

ANDRÉA EMILIA MARQUES STINGHEN

**MÉTODO DE PAPANICOLAOU EM AMOSTRAS  
CÉRVICO-VAGINAIS: CONTRIBUIÇÃO PARA  
A TRIAGEM DE ALGUMAS DOENÇAS  
SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS**

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

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Suely Soares  
Co-orientador: Prof. Dr. Aguinaldo José do  
Nascimento

CURITIBA


2002

**“Método de Papanicolaou em amostras cérvico-vaginais: contribuição para a triagem de algumas doenças sexualmente transmissíveis”.**

por

# **ANDRÉA EMILIA MARQUES STINGHEN**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, pela Banca Examinadora formada pelos Professores



**Prof.ª Dra. Maria Suely Soares Leonart (Orientadora/Presidente)**



**Prof.ª Dra. Primavera Borelli (Titular/USP)**



**Dra. Libera Maria Dalla Costa (Titular/UFPR)**

**Curitiba, 28 de junho de 2002**

## **ANDRÉA EMILIA MARQUES STINGHEN**

Bolsista no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica PIBIC-CNPq, Universidade Federal do Paraná, com o projeto de pesquisa “Métodos e padrões de controle de qualidade em hematimetria”, sob orientação da Prof<sup>a</sup> Maria Suely Soares, 1992-93. Farmacêutica Bioquímica graduada pela Universidade Federal do Paraná em fevereiro de 1993. Especialista em Bacteriologia pela Universidade Federal do Paraná em janeiro de 1994. Atualmente Farmacêutica Bioquímica, setor de Microbiologia, Laboratório Cajuru Análises Clínicas, Professora de Citologia Clínica e Microbiologia Clínