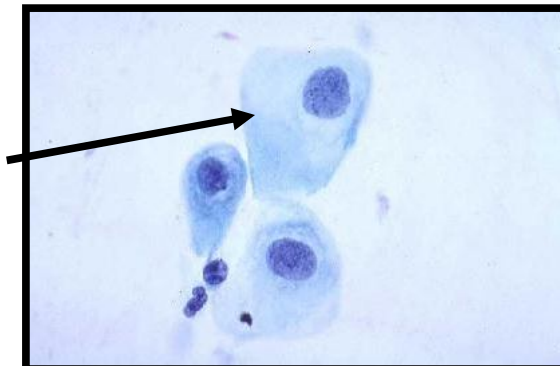


FIGURA 6 - FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ATÍPICAS DE SIGNIFICADO INDETERMINADO. SETA – CÉLULA ESCAMOSA MADURA, COM NÚCLEO DE TAMANHO AUMENTADO E DISCRETA ALTERAÇÃO NA DISTRIBUIÇÃO CROMATÍNICA.

FONTE: ADAPTADO DE NCI BETHESDA SYSTEM WEBSITE ATLAS; [HTTP://NIH.TECHRIVER.NET/](http://nih.techriver.net/). DISPONÍVEL EM MAIO DE 2009.

3.4.3 Células escamosas atípicas, não é possível excluir lesão intraepitelial de alto grau (ASC-H)

Esta classificação apresenta como padrão, células isoladas ou em pequenos fragmentos com menos de 10 células, que possuem tamanho semelhante às células metaplásicas, com núcleos 1,5 a 2 vezes maiores que o tamanho considerado normal. A proporção N/C é alta, sendo muito próxima da lesão intraepitelial de alto grau (HSIL), com cromatina podendo se apresentar com alguma hiper cromasia ou discreta distribuição irregular. Os esfregaços que recebem a designação de ASC-H são aqueles em que as alterações apesar de acontecerem em células mais jovens, apresentam-se com dificuldades de distinção entre um processo de regeneração epitelial, de metaplasia imatura ou de atrofia e HSIL propriamente dita (SOLOMON e NAYAR, 2004; KOSS e MELAMED, 2006; MONSONEGO, 2010). Na Figura 7 é possível observar as alterações celulares compatíveis com o diagnóstico citológico de ASC-H.

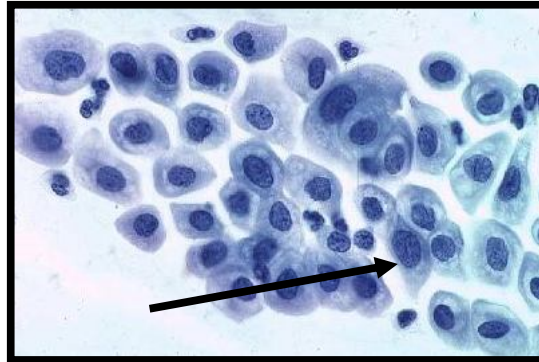


FIGURA 7 - FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ATÍPICAS, NÃO É POSSÍVEL EXCLUIR HSIL. SETA – CÉLULA ESCAMOSA IMATURA, COM RELAÇÃO N/C AUMENTADA E DICRETA IRREGULARIDADE NA DISTRIBUIÇÃO CROMATÍNICA.

FONTE: ADAPTADO DE NCI BETHESDA SYSTEM WEBSITE ATLAS; [HTTP://NIH.TECHRIVER.NET/](http://nih.techriver.net/). DISPONÍVEL EM MAIO DE 2009.

3.4.4 Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL)

São caracterizadas por núcleos hiper cromáticos, de tamanho aumentado em até três vezes o tamanho do núcleo de uma célula intermediária normal, ocorrendo em vários níveis do epitélio escamoso com razoável regulação de tamanho e forma nuclear, podendo ser identificadas precocemente por estas características morfológicas.

Em alguns casos, os núcleos anormais estão circundados por uma zona clara de citoplasma, caracterizando morfológicamente a infecção pelo papilomavírus humano, situação celular denominada de coilócito, conforme a Figura 8 (TAKAHASHI, 1982; MEISELS e MORIN, 1997; KOSS e MELAMED, 2006).

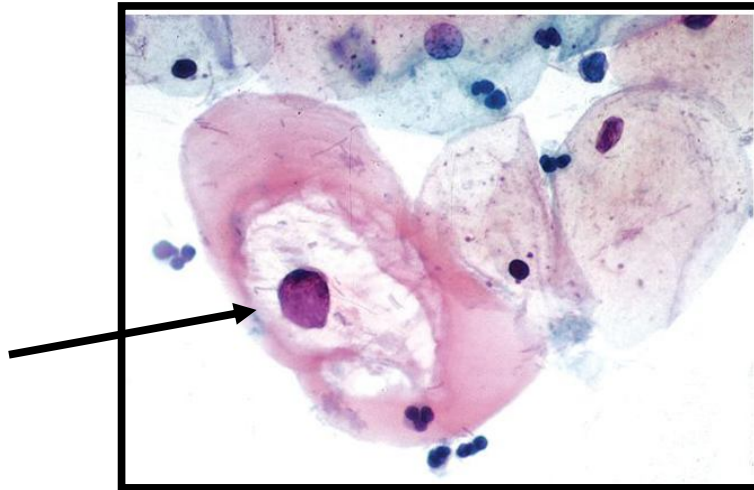


FIGURA 8 - FOTOMICROGRAFIA DA MANIFESTAÇÃO CITOMORFOLÓGICA DO HPV COMPATÍVEL COM LSIL–COILÓCITO. SETA - CÉLULA ESCAMOSA MADURA, COM TAMANHO AUMENTADO E GRANDE HALO PERINUCLEAR, NÚCLEO HIPERCROMÁTICO COM FORMATO IRREGULAR. FONTE: KOSS E MELAMED, 2006.

Os critérios para a identificação das lesões intraepiteliais de baixo grau segundo o Sistema Bethesda 2001, incluem células ocorrendo isoladamente ou em grupos, com alterações citológicas geralmente restritas a células maduras ou superficiais, com um aumento nuclear de pelo menos três vezes comparado ao núcleo de uma célula intermediária normal; podendo ocorrer variação na hiper-cromasia, tamanho e formas nucleares. Pode ainda haver bi ou multinucleação, com a cromatina regular distribuída de maneira granular, borrada ou degenerada. Os nucléolos estão ausentes ou diminutos e o contorno da membrana nuclear é ligeiramente irregular ou liso com bordas citoplasmáticas distintas.

A presença de células com cavitação citoplasmática perinuclear, zona perinuclear bem delineada e borrada na periferia com citoplasma de coloração densa ou também orangeofílico, caracterizando a coilocitose, é um critério característico, porém não obrigatório. Além disso, estas células devem apresentar alterações nucleares para servirem de diagnóstico (BIBBO *et al.*, 1998; SOLOMON e NAYAR, 2005; KOSS e MELAMED, 2006).

3.4.5 Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL)

Desenvolve-se na grande maioria dos casos no epitélio em transformação, no canal endocervical e também no epitélio endocervical. A HSIL pode ocorrer subseqüentemente à LSIL ou na ausência da mesma, como um evento primário (KOSS e MELAMED, 2006).

As lesões intraepiteliais escamosas de alto grau, representadas na Figura 7, englobam casos de displasia moderada ou acentuada e carcinoma *in situ*. Em aproximadamente 15 a 20% destas lesões, o processo neoplásico é derivado do epitélio basal ou das células de reserva do epitélio endocervical. Resultam em lesões compostas por muitas células pequenas de citoplasma escasso, predominantemente redondo ou oval, com citoplasma imaturo delicado ou denso, podendo aparecer isoladas ou em agregados sinciciais, ou mesmo em fila indiana. Os núcleos são hipercromáticos de tamanho e forma variados, a cromatina apresenta-se fina ou grosseiramente granular distribuída de forma irregular e o envoltório nuclear é bastante irregular, muitas vezes com endentações. Os nucléolos podem ou não estar presentes, mas quando visíveis, são pequenos (BIBBO *et al.*, 1998; SOLOMON e NAYAR, 2005; KOSS e MELAMED, 2006). A Figura 9 ilustra as alterações citológicas encontradas na HSIL.



FIGURA 9. ELETROMICROGRAFIA DA REPRESENTAÇÃO CITOLÓGICA DO DIAGNÓSTICO DE HSIL. SETA – CÉLULAS ESCAMOSAS JOVENS, COM GRANDE AUMENTO DA RELAÇÃO N/C, NÚCLEOS IRREGULARES, HIPERCROMÁTICOS E DISTRIBUIÇÃO CROMATÍNICA IRREGULAR.

FONTE: ADAPTADO DE NCI BETHESDA SYSTEM WEBSITE ATLAS; [HTTP://NIH.TECHRIVER.NET/](http://nih.techriver.net/). DISPONÍVEL EM MAIO DE 2009.

3.4.6 Carcinoma invasor

As células apresentam-se em meio a sinais de diátese tumoral, com necrose e sangue degenerado, com pleomorfismo celular acentuado, em grupamentos ou isoladas. A cromatina é densa e grosseiramente distribuída, a presença de mitoses anômalas e outras aberrações nucleares podem ocorrer, e os nucléolos podem estar presentes e proeminentes (GOMPEL e KOSS, 1997; SOLOMON e NAYAR, 2005). Os critérios para o diagnóstico de carcinoma invasor estão ilustrados na Figura 10.

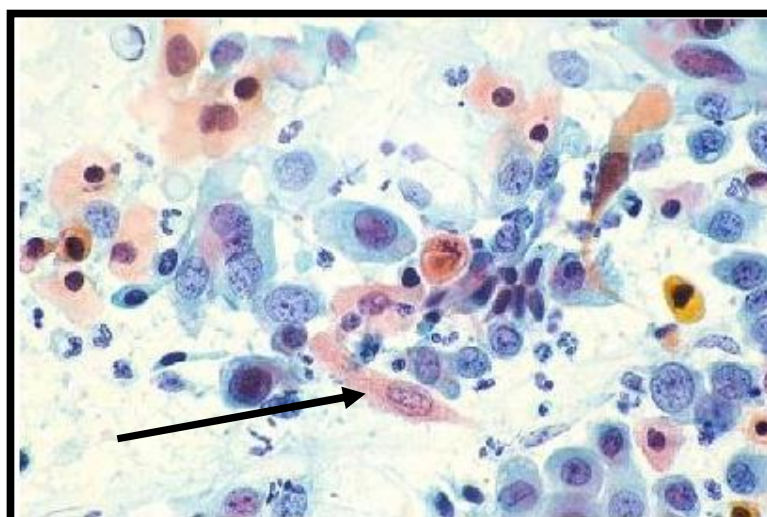


FIGURA 10. ELETROMICROGRAFIA DE CARCINOMA INVASOR. SETA – CÉLULAS JOVENS DE FORMAS VARIADAS E IRREGULARES COM NÚCLEOS IRREGULARES, HIPERCROMÁTICOS E DISTRIBUIÇÃO CROMATÍNICA IRREGULAR, DISPOSTAS EM MEIO A SINAIS NECRÓTICOS.

FONTE: ADAPTADO DE NCI BETHESDA SYSTEM WEBSITE ATLAS; [HTTP://NIH.TECHRIVER.NET/](http://nih.techriver.net/). DISPONÍVEL EM MAIO DE 2009.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Foram entrevistadas 798 mulheres internas na Penitenciária Feminina da Cidade de São Paulo durante o período de abril de 2007 a novembro de 2008, obtendo-se material cérvico-vaginal de 620 mulheres. A coleta foi realizada após anuência das pacientes e da Direção da Penitenciária, de acordo com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São Paulo CEP 0369/06 (Anexo I e Anexo II), mediante aceite de estágio externo na Universidade Federal de São Paulo (Anexo III). A aplicação de um instrumento para captação de informações clínicas, sociais e educacionais, foi feito na forma de entrevista, com base no questionário apresentado no Anexo IV.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Reagentes, Material de Consumo e Equipamentos

4.2.1.1 Reagentes

Fixador, etanol absoluto comercial, etanol absoluto P.A., xilol (Reagen[®]), kit de coloração de Papanicolaou (Newprov[®]), verniz vitral (Acrilex[®]), *Universal Collection Medium* (UCM – Digene-Brasil[®]), solução de hipoclorito de sódio (5%), tampão de lise (Lyses Buffer Nuclisens Easy Mag - bioMériux[®]), Nuclisens Easy Mag sílica magnética[®], Nuclisens Easy Mag tampão de extração[®], Nuclisens Easy Mag insumos[®], Nuclisens Easy Mag starter pack[®], kit Nuclisens Easy Q HPV v 1.0[®] constituído por: diluente pré-mistura (água isenta de DNase/RNase e proclin), esferas de reagente liofilizadas (nucleotídeos, ditiotreitol e MgCl₂), diluente de reagente (Tris/HCl, 45% DMSO), solução de armazenamento (KCl), misturas *primers probe* U1A/HPV16; HPV18/31; HPV 33/45 (*primers* sintéticos e sondas- *beacons*

moleculares sintéticas para U1A/HPV16; HPV18/31; HPV 33/45), esferas de enzima (AMV-RT, RNase H, polimerase T7-RNA e BSA), diluente de enzima (sorbitol em solução aquosa), Controle Positivo U1A/HPV16, Controle Positivo HPV18/31, Controle Positivo HPV33/45 (sondas para ss DNA para U1A e HPV16; HPV18/31; HPV33/45), água NASBA[®] (água isenta de RNase/ DNase), 9 tubos vazios.

4.2.1.2 Material de consumo

Espátulas de Ayre (Vagispec[®]), escovas cilíndricas (Vagispec[®]), espéculos vaginais (Vagispec[®]), lâminas para microscopia com bordo fosco 25X75mm (Bioslide[®]), lamínulas para microscopia 24X60mm (Vidrobras[®]), cubas e suporte para coloração, microtubos sem e com tampa (0,5 e 1,5 ml), ponteiras descartáveis esterilizadas DNase e RNase free para micropipetas, luvas descartáveis para procedimentos isentas de talco, papel absorvente, tiras de 8 tubos com capacidade para 0,2 ml com tampa, suporte de tabuleiro de tubo de 0,2 ml com tampa, lixeiras com tampa.

4.2.1.3 Equipamentos

Mesa ginecológica, lâmpada iluminadora, centrífuga com rotor adequado para tubos de 2 ml e capacidade de 10000 x g, micropipetas e micropipetas multicanais programáveis (5 a 1000µl), banho-maria, vortex, adaptador ondulado de cabeça plana, microscópio de luz binocular (Eclipse E200 Nikon[®]), refrigerador e congelador, capelas de exaustão e de fluxo laminar vertical, cronômetro, Nuclisens Easy MAG[®], Easy Q Incubator[®], Easy Q Analyser[®], software Easy Q Director[®], centrífuga para microtubos com capacidade de 2000 x g, impressora.

4.2.2 Coleta de amostras

As mulheres se apresentaram de forma espontânea para o procedimento de coleta, o qual ocorreu em duas etapas. Inicialmente, a paciente foi encaminhada até a maca apropriada e orientada para permanecer em posição ginecológica. As paredes vaginais foram afastadas com auxílio de espéculo vaginal e, após visualização do colo uterino, e realizou-se coleta dupla do material ecto e

endocervical, por esfoliação, com auxílio da espátula de Ayre e de escova cervical, respectivamente. O material foi então depositado por espalhamento, de maneira regular, em um único sentido, sobre lâmina de microscopia.

Em uma segunda fase, as mulheres que tiveram resultado positivo para anormalidades epiteliais no escrutínio citológico foram convidadas à coleta de material, que aconteceu da mesma forma descrita acima, porém, nesta ocasião, além da obtenção de amostra cérvico-vaginal para novo escrutínio citológico, foi também coletado material para análise biomolecular em “*Universal Collection Medium*” (UCM – Digene - Brasil[®]). Este resultado citopatológico foi submetido à comparação com o primeiro resultado.

4.2.3 Aplicação do Instrumento de Avaliação

No momento em que as detentas se apresentavam para a realização de coleta, eram prioritariamente entrevistadas para o preenchimento do instrumento de avaliação na forma de questionário (Anexo IV) a fim de se obter informações clínicas, sociais e educacionais das mesmas. Esta entrevista foi realizada pelos membros da equipe de coleta, obedecendo a princípios de respeito universal, de maneira a se conseguir a maior lisura possível.

4.2.4 Exames citológicos

Os esfregaços, em lâmina, de material cérvico-vaginal para análise citológica foram corados segundo a metodologia de Papanicolaou adaptada, descrita esquematicamente no Quadro 1 e, em seguida, montados com a utilização de verniz vitral, com a sobreposição de lamínulas 24X60 mm, evitando-se a formação de bolhas de ar. A análise dos esfregaços foi realizada de forma horizontal sistemática com a utilização do microscópio óptico (Nikon Eclipse E200[®]) sob a objetiva de 10X e, quando necessário, sob a objetiva de 40X para a observação mais detalhada de células e/ou microorganismos. O primeiro escrutínio foi realizado pelo Laboratório In Cito (São Paulo - SP) e revisadas em sua totalidade pela autora. Os casos que apresentaram discordâncias entre os resultados foram submetidos a uma terceira avaliação pela citologista do Laboratório de Citologia da Universidade Federal do

Paraná. Quando a divergência persistiu, as lâminas foram revisadas, e, a partir de análise de consenso, em microscópio de 5 observadores, definiu-se o resultado final. As interpretações/resultados foram expressas conforme a Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais (BRASIL/MS, 2006) e baseadas em critérios do Sistema Bethesda 2001 (SOLOMON e NAYAR, 2005; IARC, 2009).

QUADRO 1 – COLORAÇÃO DE PAPANICOLOAU ADAPTADA

CUBA	REATIVO	TEMPO
1	Etanol a 80%	15 mergulhos
2	Etanol a 70%	15 mergulhos
3	Etanol a 50%	15 mergulhos
4	Água destilada	15 mergulhos
5	Hematoxilina de Harris	45 segundos
6	Água corrente	10 minutos
7	Etanol a 50%	15 mergulhos
8	Etanol a 70%	15 mergulhos
9	Etanol a 80%	15 mergulhos
10	Etanol a 100%	15 mergulhos
11	Orange G	90 segundos
12	Etanol a 100%	15 mergulhos
13	Etanol a100%	15 mergulhos
14	EA – 36	2 minutos
15	Etanol a100%	15 mergulhos
16	Etanol a100%	15 mergulhos
17	Etanol a100%	15 mergulhos
18	Xilol	15 mergulhos
19	Xilol	2 minutos

4.2.5 Análises biomoleculares

Todas as análises moleculares foram realizadas nas dependências do Laboratório Central do Estado (LACEN - PR) executados por experiente profissional e acompanhadas visualmente pela autora.

A técnica empregada no presente trabalho permite a detecção e amplificação de ácidos nucléicos em tempo real (NASBA) e a determinação qualitativa de mRNA E6/E7 de cinco tipos carcinogênicos de HPV, 16, 18, 31, 33 e 45 em amostras cérvico-vaginais. Utiliza um processo de amplificação com detecção simultânea de *beacons* moleculares, realizada na plataforma do aparelho Nuclisens Easy Q[®], com dois *primers* para cada sequência-alvo específica de RNA que determinam a especificidade da reação. A sensibilidade analítica do método é de 95% para amostras com concentração igual a $7,5 \times 10^4$ cópias de HPV RNA por ml. A reprodutibilidade clínica do teste, segundo o fabricante é de $p > 0,05$, teste de Fischer, e a reprodutibilidade e repetibilidade pelas análises estatísticas de Kappa e de Cohen são $> 0,8$.

Como se trata de uma metodologia de detecção de mRNA e não de DNA de HPV, ou seja, somente amostras que já tenham integrado o DNA viral no DNA celular serão detectadas. Isto tem grande valor clínico, pois a integração do DNA viral ao DNA celular implica na persistência da infecção por HPV e, pode conseqüentemente, evoluir à malignidade da lesão intraepitelial. Sobretudo é capaz de diferenciar e identificar 5 tipos de HPV com elevado potencial carcinogênico englobados no grupo de HPV de alto risco. Outros trabalhos têm relatado uma boa correlação clínica para esta metodologia (HOVLAND, S. *et al.*, 2005; KRAUS *et al.*, 2006).

4.2.5.1 Extração do DNA

A extração de material genético do vírus HPV foi realizada de forma automatizada seguindo a metodologia do equipamento Nuclisens Easy MAG (bioMérieux[®]).

Partiu-se de alíquotas de 200 μ l da solução de amostra em UCM (Digene-Brasil[®]), previamente congelada a -20°C e colocada em temperatura ambiente no momento da execução da extração, em câmara de fluxo laminar e em área

controlada, própria para extração. Estas alíquotas, devidamente identificados, foram transferidas para tubo contendo 2 ml de tampão de lise (Nuclisens Lyses Buffer[®]), previamente aquecidos a 37°C e homogeneizados. A solução contendo o tampão de lise e a amostra foi submetida à centrifugação durante 10 seg a 1500 x g e incubada por 10 min em temperatura ambiente, para posteriormente serem adicionadas à solução pré-mistura, preparada de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante, a partir do diluente pré-mistura e da solução de sílica magnética. As amostras acrescidas da solução pré-mistura de sílica foram colocadas no equipamento de extração (Easy MAG[®]) para incubação, lavagem, separação das partículas de sílica e eluição de 55 µl do extrato de material nucléico. Dentro de um período de 30 min após o término deste processamento, os extratos foram transferidos para tiras de microtubos de polietileno do aparelho Easy Q[®] para se proceder a amplificação. O material extraído que não foi utilizado para o processamento de amplificação foi levado a congelador a -20°C para conservação. O procedimento de extração está ilustrado de forma sistemática no Anexo V.

4.2.5.2 Reação de Amplificação e Detecção dos Ácidos Nucléicos

As amostras extraídas foram transferidas para uma área de amplificação do laboratório e centrifugadas a 10000 x g durante 15 seg, para dar início aos procedimentos de amplificação. Cada amostra foi testada para cada uma das soluções de reagente *primer probe* alvo-específicas (UA1/HPV16; HPV 18/31; HPV33/45), ou seja, três vezes. Para esta metodologia foi utilizado o equipamento Nuclisens Easy Q[®], previamente aquecido por 15 min, no qual, foi iniciada uma série de testes conforme instruções do fabricante no software Nuclisens Easy Q Director[®] e as amostras devidamente registradas.

Para o processamento de 30 reações, sendo 5 destinadas a reações de controle interno e 25 amostras, a enzima foi reconstituída, os *primers probe* preparados com os diluentes e água, fornecidos pelo kit reacional, conforme indicações do fabricante

Foram transferidos 5 µl de cada amostra de extração, 5 µl de água NASBA[®], utilizados como controle de série negativo (NC) e, 5 µl de cada controle de série positivo (PC) para os poços, nas posições indicadas pelo software Nuclisens Easy Q[®].

Em seguida adicionou-se 10 µl de solução de reagente de cada um dos *primer probe* utilizados para a investigação da presença de mRNA de HPV, aos poços, nas posições indicadas pelo software Nuclisens Easy Q[®]. O tabuleiro de poços foi colocado no Nuclisens Easy Q Incubator[®] por 2 min a 65°C e 2 min a 41°C, quando, paralelamente, foi adicionado à tampa dos tubos, virada para cima, 5 µl de enzima. Após a segunda etapa de incubação, os tubos foram tampados e transferidos para o Nuclisens Easy Q[®], para manutenção da temperatura de 41°C. O tabuleiro de poços foi então centrifugado durante 2 seg e homogeneizadas em vortex durante 1 seg por 2 vezes consecutivas. Centrifugou-se novamente por 2 seg e os poços foram recolocados no Nuclisens Easy Q Analyser[®] para o início da sequência de testes.

Após a conclusão da série de testes, retirou-se o tabuleiro de poços tiras do aparelho e os resultados foram calculados automaticamente pelo software Nuclisens Easy Q[®] com base nas curvas de fluorescência observadas. Este resultado foi verificado pelo enquadramento da curva e o tempo de início de aumento da fluorescência por alvo. Os resultados qualitativos para HPV foram determinados pela combinação dos resultados dos controles positivo, negativo e os resultados das 3 reações de cadeia dupla qualitativas. A interpretação destes resultados foi realizada considerando-se a validação da série e da amostra, para que então se determinasse o resultado final.

Todas as etapas referentes à amplificação estão sistematicamente ilustradas no Anexo VI.

4.2.6 Análise estatística dos resultados

Os resultados da citologia cérvico-vaginal pelo método de Papanicolaou foram comparados com as respostas do perfil sócio-econômico-comportamental ou entre as próprias lesões observadas. As diferenças nas proporções foram analisadas usando-se o teste Z da análise de resíduos padronizados em tabela de contingência, para o teste estatístico de hipótese nula (HABERMAN, 1973; PEREIRA, 1992). A significância estatística foi considerado para resíduos ajustados superior a 1,96 ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

O instrumento de avaliação aplicado às detentas da Penitenciária Feminina de Sant'Ana da cidade de São Paulo possibilitou estabelecer um levantamento de alguns dados clínicos e do perfil sócio-econômico-comportamental destas mulheres.

A grande maioria das mulheres, 70%, tinha idade inferior a 35 anos (Figura 11), relataram serem solteiras (53%) ou estarem amasiadas (20%), (Figura 12) sendo que 80% das mulheres entrevistadas declararam que já haviam tido filhos.

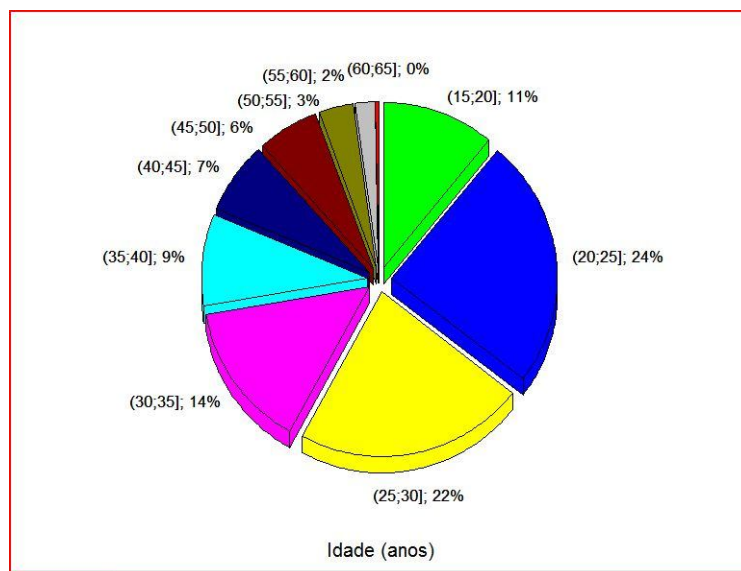


FIGURA 11. FAIXAS ETÁRIAS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

(X1; X2] – limites de classes para idade (limite superior incluído); N – 776

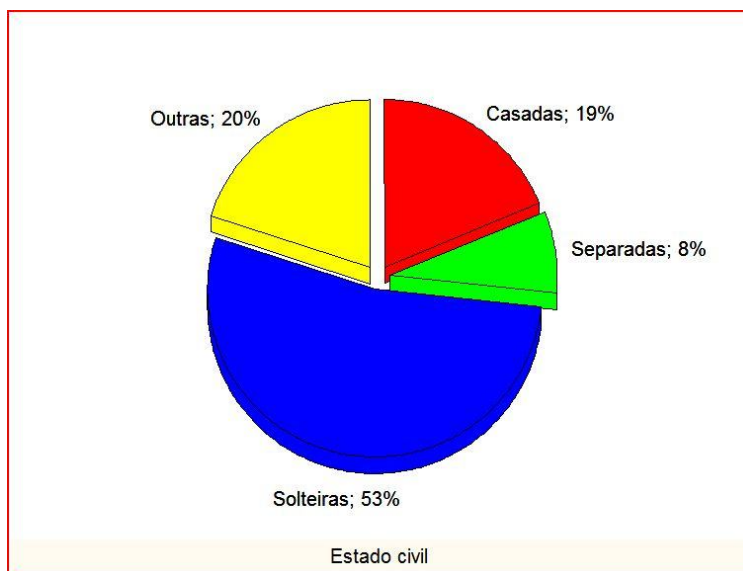


FIGURA 12. RELATO DO ESTADO CIVIL DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.
Tamanho amostral – 785

O relato do nível de escolaridade está descrito na Figura 13. Observou-se que 41% das mulheres estudaram entre 5ª a 8ª séries, 36% até o ensino médio e 16% estudaram entre 1ª e 4ª séries somente.

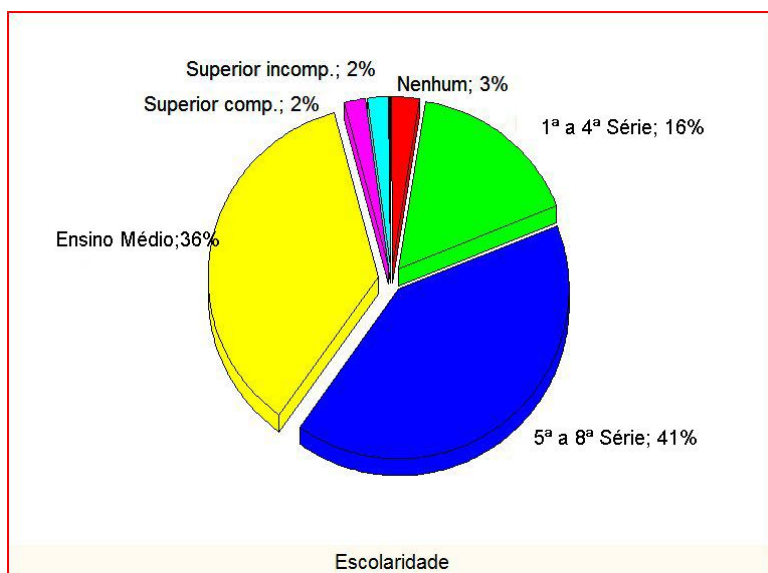


FIGURA 13. RELATO DO NÍVEL DE ESCOLARIDADE PELAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007 - 2008.
1ª a 4ª série– 1ª a 4ª série do ensino fundamental; 5ª a 8ª série- 5ª a 8ª série do ensino fundamental; Superior incomp. - Superior incompleto; Superior comp.- Superior completo; Tamanho amostral – 783

Com relação às condições sócio-econômicas das detentas, a grande maioria das mulheres (90%) relatou que contava com saneamento básico em seus domicílios antes da detenção. Observa-se na Figura 14, que 39% das mulheres tinham renda menor que 1 salário mínimo e 40%, entre 1 e 2 salários mínimos. Apenas 10% das mulheres possuíam renda superior a 5 salários.

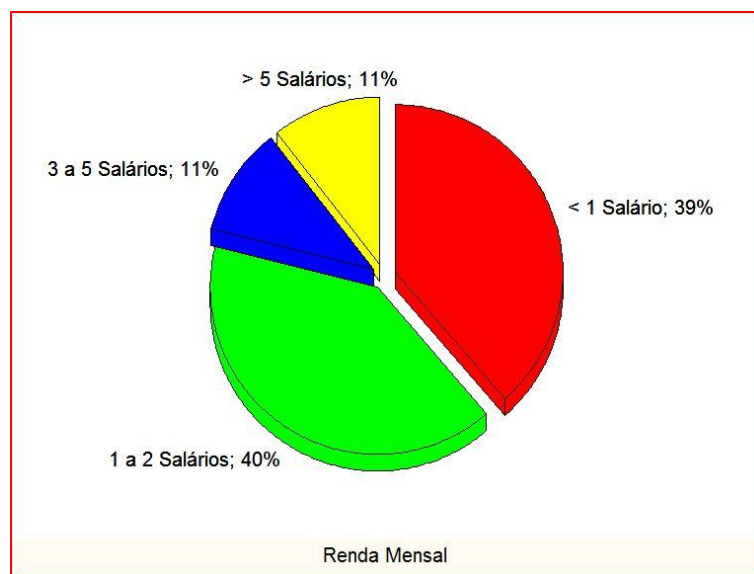


FIGURA 14. RELATO SOBRE FAIXAS SALARIAIS ANTERIOR À DETENÇÃO, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. <1 salário- menos de um salário mínimo; 1 a 2 salários- 1 a 2 salários mínimos; 3 a 5 salários- 3 a 5 salários mínimos; >5 salários- mais de 5 salários mínimos. Tamanho amostral - 719

Com relação aos hábitos e cuidados com a saúde, verificou-se que 86% das mulheres entrevistadas já haviam se submetido ao exame de Papanicolaou e, como ilustrado pela Figura 15, a maioria das detentas eram adeptas do tabagismo (66%), sendo que 35% fumavam intensamente (20 ou mais cigarros/dia) e 31% fumavam de forma moderada (menos de 20 cigarros/dia).

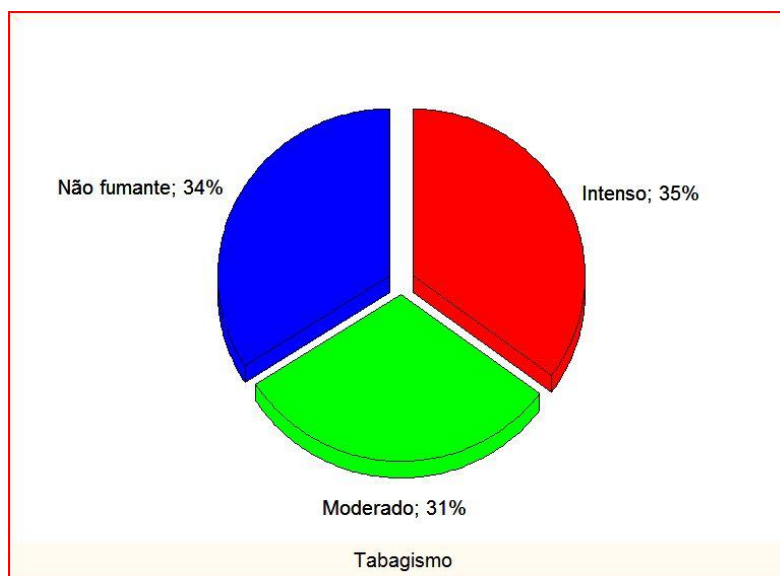


FIGURA 15. FREQUÊNCIA DO TABAGISMO ENTRE AS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. Tabagismo moderado – menos de 20 cigarros/dia; tabagismo intenso – 20 ou mais cigarros/dia. Tamanho amostral - 775

Em relação à idade de início da atividade sexual das detentas, a maioria das mulheres disse ter iniciado sua vida sexual na faixa etária que compreende 12 a 17 anos (73%), conforme ilustra a Figura 16. No que diz respeito ao número de parceiros sexuais durante a vida, 54% relataram ter tido de 2 a 5 parceiros e 22%, de 6 a 15 parceiros. É notável a observação de que 6% delas relataram mais que 30 parceiros e 5 %, mais que 100 parceiros (Figura 17). Pode-se observar na Figura 18, que a grande maioria das detentas (80%) relatou comportamento heterossexual; 14% confessaram-se bissexuais e somente 5% professaram o homossexualismo. Durante o confinamento, apenas 11% das mulheres afirmaram possuir parceiras internas e apenas 27% das detentas relataram sempre ter feito uso de preservativo durante o ato sexual; 50% somente às vezes; e 23% disseram nunca ter usado como demonstrado pela Figura 19.

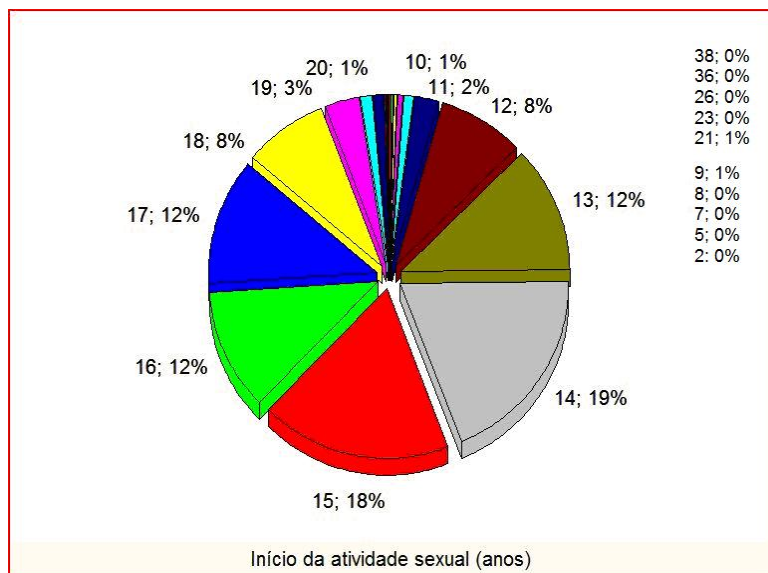


FIGURA 16. RELATO DA IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. 0% - menor que 1%. Tamanho amostral – 783.

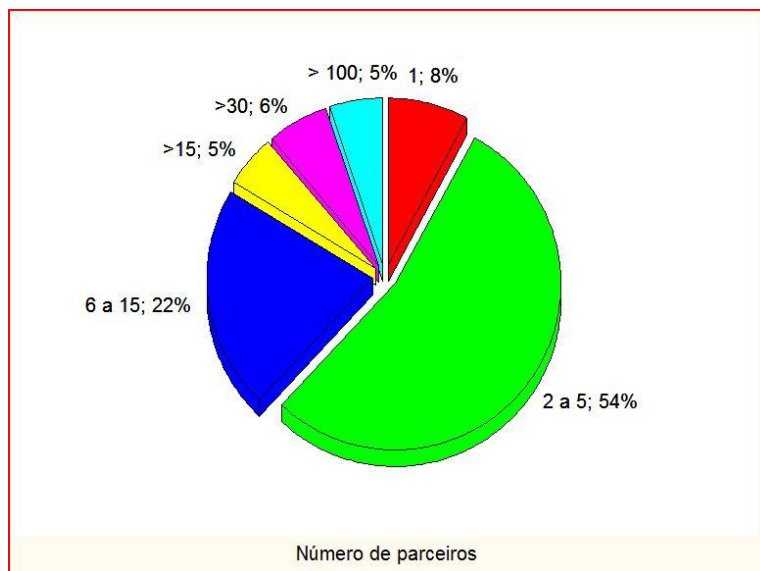


FIGURA 17. RELATO SOBRE O NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DURANTE A VIDA POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. Tamanho amostral – 785

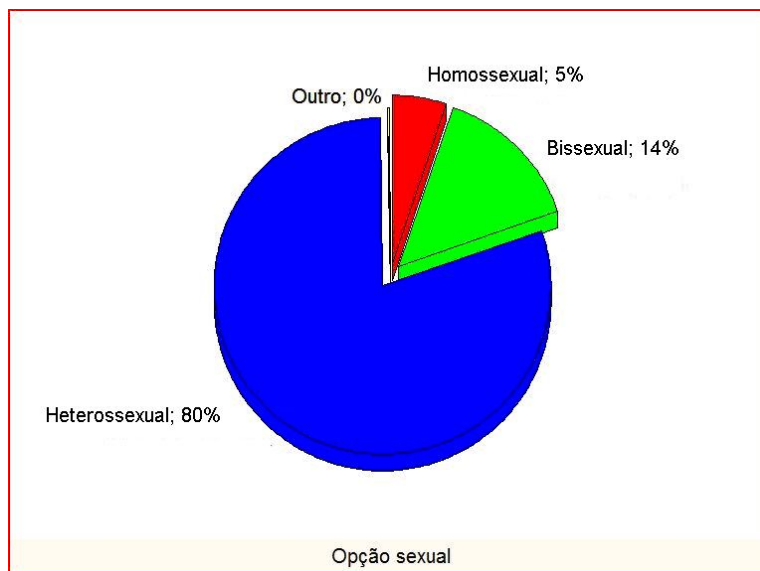


FIGURA 18. OPÇÃO SEXUAL RELATADA POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. Tamanho amostral - 784

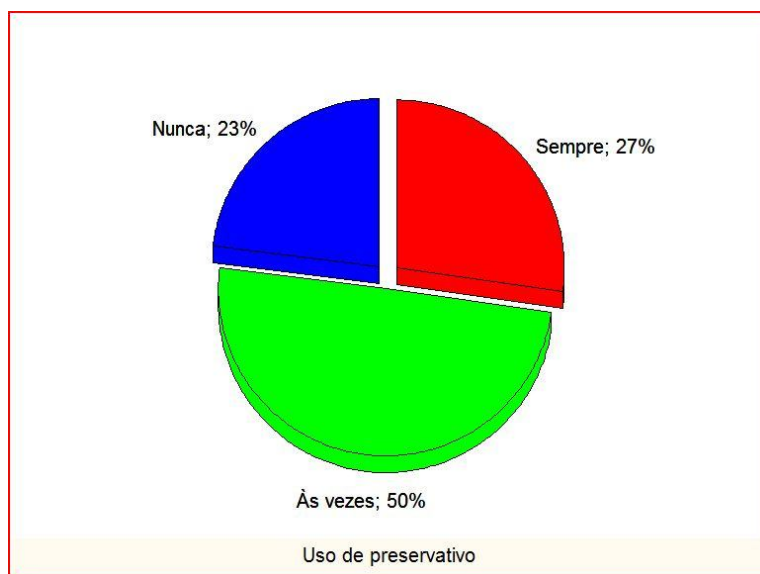


FIGURA 19. RELATO SOBRE O USO DE PRESERVATIVOS EM RELAÇÕES HETEROSSEXUAIS, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. Tamanho amostral - 784

As detentas foram questionadas sobre a ocorrência de aborto e 42% responderam que já tiveram aborto. Dentre este contingente, a maior frequência (60%) é de mulheres com um único aborto como ilustrado pela Figura 20.

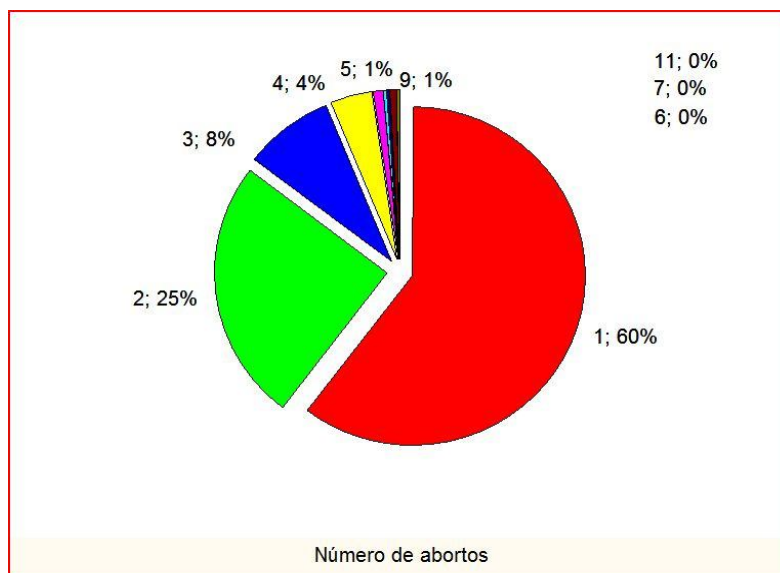


FIGURA 20. RELATO SOBRE NÚMERO DE ABORTOS ANTERIORES, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANTANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.
Tamanho amostral – 332

Em relação aos cuidados com a saúde sexual, 70% das internas relataram não estar com nenhuma DST. Dentre aquelas que afirmaram ter alguma queixa neste sentido, 3% não especificaram o motivo; 11% disseram estar com corrimento; 6% tinham conhecimento de terem sido infectadas por HPV em algum momento, e 2%, por HIV (Figura 21). Aproximadamente 60% das mulheres já haviam sido submetidas a algum tipo de tratamento para DST e, em relação a tratamento específico para neoplasias, somente 2% das detentas fizeram esta afirmação.

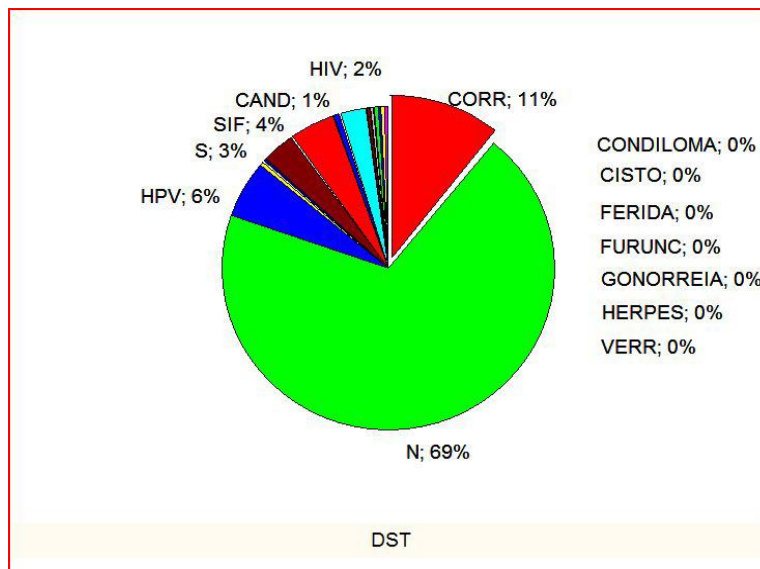


FIGURA 21. RELATO DE INTERCORRÊNCIAS ANTERIORES DE LESÕES OU SINAIS CLÍNICOS DE DST E DE SEUS AGENTES CAUSADORES CONHECIDOS, POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. HPV- Papilomavírus Humano; S- sem especificações; SIF – sífilis; CAND – Candida spp; HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana; CORR – corrimento; FURUNC- furúnculo; VERR – verruga; Tamanho amostral - 784

Quanto ao consumo de álcool antes do período de internamento, 57% das mulheres se declararam etilistas. Em relação ao uso de drogas, mais da metade das internas (56%) professaram ter feito uso de drogas, sendo maconha, cocaína e crack as mais frequentes. Somente em 3% das respostas foi revelado o uso de drogas injetáveis.

Com relação à adequabilidade, 34 amostras apresentaram alguma limitação em relação à sua adequação (5,5%), o que dificultou parcialmente as suas leituras. O fator prejudicial mais frequente foi má coloração (16 ocorrências). Quanto à celularidade, a maioria apresentou células do epitélio escamoso e glandular, incluindo células metaplásicas, conforme se observa na Tabela 1. Quase a totalidade das lâminas analisadas apresentou um padrão eutrófico, ou seja, representativo da funcionalidade dos hormônios femininos (não mostrado).

TABELA 1. ADEQUABILIDADE DAS AMOSTRAS CITÓLOGICAS CÉRVICO-VAGINAIS COLHIDAS DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008

Adequabilidade da amostra	N	%
Satisfatória	586	94,5
Celularidade		
escamoso	35	5,6
escamoso e glandular	15	2,4
escamoso e metaplásico	202	32,6
escamoso, metaplásico e glandular	368	59,4

As interpretações/resultados dos laudos obtidos com as amostras de material cérvico-vaginal das internas da Penitenciária Feminina de Sant'Ana, que foram emitidos de acordo com a Nomenclatura Brasileira para Laudos Citopatológicos Cervicais e conforme critérios descritos pelo Sistema Bethesda 2001, indicaram 529 amostras negativas para lesão intraepitelial ou malignidade (NILM), com alterações benignas como inflamação, reparação, metaplasia escamosa imatura, incluindo a presença de microrganismos e ou de seus efeitos citopáticos; e 78 casos positivos para anormalidades celulares. A proporção entre os resultados encontrados nas análises citológicas e o número de amostras analisadas está demonstrada na Tabela 2.

TABELA 2. FREQUÊNCIAS DOS RESULTADOS DOS EXAMES CITOLÓGICOS DAS AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Resultados do exame citológico	F	(%)
Negativo para malignidade	551	88,9
ASC-US	19	3,1
ASC-H	6	1
LSIL	32	5,2
HSIL	14	2,6
HSIL não se pode excluir microinvasão	1	0,2
AG-SOE	4	0,6
AG-NEO	2	0,3

ASC-US – células escamosas atípicas de significado indeterminado; ASC-H – células escamosas atípicas, não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau; LSIL - lesão intraepitelial de baixo grau; HSIL – lesão intraepitelial de alto grau; HSIL (MI) - lesão intraepitelial escamosa de alto grau, com características suspeitas de invasão; AG SOE – células glandulares atípicas sem outras especificações; AG NEO – células glandulares atípicas, provavelmente neoplásicas. f – frequência absoluta; f (%) – frequência relativa. Tamanho amostral – 620

Na Figura 22, comparando-se a interpretação/resultados das amostras com o grau de escolaridade das detentas, é possível observar que as mulheres que estudaram somente entre a 5ª e 8ª séries apresentaram maior percentual de atipias celulares (17%; $p=0,003$), enquanto aquelas que estudaram até o ensino médio revelaram maior quantidade de alterações benignas (77%; $p=0,003$) e menor percentual de atipias celulares (6%; $p=0,000$). Quando a interpretação e resultados das amostras foram comparados com a renda familiar antes da detenção, é possível visualizar na Figura 23 que a renda situada na faixa entre 1 a 2 salários mínimos apresentaram uma porcentagem menor de alterações benignas e maiores de atipias celulares (65 e 16%, respectivamente); enquanto as mulheres com renda equivalente a 3 a 5 salários mínimos apresentaram menor frequência relativa de atipias celulares (3%; $p=0,015$).

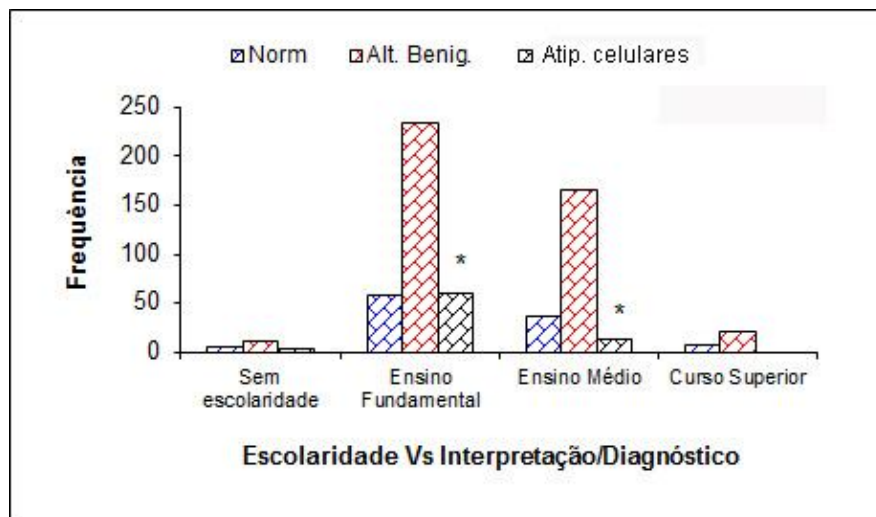


FIGURA 22. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU EM AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS RELACIONADOS COM O GRAU DE ESCOLARIDADE DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA Norm. – Dentro dos limites da normalidade; Alt.Benig – Alterações benignas; Atip.celulares Atipias celulares; * Ensino fundamental- maior % de Anorm Ep. ($p=0,006$); Ensino médio - menor % anormalidade epiteliais ($p=0,013$). Número de amostras 607

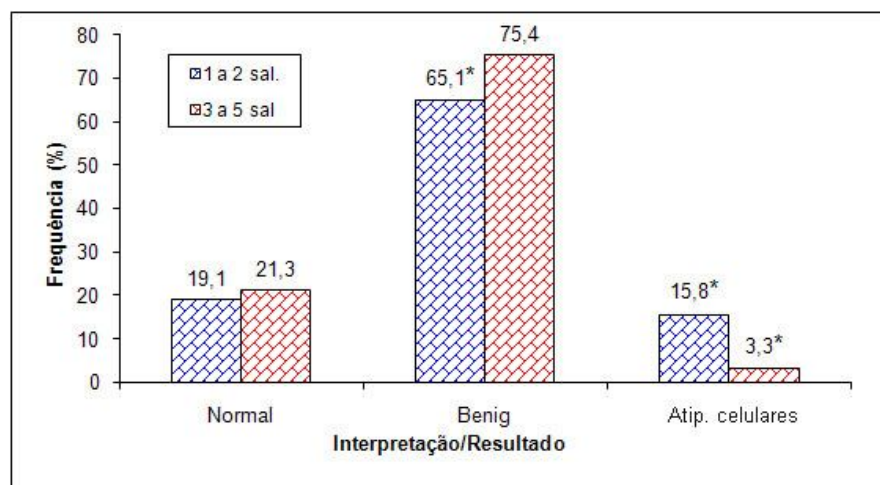


FIGURA 23. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO À FAIXA SALARIAL ANTES DO APRISIONAMENTO DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. Normal – Dentro dos limites da normalidade; Benig – Alterações benignas; Atip.celulares – Atipias celulares; 1 a 2 sal. – 1 a 2 salários mínimos, menor % de alt. benignas ($p=0,011$) e maior % anormalidade epiteliais ($p=0,010$); 3 a 5 sal. – 3 a 5 salários mínimos, menor % anormalidade epiteliais ($p=0,015$); Número de amostras 564

Com relação ao consumo de tabaco, quando se comparou a interpretação e resultado citológico das amostras cérvico-vaginais com o tabagismo, pode-se

observar que as mulheres que não tinham o vício do fumo apresentaram menor quantidade de casos de atipias celulares (7%; $p=0,001$) (Figura 24).

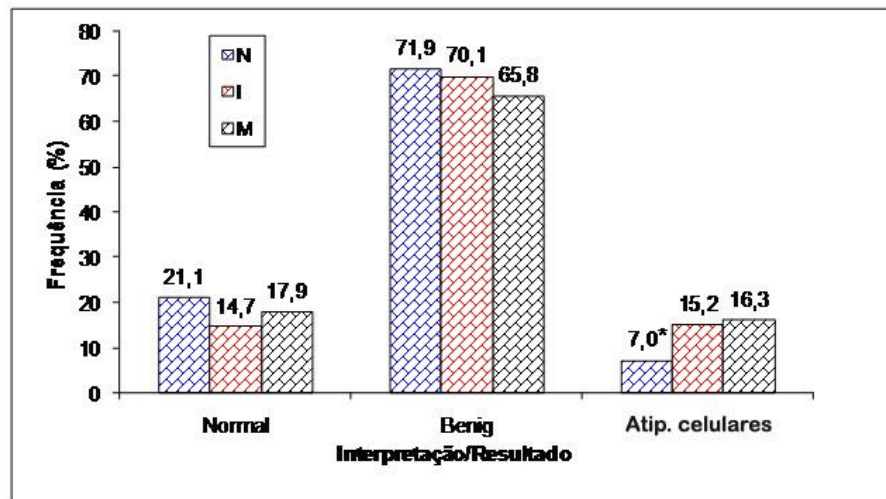


FIGURA 24. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO AO TABAGISMO DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Normal – Dentro dos limites da normalidade; Benig – Alterações benignas; Atip. celulares – Atipias celulares; N- Não fumante; I – tabagismo intenso, 20 ou mais cigarros/dia; M – tabagismo moderado, menos de 20 cigarros/dia; N - não fumante, menor % anormalidade epiteliais ($p=0,001$); Número de amostras - 587

Os achados resultantes da interpretação/resultados foram comparados com as idades em que as mulheres relataram ter iniciado sua atividade sexual e ilustrados na Figura 25 e Tabela 3. Na Figura 26, especial significância estatística, foi encontrada para as idades de 9 e 15 anos, onde se observou que as mulheres com IAS aos 9 anos apresentaram maior percentual de atipias celulares (50%; $p=0,013$), com igual proporção entre a ocorrência de LSIL e de HSIL; enquanto que as com IAS aos 15 anos mostraram maior porcentagem de alterações benignas (78%; $p=0,012$), em sua grande maioria, alterações relacionadas à inflamação.

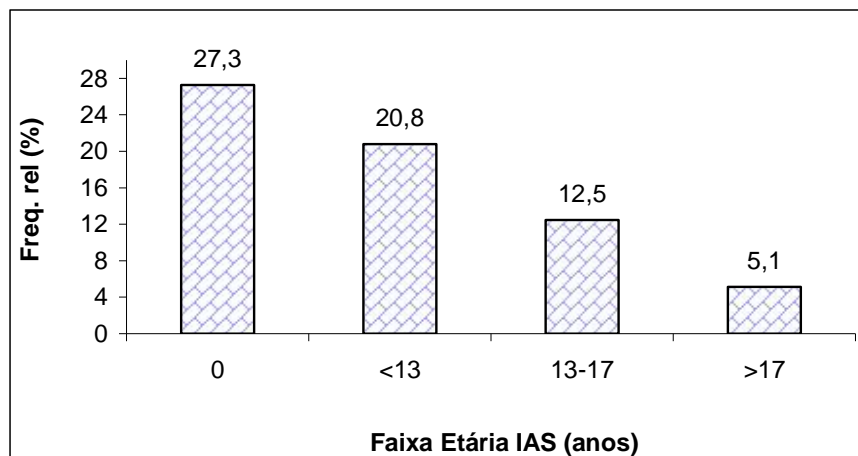


FIGURA 25. FREQUÊNCIA RELATIVA PARA AS ATIPIAS CELULARES EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL RELATADAS POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. A frequência relativa representa o percentual de atipias em relação ao total geral de amostras analisadas (n=607). IAS – Início da atividade sexual. 0 – Sem relato; <13 – 2 a 12 anos; >17 – 18 a 38 anos

TABELA 3. INTERPRETAÇÃO E RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL RELATADAS POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Faixa etária	Interpretação/Resultado			Total
	Normalidade	Alterações benignas	Atipias celulares	
0	1	7	3	11
13	13	48	16	77
13-17	75	311	55	441
>17	17	57	4	78
Total	106	423	78	607

0 – Sem relato; <13 – 2 a 12 anos; >17 – 18 a 38 anos

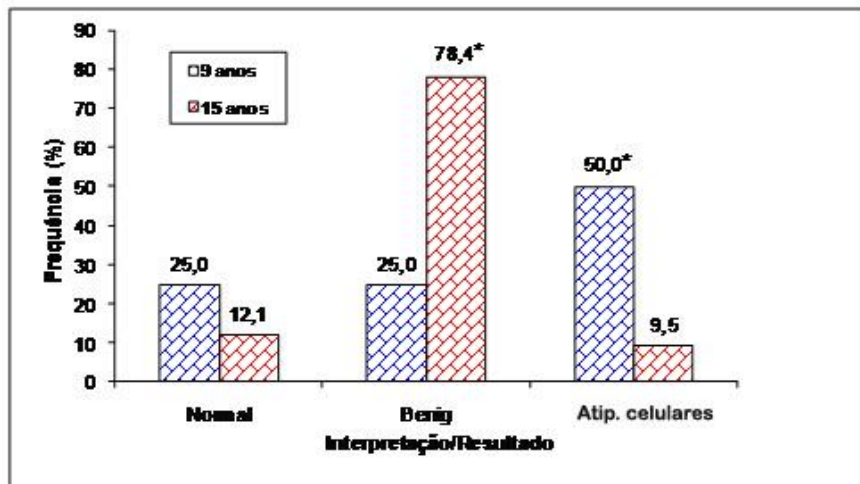


FIGURA 26. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL (IAS) DAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Norm. - Dentro dos limites da normalidade; Benig – Alterações benignas; Atip.celulares – Atipias celulares; IAS 9 anos - maior % de anormalidade epiteliais ($p=0,013$); IAS 15 anos - maior % alt. benignas ($p=0,012$). Número de amostras 586

Em relação ao número de parceiros, a Figura 27 ilustra que mulheres que informaram ter se relacionado com mais de 100 parceiros apresentaram maior índice de atipias celulares (29%; $p=0,002$) enquanto aquelas que tiveram um único parceiro apresentaram maior percentagem de ausência de malignidade (29%; $p=0,011$).

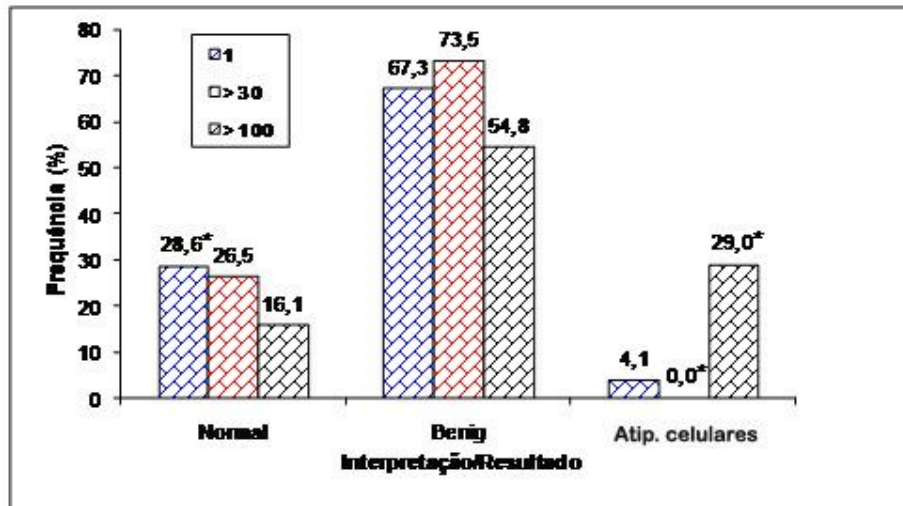


FIGURA 27. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO AO NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Norm. - Dentro dos limites da normalidade; Benig – Alterações benignas; Atip. celulares – Atipias celulares; 1- 1 parceiro; >30- mais de 30 parceiros; >100- mais de 100 parceiros; 1 parceiro - maior % normal ($p=0,018$); >30 parceiros - menor % anormalidade epiteliais ($p=0,011$); >100 parceiros - maior % anormalidade epiteliais ($p=0,002$). Número de amostras – 596

Maior incidência de atipias celulares foi observada em mulheres que sofreram abortos e menor incidência naquelas que nunca tiveram abortos (16,5%, $p=0,007$ e 10%, $p=0,007$) (Figura 28).

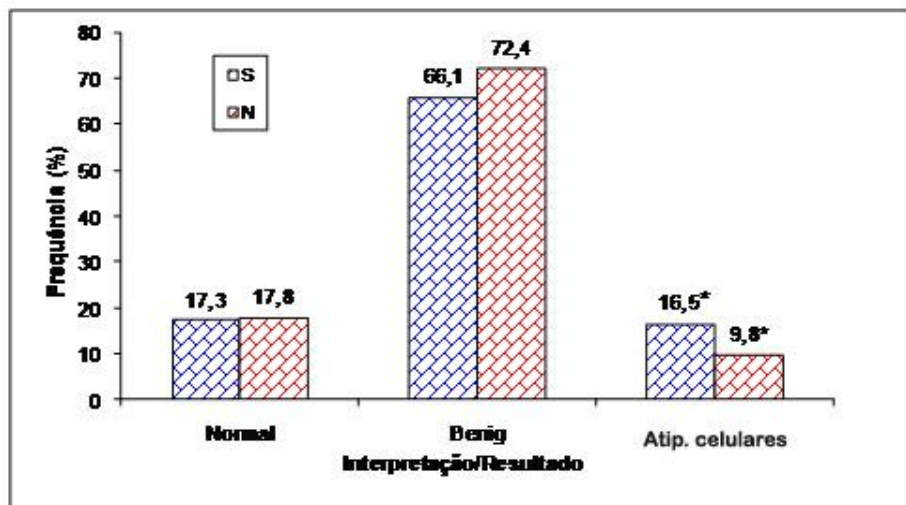


FIGURA 28. INTERPRETAÇÃO /RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO À OCORRÊNCIA DE ABORTOS RELATADA PELAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Normal - Dentro dos limites da normalidade; Benig – Alterações benignas; Atip. celulares – Atipias celulares; S- sim; N- não; sim - maior % atipias celulares ($p=0,007$) e não - menor % anormalidade epiteliais ($p=0,007$); Número de amostras – 596.

A Figura 29 ilustra que as mulheres que relataram ter infecção por HPV apresentaram maior percentagem de atipias celulares (31%, $p=0,000$) e as que informaram contaminação por HIV revelaram maior percentagem de atipias celulares (50%, $p=0,000$) e menor incidência de alterações benignas (42%, $p=0,015$).

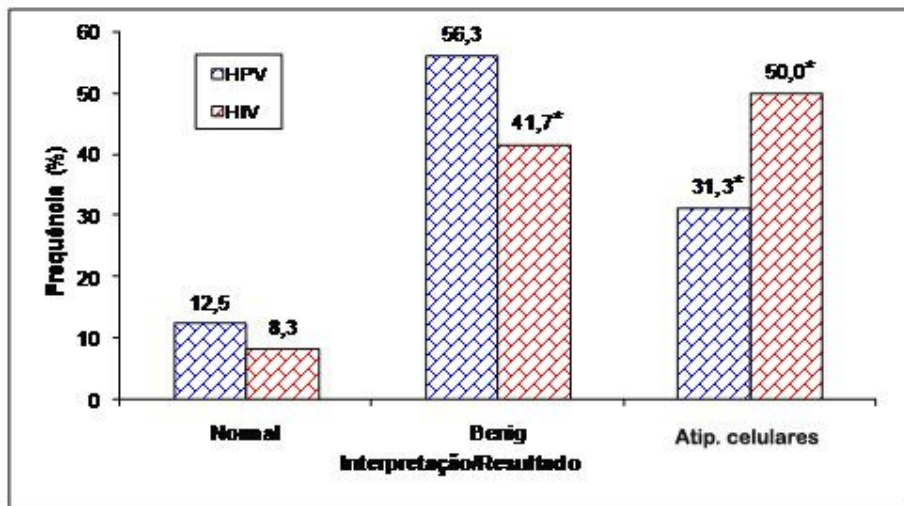


FIGURA 29. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS ENCONTRADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS DE CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL EM RELAÇÃO A RELATOS DE INFECÇÃO POR HPV E HIV DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Normal - Dentro dos limites da normalidade; Benig – Alterações benignas; Atip.celulares – Atipias celulares; HPV- Papilomavírus humano; HIV- Vírus da Imunodeficiência Humana; HPV - maior % de atipias celulares ($p=0,000$); HIV - menor % alt. benignas ($p=0,015$) e maior % anormalidade epiteliais ($p=0,000$); N – 572

A ocorrência de microrganismos verificada na realização do exame de Papanicolaou está ilustrada na Tabela 4. Os microrganismos mais prevalentes foram: *Lactobacillus sp* (20,6%), *Gardnerella/Mobiluncus* (23,7%), outros bacilos (20,3%) e concomitância entre bacilos e cocos (12%).

TABELA 4. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Microrganismos	f	f(%)
<i>Lactobacillus sp</i>	145	20,6
<i>Gardnerella vaginalis/Mobiluncus</i>	167	23,7
<i>Candida spp</i>	31	4,4
<i>Trichomonas vaginalis</i>	81	11,5
<i>Chlamydia sp</i>	12	1,7
Outros bacilos	143	20,3
Cocos	41	5,8
Bacilos e cocos	85	12
Total	705	100

f – frequência absoluta; f(%) – frequência relativa

Com alguma frequência, alguns microorganismos foram encontrados simultaneamente nas amostras. Na Tabela 5 pode-se observar a ocorrência de microorganismos de forma isolada e em suas associações mais frequentes.

TABELA 5. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS, ISOLADOS E EM ASSOCIAÇÃO, DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Microrganismos	f	f(%)
<i>Lactobacillus sp</i>	144	23
<i>Gardnerella/Mobiluncus</i>	122	20
Outros bacilos	126	20
Cocos	34	5
<i>Candida spp</i>	28	5
<i>Trichomonas vaginalis</i>	8	1
<i>Chlamydia sp</i>	4	1
Bacilos + cocos	75	12
Gard/Mobil + <i>Candida spp</i>	2	0
Gard/Mobil + Trichom	38	6
Gard/Mobil + Clam	2	0
Bacilos + Trichom	15	2
Cocos + Trichom	7	1
Gard/Mobil + Cand + Trichom	1	0
Gard/Mobil + Trichom + Clam	2	0
Bacilos + Trichom + Clam	1	0
Cocos + Trichom + Clam	1	0
Bacilos + cocos + Trichom	8	1
Bacilos + cocos + Clam	2	0
Total	620	100

Gard/Mobil- *Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus spp*; *Candida*- *Candida spp*;
Trichom- *Trichomonas vaginalis*; Clam- *Chlamydia sp*; f – frequência absoluta;
f(%) – frequência relativa

Mulheres com filhos e fumantes apresentaram maior prevalência de infecção por *Gardnerella vaginalis/Mobiluncus spp* em associação com *Trichomonas vaginalis*. As frequências observadas foram: 63% ($p=0,0026$) para mulheres com filhos e de 54% ($p=0,009$) para as fumantes (Figuras 30-31).

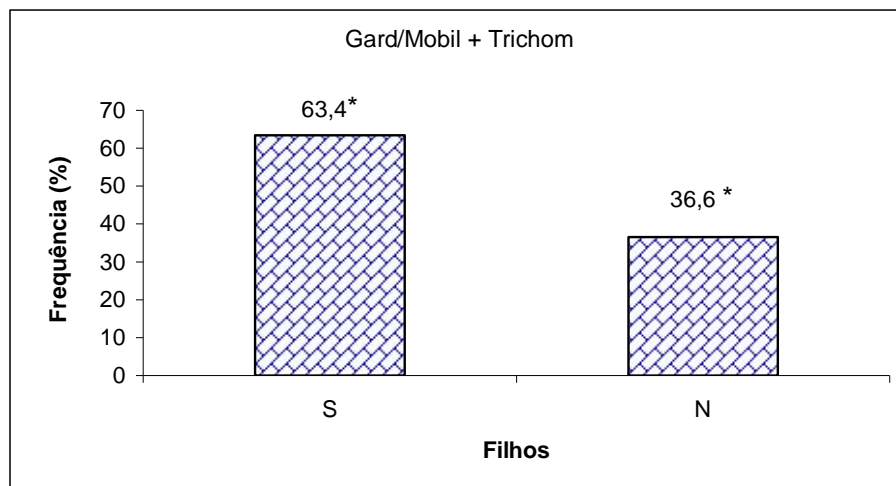


FIGURA 30. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *GARDNERELLA VAGINALIS* E/OU *MOBILUNCUS SPP* E *TRICHOMONAS VAGINALIS* DETECTADOS PELO EXAME DE PAPANICOLAOU NAS AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS EM RELAÇÃO À PARIDADE DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Gard/Mobil + Trichom – Gardnerella vaginalis e/ou Mobiluncus spp + Trichomonas vaginalis; S – com filhos; N – sem filhos; Maior percentagem em pacientes com filhos ($p=0,0026$); Número de amostras – 409

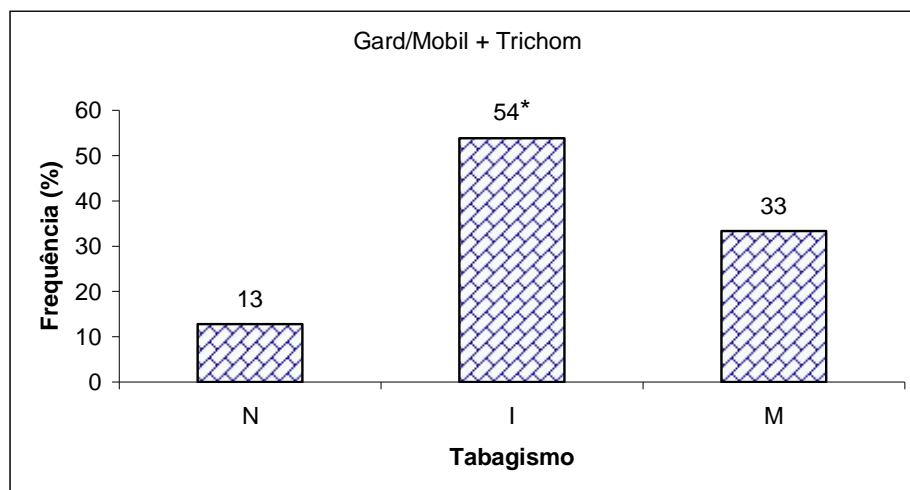


FIGURA 31. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *GARDNERELLA VAGINALIS* E/OU *MOBILUNCUS SPP* EM ASSOCIAÇÃO COM *TRICHOMONAS VAGINALIS* DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS EM RELAÇÃO AO TABAGISMO DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

N- não fumante; I – tabagismo intenso, 20 ou mais cigarros/dia; M – tabagismo moderado, menos de 20 cigarros/dia; Gard/Mobil + Trichom – Gardnerella vaginalis e/ou Mobiluncus spp + Trichomonas vaginalis;*. Tabagismo intenso com % maior ($p=0,009$); N -368

A Figura 32 ilustra que as mulheres que não relataram queixas clínicas apresentaram em maior porcentagem de casos a presença de *Lactobacillus sp* ($p=0,010$); *Candida spp* ($p=0,001$) e *Trichomonas vaginalis* ($p=0,013$), enquanto as que informaram a presença de corrimento, apresentaram maior porcentagem de casos de presença de microrganismos morfológicamente consistentes com *Candida spp* e *Lactobacillus sp* e menor índice de ocorrência de *Trichomonas vaginalis* (respectivamente $p=0,000$, $0,017$ e $0,003$).

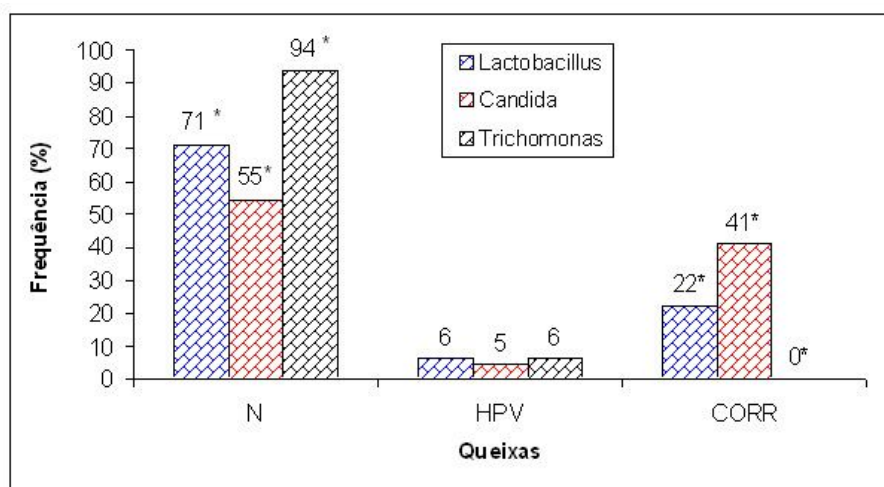


FIGURA 32. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *LACTOBACILLUS SP*, *CANDIDA SPP* E *TRICHOMONAS VAGINALIS* DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS EM RELAÇÃO ÀS QUEIXAS RELATADAS PELAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Lactobacillus- *Lactobacillus sp*; Candida- *Candida spp*; Trichomonas – *Trichomonas vaginalis*; N – sem queixas; HPV- Papilomavírus humano; CORR – corrimento Sem queixas com maior % ocorrências (*Lactobacillus*, $p=0,010$; *Candida*, $p=0,001$; *Trichomonas*, $p=0,013$); Queixa de corrimento - maior % de *Candida* ($p=0,000$) e *Lactobacillus* ($p=0,017$); e menor ocorrência de *Trichomonas* ($p=0,003$); N – 316.

Os microrganismos mais frequentemente encontrados no material cérvico-vaginal das detentas que relataram IAS aos 13 anos foram *Gardnerella vaginalis* e ou *Mobiluncus spp* (16%, $p=0,013$), enquanto as que relataram IAS aos 18 anos apresentaram maior proporção de *Lactobacillus sp* (14%, $p=0,008$) (Figura 33).

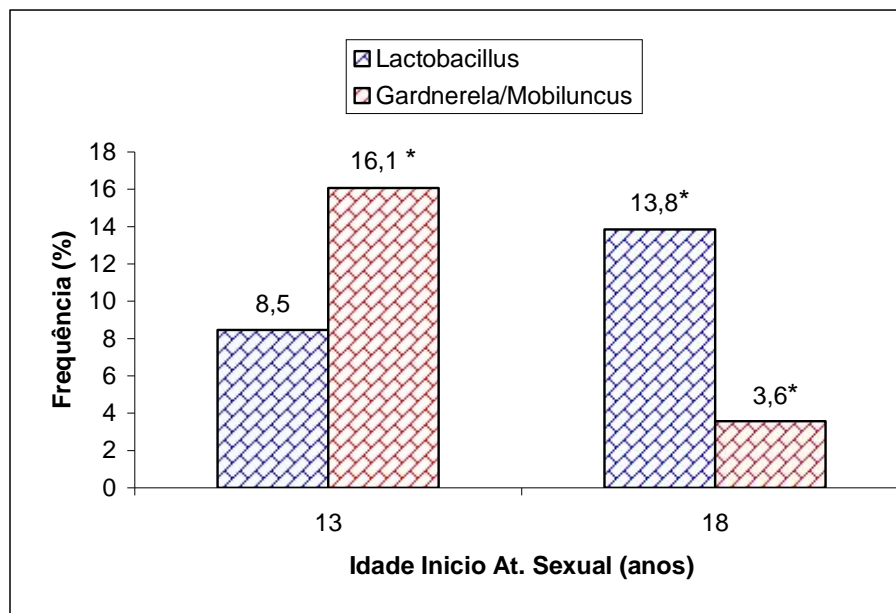


FIGURA 33. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *LACTOBACILLUS SP*, E DE *GARDNERELLA VAGINALIS E/OU MOBILUNCUS SPP* EM RELAÇÃO À IDADE DE INÍCIO DA ATIVIDADE SEXUAL (IAS) DETECTADOS NO EXAME DE PÁPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANTANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

Lactobacillus – *Lactobacillus sp*; Gardnerella/Mobiluncus – *Gardnerella vaginalis e/ou Mobiluncus spp* IAS aos 13 anos com maior % ocorrências de Gard/Mobilun ($p=0,013$); e 18 anos – maior % de *Lactobacillus sp* ($p=0,008$) e menor % de Gard/Mobilun ($p=0,004$); N - 302.

Foi observado que, mulheres que tiveram um único parceiro se apresentaram, relativamente em maior porcentagem, com presença de *Lactobacillus sp* (13%; $p=0,016$), enquanto mulheres com mais de 15 parceiros sexuais se apresentaram, em maior percentual, com *Trichomonas vaginalis* (13%; $p=0,018$). Estes dados estão ilustrados na Figura 34.

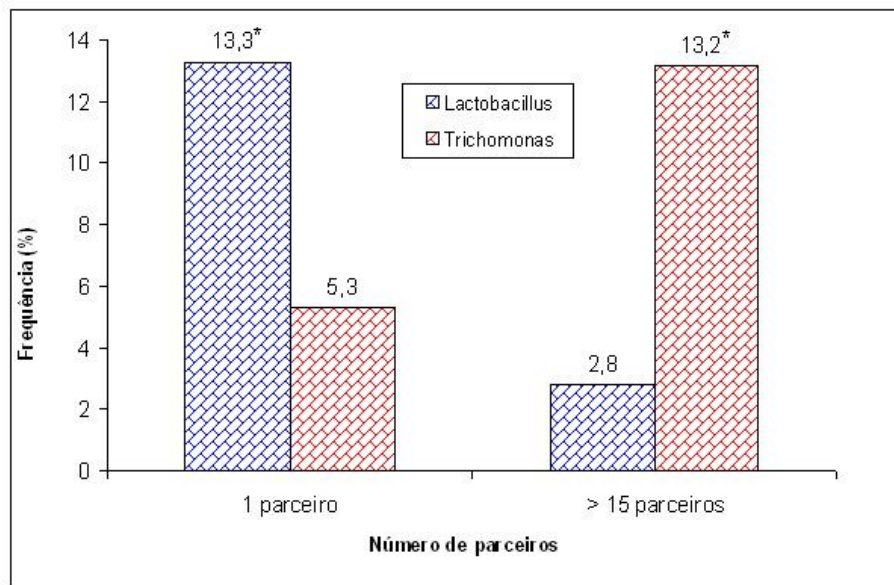


FIGURA 34. OCORRÊNCIA DE MICRORGANISMOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *LACTOBACILLUS SP.*, E *TRICHOMONAS VAGINALIS* EM RELAÇÃO AO RELATO DE APENAS UM OU DE MAIS DE 15 PARCEIROS SEXUAIS, DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

1 parceiro - maior % de amostras com *Lactobacillus sp* ($p=0,016$); >15 parceiros- mais de 15 parceiros; >15 parceiros - maior % de amostras com *Trichomonas vaginalis* ($p=0,018$); N=368

A Figura 35 mostra a presença de microrganismos em relação à interpretação/resultados, no que se referem à normalidade, alterações consideradas benignas e ocorrência de atipias celulares encontrados no exame de Papanicolaou. Os resultados dentro dos limites da normalidade mostraram baixa frequência de microrganismos exceto para *Lactobacillus sp.* Alterações consideradas benignas, ou seja, amostras negativas para lesão intraepitelial ou malignidade (NILM) mostraram alta frequência de microrganismos, com exceção de *Lactobacillus sp* e *Chlamydia trachomatis*. Atipias celulares apresentaram maior frequência de *Gardnerella vaginalis* e ou *Mobiluncus spp* e *Chlamydia trachomatis*. Todos os resultados foram estatisticamente significativos ($p<0,05$).

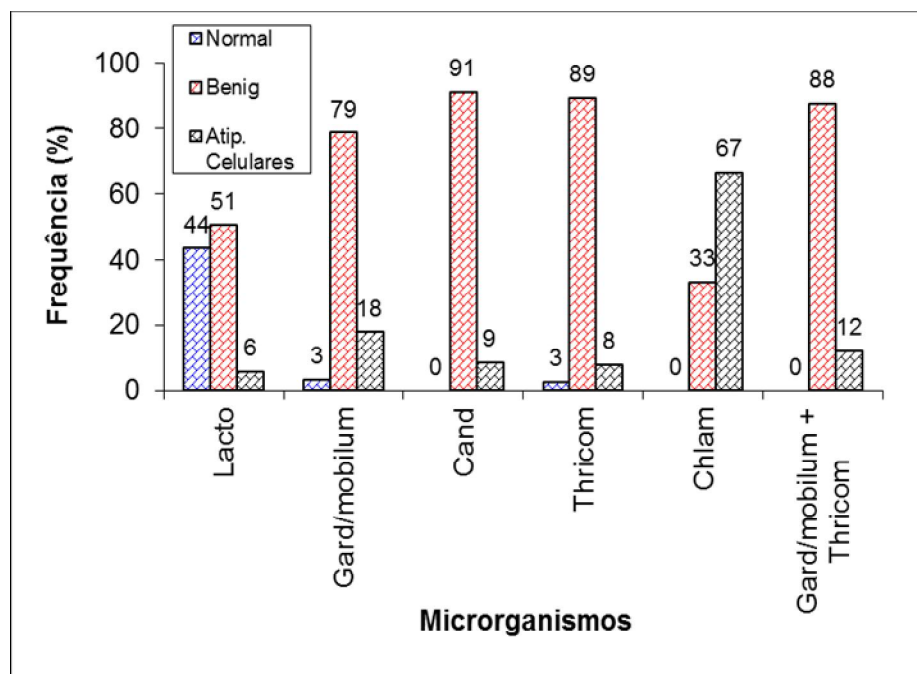


FIGURA 35. INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE MICRORGANISMOS OU DE SEUS EFEITOS CITOPÁTICOS ESPECÍFICOS, DETECTADOS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANTANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. Lacto – Lactobacillus sp; Gard/Mobilun – Gardnerella vaginalis e/ou Mobiluncus spp ; Cand- Candida spp ; Trichom – Trichomonas vaginalis; Clam – Chlamydia trachomatis; Normal – Baixa frequência de microrganismos, exceto para Lactobacillus sp; Benig -Alterações benignas - alta frequência de microrganismos, com exceção de Lactobacillus sp e Chlamydia trachomatis, Atip. celulares - Atipias celulares – maior frequência de Gardnerella vaginalis e ou Mobiluncus spp e de Chlamydia trachomatis. Resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$). N = 371

Os casos de atipias celulares perfizeram um percentual de 13%, como anteriormente mostrado na Tabela 2. Dentre os 78 casos de atipias celulares, 72 tiveram como origem o epitélio escamoso e 6, o epitélio glandular. Dentre as escamosas, as mais frequentes foram LSIL 45 %, ASC-US, 27%, e HSIL 19% conforme a Figura 36. Na Figura 37, é possível observar as anormalidades em células glandulares com maior proporção para AG-SOE (67%) e na Tabela 6 os microrganismos mais frequentemente encontrados em amostras com atipias celulares.

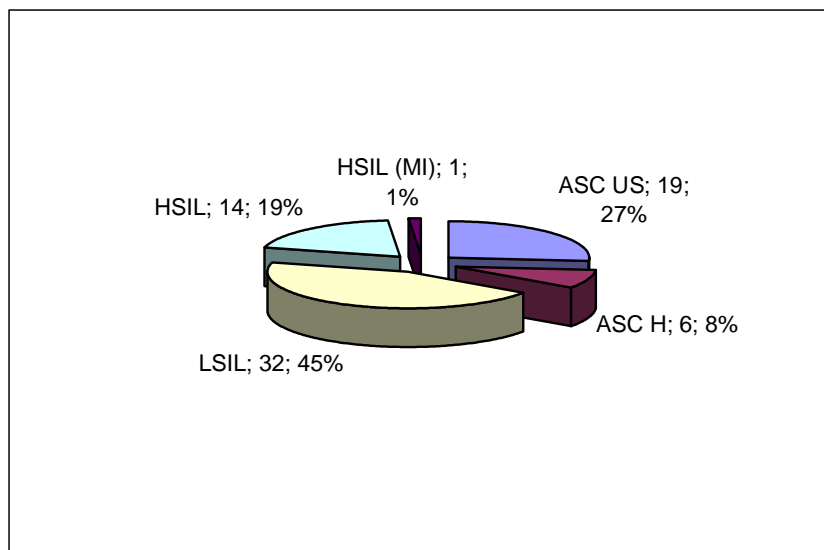


FIGURA 36. OCORRÊNCIA DE ATIPIAS CELULARES ESCAMOSAS DETECTADAS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

ASC-US – células escamosas atípicas de significado indeterminado; ASC H – células escamosas atípicas, não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau; LSIL - lesão intraepitelial de baixo grau; HSIL – lesão intraepitelial de alto grau; HSIL (MI) - lesão intraepitelial escamosa de alto grau, com características suspeitas de invasão; Tamanho amostral – 72

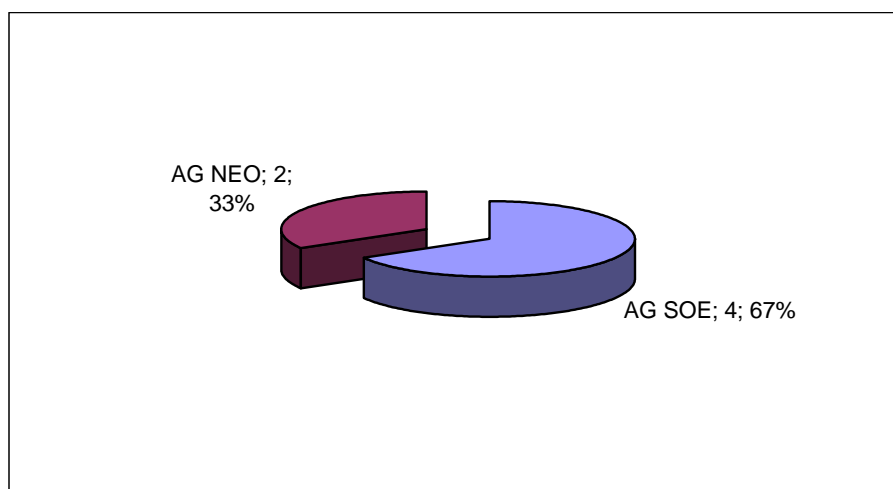


FIGURA 37. OCORRÊNCIA DE ATIPIAS CELULARES GLANDULARES DETECTADAS NO EXAME DE PAPANICOLAOU DE AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DE DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

AG SOE – células glandulares atípicas sem outras especificações; AG NEO – células glandulares atípicas, provavelmente neoplásicas; Tamanho amostral – 6

A frequência de microorganismos encontrados no exame de Papanicolaou nas amostras com atipias celulares está ilustrada na Tabela 6. Dentre os microorganismos associados com infecção, a vaginose bacteriana foi o achado mais

frequente, em 32,9% dos casos, seguida por *Trichomonas vaginalis* (10,2%) e *Chlamydia sp* (6,4%).

TABELA 6. FREQUÊNCIA RELATIVA (%) DE MICRORGANISMOS ENCONTRADOS NAS OCORRÊNCIAS GERAIS DE RESULTADOS DE ATIPIAS CELULARES

Microrganismos	ASC-US	ASC-H	AG SOE	AG NEO	LSIL	HSIL	HSIL MI	f (%) TOTAL
<i>Lactobacillus sp</i>	3,8	0	0	0	3,8	2,5	0	10,1
<i>Gardnerella vaginalis/ Mobiluncus spp</i>	6,3	1,3	0	2,5	16,5	6,3	0	32,9
Outros bacilos	5,1	2,5	1,3	0	8,9	6,3	0	24,1
Cocos	0	1,3	2,5	0	2,5	1,3	0	7,6
<i>Candida spp</i>	1,3	0	0	0	1,3	0	0	2,6
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,3	1,3	0	0	3,8	3,8	0	10,2
<i>Chlamydia sp</i>	1,3	1,3	0	0	3,8	0	0	6,4
Bacilos + cocos	6,3	0	1,3	0	7,6	1,3	1,3	17,8

ASC-US – células escamosas atípicas de significado indeterminado; ASC H – células escamosas atípicas; não se pode excluir lesão intraepitelial de alto grau; LSIL - lesão intraepitelial de baixo grau; HSIL – lesão intraepitelial de alto grau; HSIL (MI) - lesão intraepitelial escamosa de alto grau, com características suspeitas de invasão; AG SOE – células glandulares atípicas sem outras especificações; AG NEO – células glandulares atípicas, provavelmente neoplásicas.

Tamanho amostral – 79

No que diz respeito à pesquisa de HPV, foram analisadas 24 amostras pelo teste Nuclisens Easy Q HPV v.1[®], para pesquisa de mRNA E6/7 viral encontrados nos tipos 16, 18, 31, 33 e 45. Dez amostras apresentaram resultados positivos (Figura 38). Os resultados desta análise estão ilustrados na Tabela 7 e os tipos de HPV mais prevalentes são mostrados na Figura 39. Na Tabela 8, estão correlacionados os resultados para HPV, a interpretação e resultados encontrados na análise citológica e os relatos feitos pelas prisioneiras. Em pergunta feita às detentas sobre terem positividade para HPV ou HIV, das que o negaram, menos de 20% apresentaram positividade no exame, das que relataram já terem tido infecção por HPV, apenas um terço tiveram positividade, mas 100% das que disseram ser portadoras de HIV tiveram positividade para HPV.

TABELA 7. RESULTADOS POSITIVOS PARA mRNA E6/E7 NO TESTE NUCLISENS EASY Q HPV V1[®] ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS DAS INTERNAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2008.

Resultados para HPV	F	f(%)
16	4	40
18	1	10
31	1	10
33	1	10
16/31	1	10
45/33	1	10
16/45/33	1	10
Total	10	100

F– Frequência absoluta; f - Frequência relativa

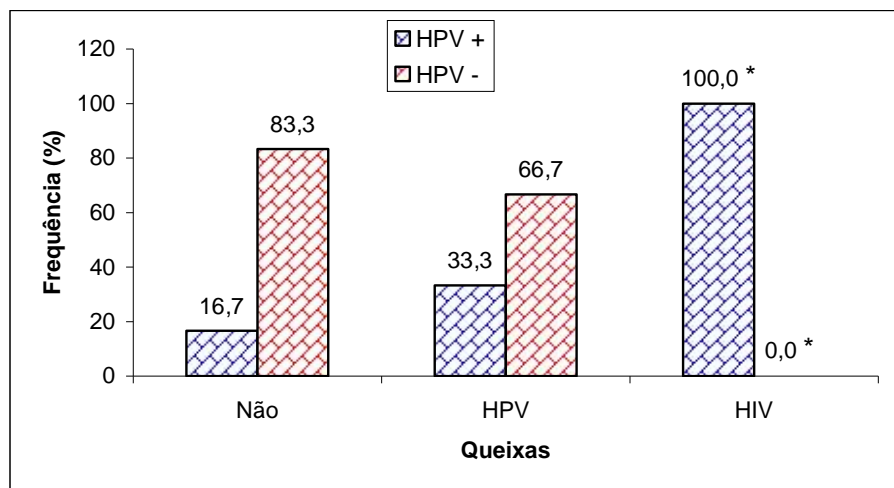


FIGURA 38. RESULTADOS PARA mRNA E6/E7 DE PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) EM AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS PELO TESTE NUCLISENS EASY Q HPV V.1[®] EM RELAÇÃO A RELATOS DE INFECÇÃO POR HPV E POR HIV POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008.

HPV +: presença de RNAm E6/E7 de HPV; HPV -: ausência de RNAm E6/E7 de HPV; HPV-relatos de infecção por HPV; HIV – relatos de infecção por HIV- e % maior de HPV + (p=0,010).

TABELA 8. RELAÇÃO ENTRE INTERPRETAÇÃO/RESULTADO, QUEIXAS E/OU SINTOMAS RELATADOS PELAS DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA E OS RESULTADOS DE mRNA E6/E7 TESTE NUCLISENS EASY Q® PARA HPV

CASO	QUEIXA / SINTOMA	RESULTADO CITOLOGIA	RESULTADO HPV
791	Ferida	LSIL	(+) HPV 16
481	-	LSIL	(+) HPV 16
708	HPV	LSIL	(+) HPV 16
795	HIV	LSIL	(+) HPV 16
706	HPV	LSIL	(+) HPV 16;31
707*	HPV e HIV	HSIL	(+) HPV 16;33;45
797	-	HSIL	(+) HPV 18
782	HPV/Verruga	ASC-H	(+) HPV 31
488	HPV e HIV Cauterização	LSIL	(+) HPV 33
496*	HPV e HIV Cauterização	HSIL/AG SOE	(+) HPV 33;45
796	Cauterizou HPV	Alt. Bem.	(-) HPV
789	Cauterização	ASC-US	(-) HPV
787	HPV	LSIL	(-) HPV
762	HSIL/Cauterização	Alt. Ben.	(-) HPV
769	-	Alt. Ben.	(-) HPV
497	-	ASC-US	(-) HPV
777	Cauterização	ASC-US	(-) HPV
778	Cauterização	Alt. Ben.	(-) HPV
784	LSIL	LSIL	(-) HPV
785**	Cauterização não feita	HSIL	(-) HPV
709	HPV	ASC-US	(-) HPV
705**	HPV	LSIL	(-) HPV
771	LSIL Cauterização	Alt. Ben.	(-) HPV
484	HPV	Alt. Ben.	(-) HPV
798	-	ASC-US	(-) HPV

HPV – Papilomavírus humano; HIV – vírus da imunodeficiência humana; ASC-US – células escamosas atípicas de significado indeterminado; ASC-H – células escamosas atípicas; não se pode afastar lesão intraepitelial de alto grau; LSIL - lesão intraepitelial de baixo grau; HSIL – lesão intraepitelial de alto grau; AG SOE – células glandulares atípicas sem outras especificações; Alt. Ben. – Alterações benignas. *mesma paciente, intervalo de 3 meses entre as coletas.

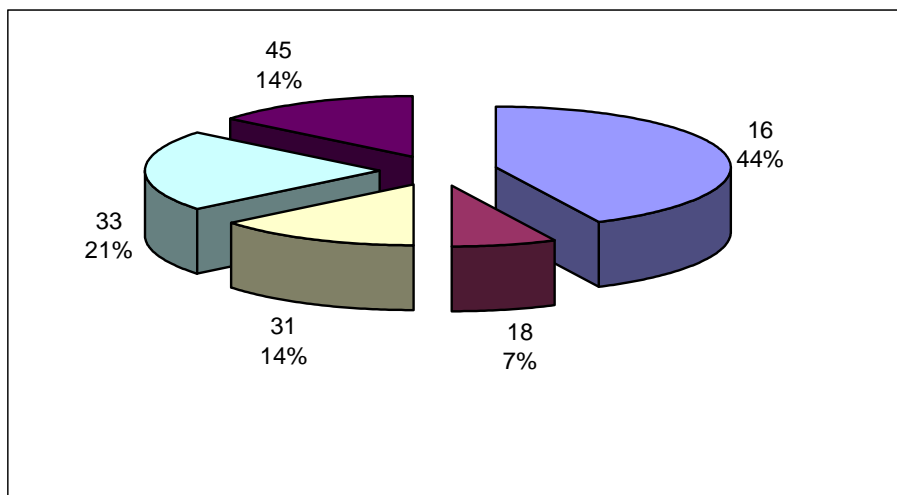


FIGURA 39. RESULTADOS PARA mRNA E6/E7 DE PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) EM AMOSTRAS CÉRVICO-VAGINAIS PELO TESTE NUCLISENS EASY Q HPV V.1[®] EM RELAÇÃO A RELATOS DE INFECÇÃO POR HPV E POR HIV POR DETENTAS DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA, SÃO PAULO - SP, 2007-2008. 16 – HPV tipo 16; 18 – HPV tipo 18; 31 – HPV tipo 31; 33 – HPV tipo 33; 45 – HPV tipo 45; N = 24.

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

O carcinoma cervical é uma doença exaustivamente estudada e cuja incidência e índices de mortalidade já foram drasticamente reduzidos em países desenvolvidos (IARC, 2004). No entanto, infelizmente, ainda há muitos países nos quais, por falta de investimentos e de programas sociais em educação e saúde adequados, o número de casos e a mortalidade por carcinoma cervical continuam assustadoramente elevados, como é o caso do Brasil (BRASIL, 2009).

A partir do desenvolvimento de lesões intraepiteliais cervicais, em etapas bem definidas e lentas, o carcinoma invasivo pode ocorrer após uma a duas décadas, mas o câncer cervical, e mesmo suas lesões precursoras, podem ser curados após um diagnóstico precoce e tratamento oportuno, os quais são economicamente viáveis, mesmo para países do terceiro mundo. A sua prevenção, indiscutivelmente, depende do rastreamento de lesões na população sintomática e assintomática (De ROSSI *et al.*, 2001). Em relação às DST, a realidade brasileira e de outros países em desenvolvimento é igualmente muito grave, indicando que a falta de conscientização da população, bem como as deficiências na estrutura, na formação de recursos humanos e no investimento em programas efetivos, são responsáveis pela disseminação de diversos patógenos. A incidência das outras DST em geral pode oportunizar também a infecção pelo HPV, considerado o principal fator de risco para o desenvolvimento de câncer cervical (COELHO *et al.*, 2008).

As campanhas de prevenção e/ou detecção precoce dessa patologia no Brasil não têm sido bem sucedidas, sabendo-se que esse tipo de câncer continua a se constituir em séria ameaça para a população feminina brasileira. Diversas causas podem ser pontuadas, como a dificuldade em acessar os serviços de saúde para a realização do exame de Papanicolaou, a demanda reprimida, a falta de oportunidade que a mulher tem para falar sobre si e sua sexualidade, como também, pelo desconhecimento sobre o câncer ginecológico, acrescido de tabus e idéias preconceituosas sobre a mulher (DAVIM *et al.*, 2005; BRASIL, 2008/2009).

A literatura mostra uma íntima relação entre o câncer de colo de útero, o comportamento sexual das mulheres e a transmissão de agentes infecciosos. A OMS assinala os fatores socioambientais e hábitos de vida como os de maior relevância para a incidência desta doença. Destacando-se as baixas condições

socioeconômicas, início precoce da atividade sexual, multiplicidade de parceiros, tabagismo, condições de higiene precárias e uso prolongado de contraceptivos orais, a história progressiva de DST e, de grande significância, exposição ao HPV, o qual está presente em 99,7% dos casos de câncer de colo uterino. (DAVIM *et al.*, 2005; BOSCH *et al.*, 2006; STEBEN e DUARTE-FRANCO, 2007).

As DST estão entre as dez causas mais comuns de queixas clínicas entre jovens de países em desenvolvimento e são a segunda maior causa entre mulheres jovens em todo o mundo (Da ROS e SCHMITT, 2008). Nos EUA, adolescentes e adultos jovens são apenas 25% da população sexualmente ativa, mas são portadores de quase 50% dos novos casos de DST, sendo que 88% dos casos de tricomoníase, clamidíase e infecções por HPV são entre jovens de 18 a 24 anos (BERMAN e CATES JR; 2004).

As populações menos favorecidas e excluídas são as mais vulneráveis ao desenvolvimento destas doenças, uma vez que tem menos acesso a serviços sociais básicos como educação e programas de saúde. Dentre estas, a população prisional está entre as que sofrem maior descaso por parte das autoridades e, em geral, seus indivíduos são advindos de comunidades também desassistidas (MILLER *et al.*, 2001).

Existem estudos que indicam que os índices de DST e de anormalidades citológicas cervicais são superiores em mulheres encarceradas em relação à população em geral. Desta forma, pode-se supor que o estudo de populações femininas prisionais possa auxiliar no esclarecimento da cadeia epidemiológica de doenças sexualmente transmissíveis e do câncer cervical (SIMBULAN *et al.*, 2001; PROCA *et al.*, 2006).

Neste sentido, optou-se por estudar a prevalência de DST e de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas em um grande presídio na cidade de São Paulo, procurando relacioná-la com possíveis fatores de risco e com o estudo da presença de alguns tipos oncogênicos de HPV. Como instrumento de trabalho, empregou-se o exame citológico de Papanicolaou, simples, rápido e reprodutível para a detecção, tanto de DST quanto de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas, fundamental na prevenção e controle destas doenças. Paralelamente, analisou-se a presença de tipos específicos de HPV, reconhecido agente causal do carcinoma cervical, através de técnicas moleculares, consideradas importantes ferramentas para o esclarecimento do prognóstico de pacientes afetadas.

No estudo do perfil da população estudada, observou-se que 71% das detentas tinham entre 18 e 35 anos, com média de 31,1 anos (Figura 11). Outros autores têm relatado populações prisionais femininas igualmente jovens no Brasil (STRAZZA *et al.*, 2003; DORFEY *et al.*, 2007); porém de faixas etárias maiores em outros países, como por exemplo, 36/40 anos nos EUA (SIMBULAN *et al.*, 2001 / MAGEE *et al.*, 2005) e em média de 30,6 anos no Reino Unido (MAHTO e ZIA, 2008). O fato de se encontrar populações prisionais relativamente jovens no Brasil pode ser atribuído a diversos fatores como: pobreza, abandono da infância, violência sexual, gravidez precoce, vivência em ambientes hostis ou ligados ao crime organizado, ao tráfico de drogas e à prostituição, fatores estes que acabam levando à falta de oportunidades adequadas aos jovens, levando-os a aderir à violência, à promiscuidade e ao vício precocemente. A desigualdade social gera violência entre os jovens. A situação de carência absoluta pode embrutecer os indivíduos, ainda mais por ocuparem uma posição secundária nas sociedades, terem menos possibilidades de trabalho, estudo e consumo, e se sentirem, além de pobres, maltratados, vistos como diferentes e inferiores (ABRAMOVAY *et al.*, 1999).

Considerando o foco de estudo deste trabalho, a pouca idade destas mulheres tem especial relevância, visto que trabalhos realizados por Ault (2006) e por Steben e Duarte-Franco (2007), relatam altas incidências de infecção por HPV, de 35% e de 44,8%, respectivamente, em mulheres com idades entre 20 e 25 anos.

Em relação ao estado civil, 61% das prisioneiras relataram ser solteiras ou separadas (Figura 12). Em uma população carcerária das Filipinas, 45% das mulheres experimentavam esta mesma condição civil (SIMBULAN *et al.*, 2001). O fato de que mulheres solteiras possam não estar se relacionando com um parceiro fixo, possibilitaria maior variação de parceiros sexuais em sua vida pregressa e, conseqüentemente, maior probabilidade de infecção por agentes causadores de DST, incluindo o HPV. Assim, o fato de haver, na população estudada, uma proporção relativamente elevada de mulheres sozinhas poderia, eventualmente, contribuir para uma maior prevalência de DST e câncer cervical.

Observou-se que 80% das mulheres entrevistadas relataram ter filhos e pode-se verificar que 63% das mulheres com filhos apresentaram infecções por *Trichomonas vaginalis* em associação com vaginose bacteriana (*Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus sp*) (Figura 30). A situação da maternidade frequente entre as detentas parece se repetir em outras penitenciárias, como é o caso da

Penitenciária Feminina Estadual de Metro Manila (SIMBULAN *et al.*, 2001). As variações hormonais que ocorrem durante a gravidez, bem como a exposição da JEC que ocorre no momento do parto, tornam o epitélio da região cervical mais vulnerável e acessível à entrada de microrganismos patogênicos e ao desenvolvimento de anormalidades epiteliais, motivo pelo qual a paridade é considerada como mais um fator de risco (COELHO *et al.*, 2008). Em um estudo comparativo entre um grupo de mulheres com câncer cervical e um grupo controle no Estado do Sergipe, observou-se que o número de filhos foi um fator de risco importante para o desenvolvimento da doença, com diferença significativa entre grupos de até 5 e de mais de 5 gestações (LIMA *et al.*, 2006).

Verificou-se que 86% das mulheres entrevistadas já haviam se submetido ao exame de Papanicolaou, sendo que muitas delas tiveram o primeiro contato com este exame dentro da penitenciária. No entanto, não se avaliou a frequência da realização deste exame pelas detentas. Estudos realizados por Lima *et al.* (2006) evidenciaram que pode haver influência da realização do exame preventivo para prevenir o desenvolvimento do câncer cervical, ao mostrarem que houve diferença estatisticamente significativa na realização do exame de Papanicolaou entre portadoras de carcinoma (30%), e mulheres de grupos controle (83,7%) (OR = 12,03; IC95%: 3,90-37,07). A redução de casos de câncer uterino, referida nesse trabalho, somente ocorreu quando houve a realização periódica do exame de Papanicolaou, o que infelizmente, não é a realidade brasileira e menos ainda das populações carcerárias nacionais.

Os níveis de escolaridade declarados pelas presidiárias entrevistadas, mostrados na Figura 13, foram: de ensino fundamental para a maioria (57%), sendo que 16% estudaram entre 1ª e 4ª séries e 41% estudaram entre 5ª a 8ª séries; e de ensino médio para 36%, completo ou incompleto. Apenas 2% tinham ensino superior incompleto e 2%, superior completo. Ainda, 3% delas relataram nenhuma escolaridade, ou seja, eram analfabetas. Estes dados mostram que as detentas tinham pouca escolaridade, fato também encontrado pelo estudo realizado em uma penitenciária feminina de São Paulo por Strazza *et al.* (2003) e pelo trabalho conduzido por Garcia *et al.* (2004) em presidiárias de Lisboa. A baixa escolaridade pode se somar a outros fatores de risco para o desenvolvimento de doenças, considerando que o conhecimento sobre o processo saúde-doença, bem como sobre condições de higiene e medidas preventivas para a promoção da saúde serão

tanto mais limitadas quanto menor for o grau de escolaridade. No presente trabalho, o grau de escolaridade foi um dos quesitos avaliados que encontrou significância estatística para a ocorrência de anormalidades epiteliais ($p=0,000$), como ilustrado na Figura 35. As mulheres que tinham cursado o ensino médio apresentaram menor percentual de anormalidades epiteliais (6,2%, $p=0,003$) comparadas às que tinham cursado apenas o ensino fundamental (17,2%, $p=0,000$). Estes dados levam a uma reflexão profunda sobre a importância da formação escolar de um indivíduo, até mesmo na prevenção de doenças como o câncer. É notável que o grau de esclarecimento individual interfira diretamente no seu comportamento social e carência de políticas públicas em relação a este assunto.

Em relação à pergunta feita às detentas, se as mesmas contavam com saneamento básico em seus domicílios anteriores ao período de encarceramento, 91% delas responderam que sim. Desta forma, este não poderia ser considerado como um fator significativo a ser analisado no desenvolvimento de doenças neste estudo.

Para finalizar a caracterização sócio-econômica-cultural da população prisional estudada, avaliou-se também a renda mensal das mulheres antes de seu aprisionamento e constatou-se que 39% das detentas estavam em condições abaixo da linha da pobreza, ou seja, tinham renda menor que 1 salário mínimo e; outra grande proporção de prisioneiras (40%) tinha baixa renda, entre 1 e 2 salários mínimos. Apenas 10% das mulheres possuíam renda superior a 5 salários. A partir destes dados, pode-se concluir que a maioria das presas tinha condições financeiras insuficientes ou precárias, como a maioria da população brasileira (MAPA DA POBREZA, 2009).

Ao se analisar a faixa de renda das detentas em relação aos resultados de seus exames citológicos, encontrou-se significância estatística na correlação entre o nível econômico e a presença de anormalidades epiteliais, como mostrado na Figura 22. As prisioneiras que tinham renda de 3 a 5 salários mínimos apresentaram menor frequência de anormalidades epiteliais (3,3%; $p=0,010$) quando comparadas às que recebiam entre 1 a 2 salários mínimos (15,8%; $p=0,015$), mostrando que a desigualdade social está intimamente ligada a condições de acesso à saúde e à incidência destas lesões.

Analisando-se os hábitos de comportamento da população em estudo; o tabagismo foi um dos fatores analisados, pois o uso do tabaco é considerado um

fator de risco para a ocorrência de carcinomas, sendo inclusive um grande coadjuvante para a instauração de processos neoplásicos no epitélio cérvico-vaginal e para a infecção persistente pelo HPV (AULT, 2006; BOSCH, 2006).

De acordo com a IARC (2005), o tabaco é um fator de risco independente para o câncer cervical e, no trabalho conduzido por Gunnell *et al.* (2006) em mulheres suecas, foi encontrado sinergismo entre o hábito do fumo e a infecção por HPV 16. Entretanto, Lima *et al.* (2006) em seu estudo com 20 mulheres portadoras de carcinoma cervical, não obtiveram correlação entre o uso do tabaco e esta doença.

As prisioneiras, fonte de material de estudo para este trabalho, foram questionadas sobre o consumo de cigarros (Figura 15) e constatou-se que 66% eram adeptas ao tabagismo, ou seja, mais da metade delas tinha, como fator de risco adicional para o desenvolvimento do câncer do colo de útero, o hábito do tabagismo. Conforme ilustrado na Figura 24, de fato, as mulheres não fumantes apresentaram menor índice de anormalidades epiteliais (7%), com valores estatisticamente significativos ($p=0,001$), comparadas às detentas adeptas ao tabagismo (31,5%). O número de cigarros pareceu não ter relevância em relação à ocorrência de anormalidades epiteliais, porém as mulheres que fumavam 20 ou mais cigarros ao dia, apresentaram maior frequência (54%, $p=0,009$) de infecções por *Trichomonas vaginalis* em associação com vaginose bacteriana (*Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus sp*), conforme ilustrado na Figura 31. No estudo prospectivo realizado por Zhang *et al.* (1995), também foi encontrada correlação significativa entre tabagismo intenso e infecção por *Trichomonas vaginalis* ($p=0,0037$). Em outro estudo, foi encontrada relação de risco entre tabagismo e infecção por *Trichomonas vaginalis* com vaginose bacteriana (RUGPAO *et al.*, 2008).

No trabalho de Larsson *et al.* (2007) observou-se forte relação entre o tabagismo e a vaginose bacteriana, com risco ao menos duas vezes maior de ocorrer a vaginose entre fumantes. Os autores desse trabalho propõem que os motivos pelos quais isto ocorre estão relacionados com uma relação causal do tabaco para a vaginose, ou com o comportamento de risco assumido pelas mulheres fumantes ou ainda, com o fato das mulheres tabagistas não perceberem o odor proveniente da vaginose. Apesar destes relatos, as causas da possível influência do tabagismo na suscetibilidade à infecção por estes microrganismos permanecem a ser esclarecidas.

Quando questionadas sobre a sua vida sexual, 60% das presidiárias responderam tê-la iniciado na faixa etária que compreende 12 a 15 anos, conforme ilustrado na Figura 16. No estudo realizado por Simbulan *et al.* (2001) em uma penitenciária das Filipinas, a grande maioria das presidiárias relatou ter iniciado sua vida sexual em média aos dezoito anos. Vários pesquisadores relatam que, quanto mais precoce se der o início da atividade sexual, maior o risco de exposição ao papilomavírus humano e, conseqüentemente, o desenvolvimento de anormalidades epiteliais no colo uterino. Por esta razão, o início precoce da vida sexual é um sério contribuinte para infecções genitais e para o desenvolvimento do câncer de colo uterino (ZHANG *et al.*, 1995; DOUVIER e DALAC, 2004; KOSS e MELAMED, 2006; SMITH *et al.*, 2002). Este fato foi demonstrado neste trabalho (Tabela 3 e Figura 25), ao se observar que, entre as mulheres que tiveram seu IAS com menos de 13 anos, 21% apresentaram anormalidades epiteliais; em comparação às que se iniciaram sexualmente entre os 13 e 17 anos, 12%; e as que iniciaram após os 17 anos, apenas 5%. Na Figura 26, é possível observar que as mulheres que relataram ter perdido a sua virgindade aos 9 anos de idade apresentaram maior porcentagem de anormalidades epiteliais (50%; $p=0,013$); e que, aquelas que tiveram seu *debut* sexual aos 15 anos apresentaram grande prevalência de alterações benignas, que correspondiam, em sua maioria, a achados de infecção por agentes de DST. A idade de início de atividade sexual precoce, além de influir no risco para câncer, possibilita a exposição do epitélio cervical a agentes infecciosos pela via sexual ou pela alteração patológica de seu pH vaginal, ocasionando desvio de flora ou outras infecções (SILVA FILHO e LONGATO FILHO, 2000; MURTA, 2000; BOSCH *et al.*, 2006). Possivelmente por esta razão, observou-se também que as mulheres que relataram início da atividade sexual aos 13 anos apresentaram prevalência de vaginose bacteriana (16,1%; $p=0,013$), enquanto uma maior proporção das que iniciaram aos 18 anos, apresentaram como flora vaginal, *Lactobacillus sp.*, (13,8%; $p=0,008$), principal microrganismo não patogênico, componente da flora vaginal normal, conforme ilustrado na Figura 43 (SILVA FILHO e LONGATO FILHO, 2000).

No que diz respeito ao número de parceiros sexuais durante a vida da mulher, sabe-se que está diretamente relacionado à chance de exposição a microrganismos e vírus patogênicos de transmissão pela via sexual, sendo este um dos fatores mais relacionados a altos índices de infecção por HPV. No presente trabalho, 54% das mulheres relataram ter tido de 2 a 5 parceiros; 22%, de 6 a 15 parceiros; 6% delas

relataram mais que 30 parceiros e; 5 %, mais que 100 parceiros (Figura 20), enquanto a média em uma população carcerária estudada por Simbulan *et al.* (2001) nas Filipinas foi de 2,5 parceiros. Nas análises das amostras citológicas das detentas da Penitenciária Feminina de Sant'Ana, constatou-se grande percentual de casos de infecção por *Trichomonas vaginalis* nas mulheres que haviam tido mais de 15 parceiros sexuais (13,2%; $p=0,018$); ao passo que, nas que tiveram um único parceiro, a maior prevalência foi de *Lactobacillus* sp (13,3%; $p=0,016$), dados apresentados na Figura 34. Além disso, mulheres com um único parceiro apresentaram maior percentual de achados dentro dos limites da normalidade em seus exames citológicos (28,6%; $p=0,018$), enquanto aquelas que professaram terem se relacionado com mais de 100 parceiros, tiveram um índice superior para anormalidades epiteliais (29%, $p=0,002$) (Figura 34), comprovando os conhecimentos apresentados pela literatura (KUMAR *et al.*, 2005; BOSCH *et al.*, 2006; CASTELLSAGUÉ *et al.*, 2006).

Pode-se observar na Figura 18, que a grande maioria das detentas (80%) relatou comportamento heterossexual; 14% confessaram-se bissexuais e somente 5% professaram o homossexualismo. Durante o confinamento, apenas 11% das mulheres afirmaram possuir parceiras internas. Em detentas do Presídio de Metro Manila, nas Filipinas, 20% relataram esta prática sexual (SIMBULAN *et al.*, 2001). O envolvimento do HPV com achados de carcinomas em outros sítios corporais, como a cavidade oral e a região anal, leva a crer na possibilidade de, também nestes casos, a via de transmissão ser a sexual, principalmente em mulheres que tenham o homossexualismo como opção. Muitos estudos já aventaram esta hipótese e as inclinações para a aceitação desta crença permanecessem fortes (GILLISON *et al.*, 1999; GILLISON *et al.*, 2000; CASTRO *et al.*, 2004; NAIR e PILLAI, 2005; LINGEN, 2008; PSYRRI e DiMAIO, 2008; HUANG *et al.*, 2008). Estudos em populações onde o homossexualismo é evidente, até mesmo pelas condições de confinamento e pela ausência de visitas íntimas, como é o caso das prisioneiras de Sant'Ana, poderiam melhor elucidar esta proposta. No presente trabalho, este intuito era considerado, porém, como esta hipótese não foi testada neste momento, permanece aberta uma possibilidade para futuras investigações.

Apesar do uso de preservativo não ser um método considerado eficaz na prevenção da infecção pelo HPV (VACCARELLA, *et al.*, 2006), estudos avaliaram a regressão das lesões pré-cancerosas em grupo de mulheres, e observou-se um

índice maior de regressão naquelas que faziam uso de preservativos (53%), quando comparadas com um grupo que não os usava (35%) (AULT, 2006); e ainda, durante um período de 2 anos, observou-se a regressão destas lesões bem como o HPV negativado em 23% das mulheres que usavam e, em apenas 4% naquelas que não faziam o uso de preservativos (HOGEWONING e VAN DER BRULE, 2006). Mesmo não sendo o método de escolha adequado ao controle à exposição ao papilomavírus, o preservativo é eficaz para prevenir a infecção por outros agentes transmissíveis sexualmente, os quais tem papel auxiliar no desenvolvimento e no agravamento de lesões precursoras do câncer do colo de útero, como é o caso do vírus Herpes (HSV2), da *Chlamydia sp* e do HIV (BOSCH *et al.*, 2006). No presente trabalho, apenas 27% das detentas relataram sempre ter feito uso de preservativo durante o ato sexual; 73% não faziam o uso ou usavam preservativo com frequência irregular, conforme ilustrado na Figura 19. O uso de preservativo parece não ser comum em populações prisionais. Em presídio feminino nas Filipinas, uma alta percentagem de mulheres (54%) declarou não usar o preservativo em suas relações sexuais (SIMBULAN *et al.*, 2001). Este é um relato muito preocupante e que pode ser mais um fator de risco para altos índices de doenças sexualmente transmissíveis neste tipo de população (SIMBULAN, *et al.*, 2001; STRAZZA *et al.*, 2003; MAGEE, *et al.*, 2005; DORFEY, *et al.*, 2007; SCHOLTEN, *et al.*, 2008).

As detentas foram questionadas se já haviam sofrido aborto e 42% responderam que sim, sendo que entre estas, 60% relataram uma única ocorrência, como mostrado na Figura 20. Estas mulheres também apresentaram maior frequência de anormalidades epiteliais no exame de Papanicolaou (20%, $p=0,023$) conforme ilustração na Figura 28. A ocorrência de abortos está relacionada com o risco de desenvolvimento de câncer cervical, pois, em sua maioria, acontecem por comportamento de risco, como o não uso de preservativo, vida sexual ativa e até promiscuidade. Ainda considerando a ilegalidade do procedimento abortivo, supõe-se que para a sua realização, as mulheres tenham se submetido a procedimentos em clínicas clandestinas, invariavelmente menos confiáveis, com riscos aumentados.

Com relação a estarem sentindo algum desconforto ou serem cientes de estarem infectadas por alguma DST, somente 31% das detentas relataram terem apresentado alguma sintomatologia, infecção prévia por HPV (6%) e por HIV (2%) (Figura 21). A descarga vaginal é uma das 25 razões mais frequentes que levam as mulheres a procurarem atendimento de saúde, correspondendo a mais de 10

milhões de visitas médicas por ano nos EUA (WANG, 2000). Correlacionando estes resultados com os achados citológicos para microrganismos (Figura 32), observou-se que dentre as mulheres que apresentaram presença de *Trichomonas vaginalis* (94% $p=0,013$) ou *Candida spp* (55%, $p=0,001$) não relataram sintomas. Dentre as mulheres que reclamaram a presença de corrimento, a maior frequência foi de *Candida spp* (41%) e de *Lactobacillus sp* (22%). Como tal sintoma foi relatado pelas pacientes, os dados obtidos podem apresentar imprecisão.

Relata-se que a assintomatologia para *Trichomonas vaginalis* ocorre em aproximadamente 50% das mulheres (WANG, 2000). No entanto, em um estudo realizado na Penitenciária de Lisboa, 65,1% das mulheres que tinham infecção por *Trichomonas vaginalis*, relataram sintomatologia (GARCIA, *et al.*, 2004).

Os resultados dos relatos de infecção prévia por HIV e HPV obtidos neste trabalho foram relacionados com as interpretações/resultados e constatou-se alta frequência de anormalidades epiteliais em mulheres que relataram infecção por HPV (31,3%, $p=0,000$), bem como em infecção por HIV (50%, $p=0,000$). Estes dados reforçam o papel destes vírus para o desencadeamento de anormalidades epiteliais (PINTO *et al.*, 2002).

A adequação das amostras cérvico-vaginais foi considerada de acordo com critérios do Sistema Bethesda 2001, relatada seguindo a Nomenclatura Brasileira para Laudos Cervicais (SOLOMON e NAYAR, 2005; BRASIL/MS, 2006). Das 620 amostras analisadas, 586, ou seja, a quase totalidade, além de apresentar representatividade do epitélio escamoso, apresentou também representação em relação ao epitélio glandular e às células metaplásicas, ou a ambos e foram, portanto, consideradas satisfatórias para este quesito da avaliação citológica.

Após a avaliação, 551 casos foram considerados como negativos para lesão intraepitelial ou malignidade e os casos positivos para anormalidades epiteliais foram representados por 78 amostras correspondendo a 13% do total de amostras analisadas (Tabela 2).

Na Tabela 1, também se encontra descrita a frequência das anormalidades epiteliais relativa às amostras cérvico-vaginais analisadas ($n=620$), sendo a lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL) de representatividade mais expressiva (5%).

Houve 15 casos classificados como HSIL, incluindo uma lesão de alto grau da qual não se podia excluir invasão, que corresponderam a 2% das amostras, enquanto as atipias escamosas e glandulares somaram 5%. No trabalho conduzido

por Proca *et al.* (2006) no Correctional Center em Columbus-Ohio, as frequências encontradas para anormalidades epiteliais entre as detentas foram de 1,3% para HSIL; 5,9% para LSIL e 9,4% para as atipias escamosas e glandulares, enquanto na população em geral estes autores encontraram 0,6%; 5,7% e 10,2%, respectivamente, para estas mesmas anormalidades. Nas Figuras 50 e 51 é possível observar o percentual de cada anormalidade relacionada ao seu epitélio de origem.

Os microrganismos relacionados à infecção genital mais frequentemente encontrados na realização do exame de Papanicolaou foram: *Gardnerella/Mobiluncus* (23,7%), *Trichomonas vaginalis* (11,5%), *Candida spp* (4,4%) e *Chlamydia sp* (1,7%), e estão ilustrados na Tabela 4. Alguns microrganismos apareceram tanto na forma isolada como em associação com outros agentes. A associação entre *Gardnerella/Mobiluncus* e *Trichomonas vaginalis* encontrada neste trabalho, foi a mais relevante (Tabela 5) e coincide com os achados de Garcia *et al.* (2004).

A prevalência destes microrganismos, detectados no exame de Papanicolaou, por vários autores são de: *Gardnerella/Mobiluncus* (16%), *Trichomonas vaginalis* (4,2%), *Candida spp* (3%) e *Chlamydia sp* (0,05%) em Curitiba-PR, *Gardnerella/Mobiluncus* (14,4%), *Trichomonas vaginalis* (4,6%), *Candida spp* (3,7%) e *Chlamydia sp* (0,7%) em São Paulo-SP (SILVA FILHO e LONGATTO FILHO, 2000); *Gardnerella/Mobiluncus* (21,3%), *Trichomonas vaginalis* (2%), *Candida spp* (9,3%) e *Chlamydia sp* (7,4%) em Vitória-ES (BARCELOS *et al.*, 2008). Assim, a prevalência de *Gardnerella/Mobiluncus* e *Trichomonas vaginalis* foi mais elevada na população prisional estudada.

Os microrganismos mais frequentes encontrados nos resultados de anormalidades, estão ilustrados na Tabela 6. Dentre os microrganismos associados com infecção genital, a vaginose bacteriana foi o achado mais prevalente e esteve presente em 32,9% dos casos; seguida pela infecção por *Trichomonas vaginalis*, 10,2%; e *Chlamydia sp*, 6,4%. No trabalho publicado por Mikamo *et al.* (1999), a vaginose bacteriana foi encontrada em 80% dos casos de câncer cervical, sendo a *Gardnerella vaginalis* presente em 50% destes casos, o que levou estes autores a sugerir que o câncer cervical fornece condições favoráveis para o crescimento de *Gardnerella vaginalis* e anaeróbios. O estudo feito por Klomp *et al.* (2008) acusou risco relativo (10,3), significativamente superior para neoplasia em

esfregaços com *Gardnerella vaginalis*; bem como o estudo realizado por Castle *et al.* (2001); embora o trabalho conduzido por Boyle *et al.* (2003) não tenha encontrado associação entre *Gardnerella vaginalis* e neoplasias intraepiteliais cervicais.

Com relação a possíveis associações entre infecções por *Trichomonas vaginalis* e neoplasias cervicais, o trabalho de Viikki *et al.* (2000) sugeriu *Trichomonas vaginalis* como um fator de predisposição à neoplasia cervical, corroborando o trabalho de Zhang *et al.* (1995), que encontrou um risco relativo 3,3 para o desenvolvimento de câncer cervical em mulheres infectadas por *Trichomonas vaginalis*.

Nas últimas décadas, os avanços nas áreas de genética e de biologia molecular têm possibilitado grandes avanços no diagnóstico e tratamento de câncer. O carcinoma cervical é uma das situações onde estes avanços são bastante relevantes e com aplicações bem definidas, principalmente por se tratar de uma neoplasia que tem seu agente etiológico bem definido, o HPV, e que o mesmo pode ser diagnosticado por técnicas moleculares (WHANG e LEE, 1997; WÜNSCH FILHO e GATTÁS, 2001).

A grande maioria dos casos de infecção por HPV terão regressão natural somente pela resposta imunológica, em média de 6 a 18 meses, e não irão levar o epitélio cérvico-vaginal à malignidade. Os casos de câncer cervical acontecem quando a infecção por HPV se apresenta de forma persistente. Esta persistência está relacionada com características imunológicas, nutricionais e emocionais do indivíduo, bem como com o potencial carcinogênico do tipo de HPV infectante. O HPV tipo 16 é o mais prevalente em amostras de lesões intraepiteliais de alto grau e de carcinomas cervicais e, relatado por ser dotado de grande potencial oncogênico e de persistência e, por esta razão, está sublocado em uma classificação de HPV de alto risco, juntamente com os tipos 18, 31, 33, 45, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 (HOVLAND *et al.*, 2005; SCHIFFMAN *et al.*, 2007).

O diagnóstico da infecção por HPV por técnicas de biologia molecular, não só permite a indicação do prognóstico, como também direciona o tratamento mais adequado para as mais variadas anormalidades epiteliais encontradas no escrutínio citológico. A avaliação da presença do HPV por análises moleculares tem especial relevância no auxílio ao diagnóstico das pacientes com alterações citológicas, principalmente nos casos em que a citologia não é capaz de definir com segurança o grau da anormalidade epitelial encontrada, como no caso das atipias. É de grande

relevância também para tentar prever a evolução da doença, bem como possibilitar um encaminhamento mais adequado da paciente. Todavia, trata-se de uma metodologia de custo mais elevado, e requer infra-estrutura laboratorial mais sofisticada em comparação à metodologia citológica (SOLOMON e NAYAR, 2005; COELHO, *et al.*, 2008).

As técnicas para detecção da presença de material genético viral em amostras cérvico-vaginais são: *Southern* e *Northern blot*, *dot blot*, hibridização *in situ*, tecnologia molecular com amplificação de sinal ou de alvo e sequenciamento de DNA (COELHO *et al.*, 2008).

Dentre as técnicas moleculares comerciais mais utilizadas de amplificação de sinal, está a captura híbrida (CH2 v2® - Digene), na qual se utiliza sondas para detecção de grupos de alguns tipos de HPV de baixo e de alto risco. Apesar de esse método fornecer também um resultado semi-quantitativo da carga viral, não é capaz de identificar os tipos virais de forma isolada, o que se torna uma limitação do teste, pois impossibilita saber se a infecção é potencialmente persistente, característica de alguns tipos específicos, fator mais associado com a progressão para lesão de alto grau e câncer (PEREIRA *et al.*, 2005; COELHO *et al.*, 2008).

As técnicas baseadas na reação em cadeia pela polimerase (PCR), por sua vez, permitem testar amostras com baixa celularidade, com poucas cópias virais, inclusive com DNA de qualidade inferior. A PCR pode ser tipo-específica, que amplifica um tipo específico de HPV, ou de consenso, que permite amplificar vários tipos de HPV ao mesmo tempo. Portanto, é uma técnica de alta sensibilidade, porém é importante que o teste molecular tenha validade clínica. É notório que, em muitos casos, a detecção de HPV 16 pode ocorrer em pacientes sem evidência clínica da doença, o que pode ocasionar aumento na ansiedade da paciente e impressão de falso positivo ao médico (CARESTIATO *et al.*, 2006). Neste sentido, a CH2 v2® (Digene) tem maior aplicação clínica que a PCR, pois gradua a relação entre o achado da presença viral com valores de *cut-off* (1 pg/ml de DNA-HPV), que predizem mais adequadamente a presença ou risco futuro de neoplasia intraepitelial grau 3 (NIC 3) (COELHO *et al.*, 2008).

Já existem no mercado ensaios quase totalmente automatizados, que genotipam até 19 tipos diferentes de HPV (Amplicor®), bem como ensaios que acoplam a genotipagem por tecnologia de PCR automatizada com imunoensaio (Luminex®) (COELHO *et al.*, 2008).

A técnica empregada no presente trabalho permite a detecção e amplificação de ácidos nucleicos em tempo real (NASBA) para a determinação qualitativa de mRNA E6/E7 de cinco tipos carcinogênicos de HPV: 16, 18, 31, 33 e 45 em amostras cérvico-vaginais. Nesta técnica, utiliza-se um processo de amplificação com detecção simultânea de *beacons* moleculares, realizada na plataforma do aparelho Nuclisens Easy Q®, com dois *primers* para cada sequência-alvo específica de RNA, que determinam a especificidade da reação. A sensibilidade analítica do método é de 95% para amostras com concentração igual a $7,5 \times 10^4$ cópias de HPV RNA por ml. A reprodutibilidade clínica do teste, informada pelo fabricante, é de $p > 0,05$ pelo teste de Fischer e a reprodutibilidade e repetibilidade pelas análises estatísticas de Kappa e de Cohen são $> 0,8$. Como se trata de uma metodologia de detecção de mRNA e não de DNA de HPV, somente amostras em que já tenha ocorrido a integração do DNA viral ao DNA celular é que serão detectadas. Isto tem grande valor clínico, pois o método empregado pode avaliar a persistência da infecção por HPV e consequente evolução à malignidade da lesão intraepitelial. Uma vantagem do mesmo é a sua capacidade de diferenciar e identificar 5 tipos de HPV com elevado potencial carcinogênico, designados como HPV de alto risco (MOLIJN *et al.*, 2000).

Alguns trabalhos têm relatado uma boa correlação clínica para esta metodologia (HOVLAND, S. *et al.*, 2005; KRAUS *et al.*, 2006). O conhecimento do tipo do HPV presente na amostra é de grande relevância clínica, pois os HPV tipos 16 e 18 são encontrados em 90% dos casos de câncer (COELHO *et al.*, 2008), e são detentores de grande potencial oncogênico e capacidade de persistência em relação às lesões que provocam. Além do tipo do HPV, a forma com que o vírus se encontra no núcleo da célula também tem valor na previsão do progresso da doença. A partir do momento em que o DNA viral é integrado ao DNA celular, proteínas virais passam a ser expressas em conjunto com o maquinário celular e torna-se praticamente impossível a regressão da anormalidade epitelial. Das 25 amostras testadas para avaliar a presença de mRNA de HPV pelo teste Nuclisens Easy Q para HPV, 19 eram provenientes dos 79 casos que tiveram como resultado citológico anormalidades epiteliais, e 6 amostras tiveram resultado negativo para anormalidades epiteliais na análise citológica. Das 79 mulheres que foram convidadas para fazer a coleta de material cérvico-vaginal, 32 se recusaram, alegando não quererem saber o resultado ou já terem se submetido a tratamento

após o resultado do exame citológico. Das 47 mulheres remanescentes, foi possível testar 19 amostras, escolhidas de acordo com os resultados anteriores do exame de Papanicolaou, e com a submissão a tratamento por cauterização, devido a diagnóstico anterior positivo para HPV. As demais 6 amostras, com resultado negativo na análise citológica, foram incluídas com intuito de avaliar a especificidade do teste molecular utilizado no presente trabalho. Destas 25 amostras testadas, 19 já haviam sido submetidas a testes preliminares para a detecção de HPV, através da técnica de PCR, no Laboratório de Infectologia da Universidade Federal de São Paulo, por cortesia do Professor Doutor Antônio Carlos Campos Pignatari e do Professor Marco Antonio Zonta.

Os resultados do teste para mRNA E6/E7 de HPV por amplificação da expressão das proteínas E6 e E7, foi positivo para 10 amostras, todas com o diagnóstico citológico prévio positivo para anormalidades epiteliais, como ilustrado na Figura 45. Com exceção da amostra 708, todas foram positivas também pela técnica de PCR (não mostrado). Em relação às demais amostras, negativas para mRNA E6/E7, houve positividade pela técnica de PCR para as de números 787, 784, 785, 709 e 705, todas classificadas como anormalidades epiteliais no exame citológico, sendo que as amostras 785 e 705 eram da mesma paciente (Tabela 8). Este resultado positivo para a técnica de PCR e negativo para a técnica de mRNA pode ser explicado considerando que a sensibilidade da técnica de PCR é muito superior às demais técnicas moleculares disponíveis atualmente, porém é necessário considerar que a relação clínica e a previsão do curso da infecção é muito melhor predito pela técnica de mRNA, visto que esta técnica somente fornece resultados positivos para amostras que apresentem síntese de proteínas E6 e E7, (mRNA E6 e E7) associada à persistência viral (CUSCHIERI *et al.*, 2004; BRINK *et al.*, 2006). Estas amostras eram de mulheres que haviam se submetido ao tratamento e que, por esta razão, poderiam ter negativado para a presença viral, ou de mulheres que poderiam estar infectadas por outros tipos de HPV não testados pelo kit usado neste trabalho, ou mesmo poderiam estar em estágio da infecção viral na forma episomal, não integrada ao DNA humano e, conseqüentemente, incapaz de apresentar expressão de mRNA detectável pelo teste, ou ainda; eram de fato negativas para a presença viral (CUSCHIERI e CUBIE, 2005; COELHO *et al.*, 2008). Dentre as amostras que tinham como resultado citológico a ausência de malignidade (total de 6), nenhuma apresentou positividade para a presença de mRNA de HPV,

resultado que permaneceu dentro do que era esperado, pois somente amostras com anormalidades epiteliais deveriam apresentar positividade molecular e comprovou a especificidade deste método.

Entre as mulheres que declararam ser portadoras de HIV e cujas amostras foram testadas, 100% foram positivas para mRNA de HPV; e entre as que declararam terem conhecimento de ter tido infecção por HPV, 33,3% foram positivas (Figura 38). A associação entre estes vírus é conhecida na literatura como relevante para o desenvolvimento de lesões precursoras e de câncer cervical. Muitos atribuem a expressão de risco para o câncer cervical apresentada por esta associação à debilitação do sistema imune e à terapia anti-retroviral experimentadas pelas pacientes acometidas por HIV e, por esta razão, podem tornar uma infecção latente pelo HPV em infecção produtiva (SCHIFFMAN *et al.*, 2007; COELHO *et al.*, 2008).

Entre os tipos mais prevalentes encontrados nas amostras analisadas está o HPV 16 (44%; Figura 39) que, de acordo com outros experimentos relatados na literatura, está presente em aproximadamente 75% dos casos de carcinoma uterino (PEITSARO *et al.*, 2002; COELHO *et al.*, 2008).

A infecção por múltiplos tipos de HPV também é considerada um fator fortemente associado a pior prognóstico, bem como à infecção persistente. Nesse sentido, destacam-se duas pacientes no presente trabalho, conforme ilustração na Tabela 8. Trata-se de detentas que foram analisadas em duplicidade para as duas técnicas. A paciente codificada pela numeração 705 e 785, apresentou resultados citológicos de LSIL e de HSIL em suas coletas, respectivamente, e resultados negativos idênticos em suas análises moleculares, porém positivos pela técnica de PCR. Nesta situação, temos uma evolução de grau de lesão, sem presença de mRNA E6/E7 identificados. Dentre as possíveis razões para este fato, está a possibilidade de se tratar de um tipo de HPV não analisado pelo método proposto. A outra paciente, codificada pela numeração 496 e 707; apresentou citologia com anormalidades epiteliais compatíveis com HSIL em associação com AG NEO e positividade para os tipos 33 e 45 de HPV. Três meses depois, esta mesma paciente apresentou como resultado citológico HSIL e positividade para os tipos 33 e 45, porém com o acréscimo do tipo 16. Vale ressaltar que era uma paciente que também, segundo próprio relato, estava infectada por HIV e supõe-se, por esta razão, estar com o sistema imune debilitado.

Ainda na Tabela 8, pode-se observar uma boa correlação entre os achados da citologia e o teste para mRNA E6/E7 de HPV, que assegura ao método molecular empregado neste trabalho, um bom direcionamento clínico, pois entre as 9 das 19 amostras positivas na citologia que não tiveram resultado positivo para mRNA E6/E7, 5 tiveram como resultado citológico ASC-US. Ainda, 5 das 7 pacientes que haviam se submetido à cauterização para tratamento de HPV, negativaram os seus resultados. É válido que ressaltar que as 2 pacientes que não negativaram eram também infectadas pelo HIV.

A população prisional estudada apresentava um perfil sócio-econômico-cultural que bem demonstra as condições ambientais e de vida anterior ao aprisionamento. Tratava-se de mulheres relativamente jovens, com início precoce da vida sexual, múltiplos parceiros sexuais, não adeptas ao uso de preservativos, tabagistas, alcoolistas e usuárias de drogas, o que caracteriza risco aumentado para DST, HPV e câncer cervical. Desta forma, as prevalências de microrganismos e de lesões intraepiteliais cervicais detectadas neste trabalho podem ser explicadas, bem como o achado da presença dos tipos oncogênicos de HPV 16, 18, 31, 33 e 45, integrados ao DNA celular.

É provável que estes mesmos achados possam ser encontrados em outras populações vulneráveis, prisionais ou não, o que demonstra a necessidade de reforçar as políticas públicas para a educação, a promoção da saúde e a assistência e tratamento adequado das doentes. Os programas desenvolvidos pelo Instituto Nacional do Câncer e outras instituições, com o esforço conjunto dos Estados e Municípios, através do Programa de Saúde da Família, dos conselhos de saúde e com a participação das Universidades para a formação adequada de recursos humanos para a saúde, podem e devem avançar no combate às DST e ao câncer cervical, reduzindo a morbi-mortalidade por estas doenças no Brasil.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

No estudo de 798 mulheres da Penitenciária Feminina de Sant' Ana – São Paulo-SP, durante os anos de 2007 e 2008, observou-se:

- No exame de Papanicolaou (n=620) - prevalência de *Gardnerella vaginalis* e ou *Mobiluncus sp* (23,7%), *Trichomonas vaginalis* (11,5%) *Candida spp* (4,4%) e *Chlamydia trachomatis* (1,7%); ocorrência de 541 casos NILM e 79 lesões intraepiteliais cervicais (13%), sendo 3,1% ASC-US, 1% ASC-H, 1% AG, 5,2% LSIL e 2,4% HSIL.
- Perfil sócio-econômico cultural da maioria das detentas: 18 e 35 anos; solteiras ou separadas; com filhos; ensino fundamental parcial ou completo; renda de menos de 1 até 5 salários mínimos; fumantes; alcoolistas; usuárias de drogas; com início da atividade sexual entre 12 e 17 anos; com múltiplos parceiros sexuais; heterossexuais; não uso ou uso esporádico de preservativos nas relações sexuais; realização anterior do exame de Papanicolaou.
- Em mulheres assintomáticas: *Lactobacillus sp* (71%, p=0,010) e/ou *Candida spp* (55%, p=0,001) e/ou *Trichomonas vaginalis* (94%, p=0,013);
- Em mulheres com relato de corrimento: aumento da incidência de *Candida spp* (41%) e redução da incidência de *Lactobacillus sp* (22%);
- Em mulheres com anormalidades epiteliais: vaginose bacteriana (32,9%), *Trichomonas vaginalis* (10,2%) e *Chlamydia sp* (6,4%).
- Aumento da frequência de anormalidades epiteliais em mulheres: com relato de infecção por HPV (31,3%, p=0,000) e de serem portadoras de HIV (50%, p=0,000); com pouca escolaridade (17,2%, ensino fundamental; ensino médio, 6,2%); com baixa renda (15,8%, 1- 2 salários mínimos; 3,3%, 3-5 salários); tabagistas (15,2, mais de 20 cigarros/dia; 16,3%, até 20 cigarros/dia; 7%, não fumantes); com IAS precoce (50%, 9 anos; 9,5%, 15 anos); com número elevado de parceiros sexuais (29%, mais de 100; 4,1%, 1); com abortos anteriores (16,5%, sim; 9,8%, não).

-
- Maior frequência de associação de vaginose bacteriana e *Trichomonas vaginalis*: mulheres com filhos (63,4%) em relação às sem filhos (36,6%); em fumantes (54%, mais de 20 cigarros/dia; 33%, até 20 cigarros/dia; 13%, não fumantes).
 - Maior incidência de vaginose bacteriana para IAS precoce (16,1%, 13 anos; 3,6%, 18 anos).
 - Maior incidência de *Trichomonas vaginalis* para 15 parceiros (13,2) em relação a apenas um (5,3%).
 - Presença de mRNA E6/E7 de HPV (teste Nuclisens Easy Q) dos tipos 16(44%), 33 (21%), 31 e 45 (14%) e 18 (7%), em 10 de 25 amostras testadas.
 - Presença de HPV na técnica de PCR em 11 de 19 amostras testadas, inclusive em 5 amostras negativas para mRNA E6/E7 de HPV, significando presença de outros tipos de HPV ou a não integração ao DNA celular.
 - Foi detectada a presença de HPV associada à positividade para anormalidades epiteliais, em 33% dos casos de relatos de infecção anterior por HPV e em 100% de relato de positividade para HIV.

Assim, em uma população prisional jovem, detectou-se a influência fatores de risco como baixa escolaridade, renda mensal e idade de IAS; paridade e abortos anteriores; multiplicidade de parceiros sexuais; e tabagismo, na incidência de DST e de lesões cervicais pré-neoplásicas. Além disso, detectou-se infecção por vários tipos oncogênicos de HPV e alta correlação entre a presença de HPV e foi observada a positividade para lesões intraepiteliais cervicais.

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

- 1) ABRAMOVAY, M., RUA, M. G. **Violência nas escolas**. 2a edição, Brasília: Editora Unesco, Ações Institucionais, 1999.
- 2) ANSCHAU, F. *et al.* Associação entre o polimorfismo no códon 72 da p53 e as lesões malignas e pré-malignas cervicais. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 27, n. 10, p. 607-621, 2005.
- 3) AULT, K.A. Epidemiology and natural history of Human Papillomavirus Infections in the Female Genital Tract. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**. v. 2006, p. 1-5, 2006.
- 4) BARCELOS, B. R. M. *et al.* Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 30, n. 7, p. 349-54, 2008.
- 5) BASU, S. Compulsory HPV vaccination. **The New England Journal of Medicine**. v. 356, n. 10, p. 1074, 2007.
- 6) BERMAN, S., CATES JR, W. Sexually Transmitted Diseases among American Youth: Incidence and Prevalence Estimates, 2000. **Perspectives on Sexual and Reproductive Health**, v. 36, n. 1, p. 6 -10, 2004.
- 7) BERNARD, H.-U. Coevolution of papillomaviruses with human populations. **TRENDS in Microbiology**. v. 2, n. 4, p. 140 – 143, 1994
- 8) BERNARD, H.-U. *et al.* Identification and assessment of know and novel human papillomaviruses by polimerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 170, n. 5, p. 1077-1085, 1994
- 9) BERNARD, H.-U. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. **Journal of Clinical Virology**. v.32, p.1- 6, 2005.
- 10) BIBBO, M. *et al.* **Lesões Relacionadas à Infecção por HPV no Trato Anogenital**. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter Ltda., 1998.
- 11) BOSCH, F. X., QIAO, Y.L., CASTELLSAGUÉ, X. The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 94, supplement 1, p. 8 – 21, 2006.
- 12) BOWDEN, F. J. Was the Papanicolaou smear responsible for the decline of *Trichomonas vaginalis*? **Sexually Transmitted Infection**. v. 79, p. 262-266, 2003.

-
- 13) BOYLE, D. C. M. *et al.* Is the bacterial vaginosis associated with cervical intraepithelial neoplasia? **International Journal Gynecological Cancer**. v. 13, p. 159-163, 2003.
- 14) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais da saúde**. Rio de Janeiro: INCA, 2006. <http://bvsmms-bases.saude.bvs.br/cgi-bin/wxis.exe/iah/ms/>
- 15) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer - INCA/MS http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Nomenclaturas_2_1705.pdf/, 2006.
- 16) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Estimativa 2006/2007. http://www.inca.gov.br/conteúdo_view.asp?id=326. Acesso em setembro de 2007.
- 17) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer (INCA). Estimativa 2008/2009.
- 18) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Câncer - INCA/MS <http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/index.asp?link=mapa.asp&ID=5>. Acesso em março de 2010.
- 19) BRENNAN, S. M. F., SYRJÄNEN, K. J. Regulation of cell cycle is a key of importance in human papillomavirus (HPV)-associated cervical carcinogenesis. **São Paulo Medical Journal**. v. 121, n. 3, p. 128-132, 2003.
- 20) BRENNAN, S.M.F. *et al.* Prevalence of codon 72 P53 polymorphism in Brazilian women with cervix cancer. **Genetics and Molecular Biology**. v. 27, n. 4, p. 496-499, 2004.
- 21) BRINK, A. A. T. P. *et al.* HPV testing in cervical screening. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**. v. 20, n. 2, p. 253 -266, 2006.
- 22) CAN, A. **Principles of Molecular Virology**. 2° ed. San Diego-California: Academic Press. 1997.
- 23) CARESTIATO, F.N. *et al.* Analysis of molecular biology techniques for the diagnosis of human papillomavirus infection and cervical cancer prevention. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 39, n. 5, p. 428-432, 2006.
- 24) CASON, J., MANT, C. A. High-risk mucosal human papillomavirus infections during infancy & childhood. **Journal of Clinical Virology**. v. 32S, p. 52 – 58, 2005.
- 25) CASTELLSAGUÉ, X. *et al.* Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 98, n. 5, p. 303-315, 2006.

-
- 26) CASTLE, P. E. *et al.* An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infect with oncogenic human papillomavirus. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v. 10, p. 1021-1027, 2001.
- 27) CASTRO, T. M. P. G. *et al.* Manifestações orais associadas ao papilomavírus humano (HPV) conceitos atuais: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**. v. 70, n. 4, p. 546-550, 2004.
- 28) CAVALCANTI, S. M. B. e CARESTIATO, F. N. Infecções causadas pelos papilomavírus humanos: Atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnósticos. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**. v. 18, n. 1, p. 73-79, 2006.
- 29) CHARO, R. A. Politics, parents, and prophylaxis – mandating HPV vaccination in the United States. **The New England Journal of Medicine**. v. 356, n. 1905 – 1908, 2007.
- 30) CHEN, K.-T. *et al.* Chlamydial infection among patients attending STD and genitourinary clinics in Taiwan. **BMC Public Health**. v. 7:120, 2007.
- 31) COELHO, F. R. G. *et al.* **Câncer do Colo do Útero**. São Paulo, SP: Editora Tecmedd, 2008.
- 32) COLGROVE, J. The ethics and politics of compulsory HPV vaccination. **The New England Journal of Medicine**. v. 355, n. 23, p. 2389 – 2391, 2006.
- 33) COMEAU, P. Debate begins over public funding for HPV vaccine. **Canadian Medical Association or its licensors**. v. 176, n. 7, p. 913 – 914, 2007.
- 34) CUSCHIERI, K. S., CUBIE, H. A. The role of human papillomavirus testing in cervical screening. **Journal of Clinical Virology**. v. 32S, p. S34 – S42, 2005.
- 35) CUSCHIERI, K. S., WHITLEY, M. J., CUBIE, H. A. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence – implications for cervical disease progression and monitoring. **Journal of Medical Virology**. v. 73, p. 65 -70, 2004.
- 36) D'SOUZA, G. *et al.* Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. **New England Journal Medicine**, v.19, n. 356, p.1944 -1956, 2007.
- 37) Da ROS, C.T., SCHIMITT, C.S. Global epidemiology of sexually transmitted diseases. **Asian Journal of Andrology**. v. 10, n. 1, p. 110 -114, 2008.
- 38) DAVIM, R.M.B. *et al.* Knowledge of women about the Paptest in a Basic Unit of Health in Natal. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**. v. 39, n. 3, p. 296 – 302, 2005.
- 39) DAY, P. M., LOWY, D. R., SCHILLER, J. T. Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. **Virology**. v. 307, p. 1 – 11, 2003.

-
- 40) De FILIPPIS, R. A. *et al.* Endogenous human papillomavirus E6 and E7 proteins differentially regulate proliferation, senescence and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. **Journal of Virology**. v. 77, n. 2, p. 1551-1563, 2003.
- 41) De ROSSI, A. S. *et al.* Evolução da mortalidade e anos potenciais de vida perdidos por câncer cérvico-uterino em Salvador (BA), 1979-1997. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 73, n. 2, p. 163 -170, 2001.
- 42) De VILLIERS, E. M., FAUQUET, C., BROKER, T. R. BERNARD, H.U. Zur HAUSEN, H. Classification of papillomaviruses. **Virology**. v. 324, p. 17-27, 2004.
- 43) De VILLIERS, E.-M. *et al.*, Classification of papillomaviruses. **Virology**. n. 324, p. 17 – 27, 2004.
- 44) DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of Clinical Virology**. v. 32, p. 7 – 15, 2005.
- 45) DORFEY, E. *et al.* Infecções sexualmente transmissíveis: um estudo entre as mulheres encarceradas de uma cidade do oeste baiano. Monografia apresentada para conclusão de curso de enfermagem da FASB, 2007.
- 46) DOUVIER, S., DALAC, S. Infections à papillomavirus Human papillomavirus. **EMC-Maladies Infectieuses**. v. 1, p. 235 – 261, 2004.
- 47) ELEUTÉRIO, R. M. N. *et al.* Cervicite por *Chlamydia trachomatis* em mulheres sexualmente ativas atendidas em um serviço privado de ginecologia na cidade de Fortaleza. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 39, n. 4, p. 287 - 290, 2007.
- 48) FERREIRA, H. A. B. **Novo Dicionário Eletrônico Aurélio versão 6.0**. Positivo Informática Ltda., 2009.
- 49) GABRIEL, G. *et al.* Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and associated risk factors in women inmates admitted to a youth offenders institute in the UK. **International Journal of STD & AIDS**. v. 19, p. 26-29, 2008.
- 50) GARCIA, A. *et al.* Association of *Trichomonas vaginalis* with sociodemographic factors and others STDs among female inmates in Lisbon. **International Journal of STD & AIDS**. v. 15, p. 615-618, 2004.
- 51) GARCIA-VALLVÉ, S., ALONSO, A., BRAVO, I. G. Papillomaviruses: different genes have different histories. **TRENDS in Microbiology**. v. 13, n. 11, p. 514 – 521, 2005.
- 52) GARTNER, L.P. , HIATT, J.L., **Color Textbook of Histology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997.
- 53) GILLISON, M. L. *et al.* Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 92, n. 9, p. 709 – 720, 2000.

-
- 54) GILLISON, M. L. Human papillomavirus-related diseases: oropharynx cancers and potential implications for adolescent HPV vaccination. **Journal of Adolescent Health**. v. 43, p.s52 –s60, 2008.
- 55) GILLISON, M. L., KOCH W. M., SHAK K. V. Human Papillomavirus in head and neck cancers an sexually transmitted disease? **Current Opinion in Oncology**. v. 11, n. 3, p.191-199, 1999.
- 56) GOLDIE, S. J. *et al.* Cost-effectiveness of HPV 16,18 vaccination in Brazil. **Vaccine**. v. 25, p. 6257 -6270, 2007.
- 57) GOMPEL, C., KOSS, L. G. **Citologia Ginecológica e suas Bases Anatomoclínicas**. 1 ed. Editora Manole Ltda. São Paulo: 1997.
- 58) GOODWIN, E. C. Di MAIO, D. Repression of Human Papillomavirus oncogenes in HeLa cervical carcinoma cells causes the orderly reactivation of dormant tumor suppressor pathways. **PNAS**. v. 97, n. 23, p. 12513-12518, 2000.
- 59) GROOS, G. E. , BARRASO, R. **Infecção por Papilomavírus Humano – Atlas Clínico de HPV**. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda., 1999.
- 60) GUNNELL, A. S. *et al.*, Synergy between cigarette smoking and Human Papillomavirus type 16 in cervical cancer *in situ* development. **Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention**, v. 15, n. 11, p. 2141 -2147, 2006.
- 61) HABERMAN, S. The analysis of residuals in cross-classified tables. **Biometrics**. v. 29, p. 205-220, 1973.
- 62) HERRERO, R. *et al.* Human papillomavirus and oral cancer: the international agency for research on cancer multicenter study. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 95, n. 23, p. 1772-1783, 2003.
- 63) HOGEWONING, C. J., VAN DER BRULE, A. J. Condom use promotes regression of cervical intraepithelial neoplasia and clearance of human papillomavirus: a randomized clinical trial. **International Journal of Cancer**, v.107, n. 5, p. 811-816, 2003.
- 64) HOVLAND, S. *et al.* Calculations from a high risk population study. **22nd International Papillomavirus Conference**, Vancouver, Canada, 2005.
http://www.inca.gov.br/estimativa/2008/index.asp?link=conteudo_view.asp&ID=2.
Acesso em abril de 2008.
- 65) http://www.stanford.edu/group/virus/papilloma/2004goglincarnevale/PapillomaCancer_files/image001.gif. Disponível em abril de 2008.
- 66) <http://www.thehpvtest.com/About-HPV/Cervical-Cancer-FAQs.html>. Disponível em março de 2008.

-
- 67) HUANG, B., CHEN, H., FAN, M. A postulated role for human papillomavirus (HPV) in the transformation and proliferation of oral squamous cell carcinoma. (OSCC). **Medical Hypotheses**. v. 70, p. 1041-1043, 2008.
- 68) IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **IARC - Handbooks of Cancer Prevention - Cervix Cancer Screening**. v. 10, Lyon, IARC Press, 2005.
- 69) INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DO PORTO – IPO - Porto <http://www.ipoportor.min-saude.pt/formacaoeensino/hpv2.htm>. Disponível em março de 2008.
- 70) INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. IARC <http://screening.iarc.fr/atlashisto.php?lang=4>, 2009
- 71) KADISH, A. S. *et al.* Regression of cervical intraepithelial neoplasia and loss of Human Papillomavirus (HPV) infection is associated with cell-mediated immune responses to an HPV type 16 E7 peptide. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v. 11, p. 483-488, 2002.
- 72) KANESHIMA, E. N., *et al.*, Aplicação do método PCR-RFLP para tipagem de HPV em infecções cervicais de pacientes atendidas no LEPAC, Universidade Estadual de Maringá. **Acta Scientiarum**.v. 23, n. 3, p. 731-737, 2001.
- 73) KARANI, A. *et al.* The Pap smear for detection for bacterial vaginosis. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**. v.98, p. 20-23, 2007.
- 74) KAST, M. Search for HPV treatment vaccine. Heats up, researchers optimistic. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 98, n. 14, p. 954 – 955, 2006.
- 75) KLOMP, J. M. *et al.* Cytologically diagnosed *Gardnerella vaginalis* infection and cervical (pre)neoplasia as established in population-based cervical screening. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**. v. 199, p. 480.e1-480.e5, 2008.
- 76) KONEMAN, E. W. *et al.* **Diagnóstico Microbiológico. Texto e atlas colorido**. 5ª ed., Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
- 77) KOSS, L. G., MELAMED, M. R. **Koos' Diagnostic Cytology and its Histopathology Bases**. 5th ed. Philadelphia: J. B. Lippincott Company, 2006.
- 78) KRAUS, I. *et al.* Presence of E6 and E7 mRNA from human papillomavirus types 16, 18, 31, 33 and 45 in the majority of cervical carcinomas. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 44, n. 4, p. 1310-1317, 2006.
- 79) KUMAR, V., ABBAS, A. K., FAUSTO, N. **Pathology Basis of Disease**. 7 ed. Philadelphia: Elsevier, 2005.
- 80) LARSSON, P-G *et al.* Predisposing factors for bacterial vaginosis, treatment efficacy and pregnancy outcome among term deliveries, results from a preterm delivery study. **BMC Women's Health**. v.7, n.20, p. 1472 – 6874, 2007.

-
- 81) LIMA, C. A, PALMEIRA, J. A. V., CIPOLOTTI, R. Fatores ao câncer do colo uterino em Própria, Sergipe, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 22, n.10, p. 2151 – 2156, 2006.
- 82) LINGEN, M.W. The changing face of head and neck cancer. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**. v. 106, n. 3, p. 315-316, 2008.
- 83) LINHARES, A. C., VILLA, L. L. Vaccines against rotavirus and human papillomavirus (HPV). **Jornal de Pediatria**. v. 82, n. 3, p. 25 – 34, 2006.
- 84) MAGEE, C.G. *et al.* Preventive care for women in prison: a qualitative community health assessment of the Papanicolaou test and follow-up treatment at a California state women's prison. **American Journal of Public Health**. v. 95, n. 10, p. 1712 – 1717, 2005.
- 85) MAHTO, M., ZIA, S. Measuring the gap: from Home Office to the National Health Service in the provision of a one-stop shop sexual health service in a female prison in the UK. **International Journal of STD & AIDS**. v. 19, p. 586 -589, 2008.
- 86) MAPA DA POBREZA – <http://www.estadão.com.br/especiais/mapa-da-pobreza,38199.htm>. Disponível em junho de 2009.
- 87) MARTINS, M. C. L. *et al.* Avaliação do método de Papanicolaou para triagem de algumas infecções cérvico-vaginais. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 39 (3), p. 217-221, 2007.
- 88) MARTINS, N. V. **Patologia do trato genital inferior**, 1.a ed. São Paulo: Roca, 2005.
- 89) MEDEIROS, L. *et al.* Vertical transmission of the human papillomavirus. **Caderno de Saúde pública**. v. 21, n. 4, p. 1006 – 1015, 2005.
- 90) MEISELS, A., MORIN, C. **Cytopathology of the uterus**. 2 ed. American Society of Clinical Pathologists: Chicago, 1997.
- 91) MIGUEL, R. E. *et al.* Low prevalence of human papillomavirus in a geographic region with a high incidence of head and neck cancer. **American Journal of Surgery**. v. 176, n. 5, p. 428-429, 1998.
- 92) MIKAMO, H. *et al.* Intravaginal bacterial flora in patients with uterine cancer. High incidence of detection of *Gardnerella vaginalis*. **Journal of Infection and Chemoterapy**. v. 5, p. 82-85, 1999.
- 93) MILLER, C. S. *et al.* Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analyses, 1982-1997. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**. v. 91, n. 6, p. 622 – 635, 2001.

-
- 94) MOLIJN, A. *et al.* Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. **Journal of Clinical Virology**. v. 32S, p. S43 –S51, 2005.
- 95) MONSONEGO J. **Infecções e doenças genitais causadas por HPV. Diagnóstico e tratamento**. Rio de Janeiro: Livraria e Editora Revinter, 2010.
- 96) MOORE, T.O. Human papillomavirus, smoking, and cancer. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**. v. 5, n. 4, p. 323 - 328, 2001.
- 97) MORAES FILHO, A., LONGATTO FILHO, A. **Colo Uterino & Vagina. Processos inflamatórios. Aspectos histológicos, citológicos e colposcópicos**. Rio de Janeiro: Revinter, 2000.
- 98) MOREIRA JR., E. D. *et al.* Knowledge and attitudes about human papillomavirus, Pap smears, and cervical cancer among young women in Brazil: implications for health education and prevention. **International Journal of Gynecological Cancer**. v. 16, p. 599 -603, 2006.
- 99) MOUTH CANCER FOUNDATION. www.rdoc.org.uk/. Disponível em setembro de 2008.
- 100) MURTA, E. F. C. Incidence of *Gardnerella vaginalis*, *Candida sp* and human papillomavirus in cytological smears. **Sao Paulo Medical Journal**. v. 118, n. 4, p. 105-108, 2000.
- 101) NAIR, S., PILLAI, M.R. Human papillomavirus and disease mechanisms: relevance to oral and cervical cancers. **Oral Diseases** v. II, p. 350-359, 2005.
- 102) NCI BETHESDA SYSTEM WEBSITE ATLAS. <http://nih.techriver.net/>. Disponível em maio de 2009.
- 103) NONNENMACHER, B. *et al.* Identificação de HPV por biologia molecular em mulheres assintomáticas. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 1, p. 95-100, 2002.
- 104) OLIVEIRA, M. C. *et al.* HPV e carcinogênese oral: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 69, n. 4, p. 553-559, 2003.
- 105) ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUTE - OPS, Washington, DC, 7/2/2002. <http://www.paho.org/Spanish/DPI/100/100feature06.htm>, disponível em junho de 2009.
- 106) PEITSARO, P., JOHANSSON, B., SYRJÄNEN, S. Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical precursors as demonstrated by a novel quantitative real time PCR technique. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 40, n. 3, p. 886 – 891, 2002.
- 107) PEREIRA, J. C. R. **Análise de dados qualitativos. Estratégias metodológicas para as ciências da saúde, humanas e sociais**. 2ª ed., São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1999.

-
- 108) PEREIRA, S. M. M. *et al.* Screening for cervical câncer in high-risk populations: DNA Pap test or hybrid capture II test alone? **International Journal of Gynecological Pathology**. v. 25, p. 38-41, 2005.
- 109) PINHEIRO, N. A. e VILLA, L.L. Low frequency of p53 mutations in cervical carcinomas among brazilian women. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 34, n. 6, p. 727-733, 2001.
- 110) PINHO, A. A., FRANÇA JUNIOR, I. Prevenção do câncer de colo de útero: um modelo teórico para analisar o acesso e a utilização do teste de Papanicolaou. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**. v. 3, n. 1, p. 95-112, 2003.
- 111) PINTO, A. P., TULIO, S., CRUZ, O. R. Co-fatores do HPV na oncogênese cervical. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 48, n. 1, p. 73-78, 2002.
- 112) PROCA, D. M., ROFAGHA, S., ROFAGHA, K. S. High grade squamous intraepithelial lesion in inmates from Ohio: cervical screening and biopsy follow-up. **Cytojournal**, v. 3, n. 5, p. 1-4, 2006.
- 113) PSYRRI, A., DiMAIO, D. Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. **Nature Clinical Practice Oncology**. v. 5, n. 1, p. 24-31, 2008.
- 114) QUEIROZ, C. *et al.* P16^{INK4a} expression as a potential prognostic marker in cervical pre neoplastic and neoplastic lesions. **Pathology – Research and Practice**. v. 202, p. 77-83, 2006.
- 115) RAMOS, E. S. N. *et al.* Avaliação da sensibilidade da citopatologia através de estudo comparativo com a colposcopia em portadoras de lesões cervicais induzidas pelo papilomavírus humano. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 41, n. 3, p. 177-179, 2009.
- 116) ROSSEAU, M.-C. *et al.* Predictors of cervical coinfection with multiple human papillomavirus types. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v. 12, p. 1029 – 1037, 2003a.
- 117) ROSSEAU, M.-C. *et al.* Occurrence of cervical infection with multiple human papillomavirus types is associated with age and cytologic abnormalities. **Sexually Transmitted Diseases**. v. 30, n. 7, p. 581 – 587, 2003b.
- 118) RUGPAO, S. Risk factors for bacterial vaginosis incidence in young adult Thai women. **Sexually Transmitted Diseases**. v. 35, n. 7, p. 643- 648, 2008.
- 119) SAWAYA, G. F. HPV vaccination – more aswers, more questions. **The New England Journal of Medicine**. v. 356, n. 19, p. 1991 - 1992, 2007.
- 120) SCHIFFMAN, M. *et al.* Human papillomavirus and cervical cancer. **The Lancet**. v. 370, p. 890- 907, 2007
- 121) SCHOLTEN, V. *et al.* Cervical dysplasia and associated risk factors in a juvenile detainee population. **North American Society for Pediatrics and**

Adolescent Gynecology (NASPAG), 22nd Annual Clinical Meeting, p. 93 - 94, 2008.

122) SCULLY, C. *et al.* Oral cancer, the evidence for sexual transmission. **British Dental Journal**. v. 4, n. 199, p. 203-207, 2005.

123) SCULLY, C. *et al.* Oral squamous cell carcinoma, from an hypothesis about a virus, to concern about possible sexual transmission. **Oral Oncology**, v.38, n. 3, p. 227-234, 2002.

124) SILVA FILHO, A. M., LONGATTO FILHO, A. **Colo uterino e vagina. Processos inflamatórios. Aspectos histológicos, citológicos e colposcópicos.** Rio de Janeiro: Livraria e editora Revinter Ltda, 2000.

125) SIMBULAN, N. P. *et al.* High-risk behaviors and the prevalence of sexually transmitted diseases among women prisoners at the women state penitentiary in Metro Manila. **Social Science & Medicine**, v. 52, p. 599 -608, 2001.

126) SMITH, J. S. *et al.* Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 186, n. 8, p. 1057 – 1198, 2002.

127) SOLOMON, D., NAYAR, R. **Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal.** 2.^o ed. Rio de Janeiro: Livraria e editora Revinter Ltda, 2005.

128) SOPER, D. Trichomoniasis: under control or undercontrolled? **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. v. 190, p. 281-290, 2004.

129) STANLEY, M. Human papillomavirus vaccines versus cancer cervical screening. **Clinical Oncology**. v. 20, p.388 – 394, 2008 b.

130) STANLEY, M. Immunobiology of HPV and HPV vaccines. **Gynecology Oncology**. v. 109, p. 15 – 21, 2008 a.

131) STEBEN, M., DUARTE-FRANCO, E. Human papillomavirus infection: Epidemiology and pathophysiology. **Gynecology Oncology**. v. 107, p. 2-5, 2007.

132) STERLING, J. C. Human papillomaviruses and skin cancer. **Journal of Clinical Virology**. v. 32, p. 67 -71, 2005.

133) STRAZZA, L. *et al.* Estudo da vulnerabilidade à infecção DST/AIDS em detentas de uma penitenciária feminina de São Paulo –SP, Brasil, avaliada pela técnica sorológica. **DST – Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**. v. 15, n. 4, p. 27-32, 2003.

134) TAKAHASHI, M. **Atlas Colorido de Citologia do Câncer.** 2^a ed. São Paulo: Manole, 1982.

135) The University of Iowa Libraries Hardin Library for the Health Sciences. <http://www.lib.uiowa.edu/hardin/md/cdc/6056.html>. Disponível em setembro de 2008.

-
- 136) THOMISON III, J., THOMAS, L. K., SHROYER, K. R. Human papillomavirus: molecular and cytologic/histologic aspects related to cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma. **Human Pathology**. v. 39, p. 154-166, 2008.
- 137) TROTTIER, H. *et al.* Human papillomavirus infection with multiples types and risk of cervical neoplasias. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v. 15, n. 7, p. 1274-1280, 2006.
- 138) TUON, F. F. B. *et al.* 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**. v. 48, n. 2, p. 140-144, 2002.
- 139) TYRING, S. K. Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis and host immune response. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 43, p. 518-526, 2000.
- 140) VACCARELLA, S. *et al.* Sexual behavior, condom use, and Human Papillomavirus: Pooled Analysis of the IARC Human Papillomavirus. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v.15, n. 2, p. 326 – 333, 2006.
- 141) VAN De VELDE, N., BRISSON, M, BOYLE, M. C. Modelling human papillomavirus vaccine effectiveness: quantifying the impact of parameter uncertainty. **American Journal of epidemiology**. v. 165, n. 7, p. 762 – 775, 2007.
- 142) VAN DUIN, M. *et al.* Analysis of Human Papillomavirus type 16 E6 variants in relation to p53 codon 72 polymorphism genotypes in cervical carcinogenesis. **Journal of General Virology**. v. 81, p. 317 - 325, 2000.
- 143) VENTURI, R. M. V., CABRAL, M. G., LOURENÇO, S. Q. C. Carcinoma de células escamosas orais – contribuição de vírus oncogênicos e alguns marcadores moleculares no desenvolvimento e prognóstico da lesão: uma revisão. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 70, n. 3, 2004.
- 144) VIIKKI, M. *et al.* Gynecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. **Oncology**. v. 39, n. 1, p. 71-75, 2000.
- 145) VILLA, L. L. Biology of genital human papillomaviruses. **Gynecology & Obstetrics**. v. 94, p. 3 – 7, 2006.
- 146) WANG, J. Trichomoniasis. **Primary Care Update for OB/GYNS**. v. 7, n. 4, p. 148-153, 2000.
- 147) WHANG, J. D., LEE, J. H. Molecular genetics of gynecologic cancer. **Journal of Korean medical science**. v. 12, n. 5, p. 383-389, 1997.
- 148) WINNER, R.L. *et al.* Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. **The Journal of Infectious Diseases**. v.191, p. 731 - 738, 2005.

149) WOODMAN, C. B. J., COLLINS, S. I., YOUNG, L. S. The natural history and cervical HPV infection: unresolved issues. **Nature Publishing Group**. v. 7, p. 11 – 22, 2007.

150) WÜNSCH FILHO, V., GATTÁS, G. J. F. Biomarcadores moleculares em câncer: implicações para a pesquisa epidemiológica e a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**. v. 17, n. 3, p. 467-480, 2001.

151) YAGINUMA, Y., WESTHPAL, H. Analysis of the p53 gene in human uterine cell lines. **Cancer Research**. v. 51, p. 6506-6509, 1991.

152) ZHANG, Z. F *et al.* *Trichomonas vaginalis* and cervical cancer. **Annals of Epidemiology**. v. 5, n.4, p. 325-332, 1995.

ANEXOS



ANEXO I

AUTORIZAÇÃO DA DIREÇÃO DA PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA

“IN CITO”
Citologia Diagnóstica Ltda.

CNPJ: 08.212.708/0001-18
R: Dr. César, no. 72 – 4º. Andar - Sala 42 – PABX: 6950-8464
Santana – São Paulo – CEP: 02013-000

Declaração

Declaro para os devidos fins que, o Prof. Ms. Marco Antonio Zonta está autorizado a orientar e desenvolver o projeto de mestrado da aluna Luciene Tucholski, vinculada à Universidade Federal do Paraná (UFPR) apresentando o tema: **“Incidência de lesões intraepiteliais e de papilomavirus humano (HPV) em material cérvico-vaginal e oral em mulheres do Presídio Feminino da Cidade de São Paulo”**, que será desenvolvido em parceria com a referida universidade e o “IN CITO” – Citologia Diagnóstica Ltda.

Atenciosamente,

Marcia de Lima
Coordenadora da
Saúde da APAC.

Dr. Maria da Penha
Diretora do Presídio Feminino de São Paulo

Prof. Ms. Marco Antonio Zonta – CRBM: 3675
Dra. Priscila Paruci – CRBM: 10.431
Dra: Priscila Hyppolito de Oliveira – CRBM: 10.430



SECRETARIA DA ADMINISTRAÇÃO PENITENCIÁRIA
COORD. DAS UNID. PRISIONAIS DE SÃO PAULO E DA GRANDE SÃO PAULO
PENITENCIÁRIA FEMININA DE SANT'ANA

Declaração

Declaro para os devidos fins que, o Prof. Ms. Marco Antônio Zonta está autorizado a orientar e desenvolver o projeto de mestrado da aluna Luciene Tucholski, vinculada à Universidade federal do Paraná (UFPR) apresentando o tema: **“Incidência de lesões intraepiteliais e de papilomavirus humano (HPV) e material cérvico-vaginal e oral em mulheres do Presídio Feminino da Cidade de São Paulo”**, que será desenvolvido em parceria com a referida universidade e o “IN CITO” - Citologia Diagnóstica Ltda.

Atenciosamente

MARCIA DE LIMA
Coordenadora da Saúde APAC

MARIA DA PENHA RISOLA DIAS
Diretora Técnica de Departamento

Prof. Ms. Marco Antonio Zonta – CRBM: 3675
Dr^a Priscila Paruci – CRBM: 10.431
Dr^a Priscila Hyppolito de Oliveira – CRBM: 10.430

ANEXO II

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL SÃO
PAULO – CEP 0369/06



São Paulo, 25 de agosto de 2006
CEP 0369/06

Ilmo(a). Sr(a).

Pesquisador(a) MARCO ANTONIO ZONTA

Co-Investigadores: Antonio Carlos Pignatari (orientador)

Disciplina/Departamento: Infectologia/Medicina da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Patrocinador: Recursos Próprios.

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Prevalência da infecção genital e oral pelo papilomavírus humano (HPV) em mulheres do presídio feminino da cidade São Paulo"**.

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: intervenção diagnóstica.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: sem risco, desconforto leve, decorrente de coleta de material cérvico vaginal e oral.

OBJETIVOS: Verificar, através dos métodos de citologia e moleculares, a prevalência da infecção genital e oral pelo Papilomavirus humano em mulheres internas do Presídio Feminino da Cidade de São Paulo..

RESUMO: Serão estudadas 650 amostras cérvico-vaginais e da orofaringe de mulheres e na faixa etária de 18 a 60 anos, com vida sexual ativa, internadas no Presídio Feminino da cidade de São Paulo. As pacientes serão submetidas a uma anamnese prévia, o material cérvico-vaginal e de oro faringe será colhido pelo método convencional. Parte do material será submetido à técnica de preparo em base líquida (Papanicolaou) e o restante será destinado às técnicas moleculares de captura híbrida e PCR. As análises citopatológicas serão submetidas à coloração de Papanicolaou e realizadas no setor de citopatologia do Laboratório de Biomedicina São Leopoldo. As técnicas moleculares serão realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Disciplina de Doenças Infecto-Contagiosas e Parasitárias da UNIFESP e Biologia Molecular da UNIBAN. Para detecção de HPV, será realizada reação de PCR e RFLP para tipagem do HPV de alto e baixo risco. Os produtos de PCR positivos para HPV serão sequenciados e comparados com as do Genbank.

FUNDAMENTOS E RACIONAL: Estudo visa avaliar prevalência de HPV na infecção genital e oral em mulheres do presídio feminino de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODO: Descreve os procedimentos e técnicas empregadas.

TCLE: adequado.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: CAPES / CNPq - R\$ 35000,00.

CRONOGRAMA: 48 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: doutorado.



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 25/8/2007 e 24/8/2008.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo



ANEXO III
ACEITE DE ESTÁGIO EXTERNO



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina
Departamento de Medicina

Disciplina de Infectologia

Laboratório Especial de Microbiologia Clínica

São Paulo, 11 de outubro de 2007.

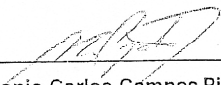
Profa. Dra. Marilis Dalarmi Miguel
Coordenadora do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Prezada Coordenadora,

A aluna Luciane Tucholski, colaboradora do projeto de pesquisa de doutorado do aluno Marco Antonio Zonta, intitulado "Prevalência da infecção genital e oral pelo Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres do Presídio Feminino da Cidade de São Paulo", regularmente matriculado programa de pós-graduação da Disciplina de Infectologia da UNIFESP sob minha orientação poderá realizar um estágio externo em nossa instituição para a realização de experimentos relativos ao seu Projeto de mestrado. O projeto de mestrado da aluna matriculada no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná intitulado "Estudo da correlação entre as lesões intraepiteliais orais e cervicais e a presença de Papilomavírus Humano (HPV) em internas da Penitenciária Feminina da Cidade de São Paulo" sob orientação da Profa. Maria Suely Soares inclui técnicas de biologia molecular que desenvolvemos em nossos laboratórios.

Este estágio será relevante para o andamento do projeto de pesquisa e para o processamento das amostras necessitaremos de reagentes específicos que deverão ser disponibilizados.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Antonio Carlos Campos Pignatari
Prof. Titular da Disciplina de Infectologia
Diretor do Laboratório Especial de Microbiologia Clínica
UNIFESP / EPM

Rua Leandro Dupret, 188 – Vila Clementino – São Paulo – Brasil – 04025-010
Fone: 55 - (11) 5571-5180 / 5081-2819 / 5081-2965
Homepage: <http://www.lemc.com.br>
E-mail: lemcdipa@terra.com.br



ANEXO IV
QUESTIONÁRIO APLICADO ÀS DETENTAS

Nome:

Idade:

Caso:

DUM:

Data coleta:

Responsável pela coleta:

1. Estado civil:

Casada () Separada () Solteira () Outro ()

2. Filhos: sim () não ()

3. Já fez exame preventivo (Papanicolaou)? Sim () Não ()

Regularmente 1x ano () uma única vez () raramente ()

4. Faz uso de prótese dentária? sim () não () Tempo: () anos

5. Tem ou teve algum tipo de lesão na região da boca? Sim () Não ()

Qual?.....

6. Grau de escolaridade: nenhum () Fundamental - até 4.ªsérie ()

Médio - até 8.ªsérie () 2.º Grau () Superior completo () Superior incompleto ()

7. Possuíam saneamento básico? sim () não ()

8. Qual era a sua renda mensal média antes da detenção?

- 1 salário () 1 a 2 salários () 3 a 5 salários () +5 salários ()

9. Fumante: sim () não () → intenso () moderado ()

10. Idade de início de atividade sexual: () anos

11. Número de parceiros (as) desde início da atividade sexual:

1 () 2 a 5 () 6 a 15 () Mais que 15 () Mais que 30 () Mais que 100 ()

12. Uso de preservativo:

Sempre () Às vezes () Nunca ()

13. Abortos: sim () não () Quantos? ()

1 () 2 () 3 () 4 ou mais ()

14. Opção Sexual:

Homossexual () Bissexual () Heterossexual () Outro ()

15. Parceiras internas: sim () não ()

16. Tem ou teve alguma DST? Qual?

17. Fez algum tipo de tratamento? Qual?.....

18. Já fez tratamento para algum tipo de câncer?

Qual?.....

19. Uso de drogas: sim () não () → Injetáveis () não injetáveis ()

ANEXO V

EXTRAÇÃO DE MATERIAL GENÉTICO
NUCLISENS EASY MAG - BIOMÉRIUX®

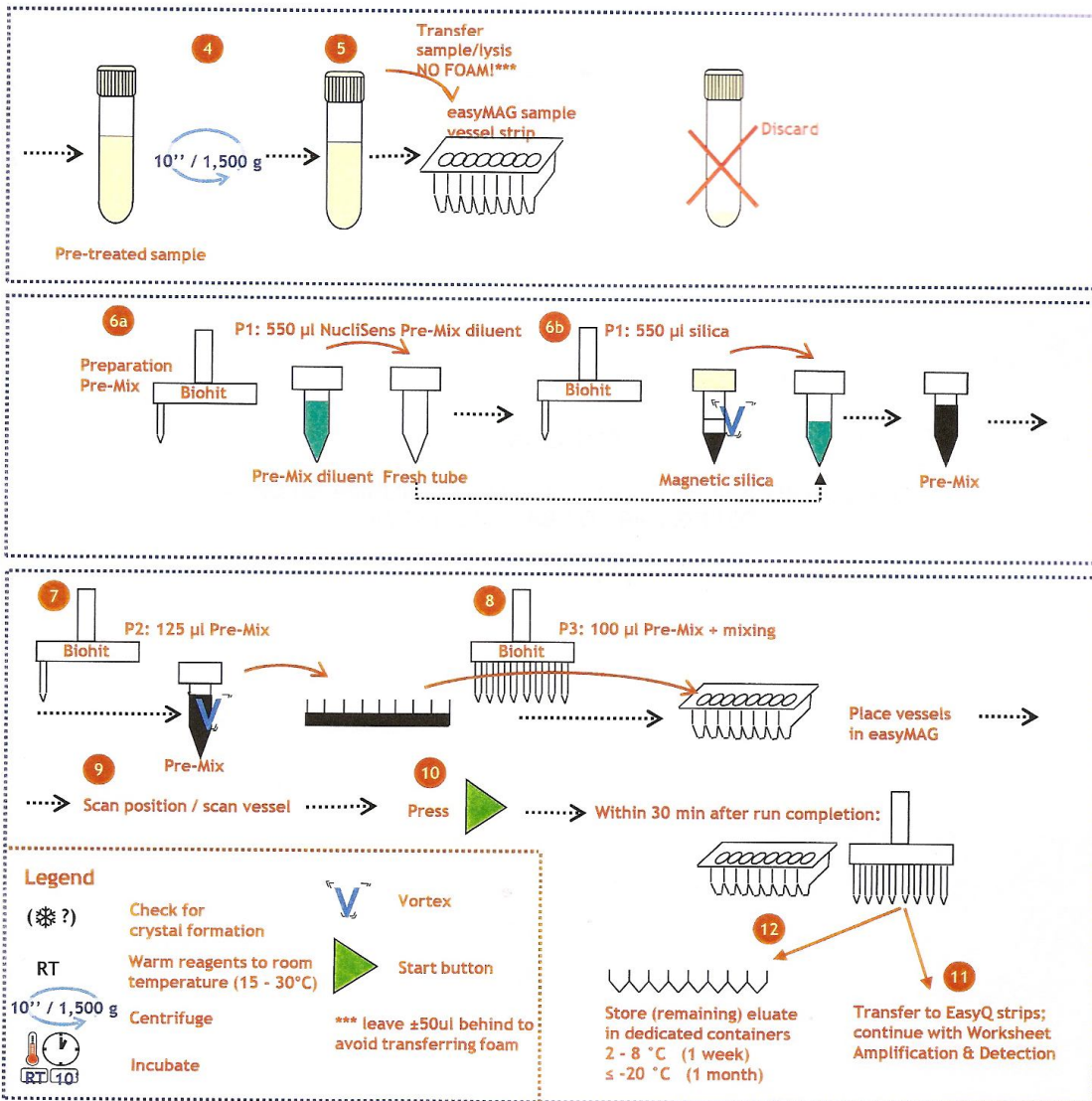
NucliSENS® EasyQ HPV v1.0 Worksheet

NucliSENS® Magnetic Extraction

easyMAG “off board” workflow



- 1 Start instrument, load easyMAG software
- 2 Prepare a run (lysis off-board)
- 3 Select a run



NucliSENS® EasyQ HPV v1.0 Worksheet Amplification & Detection

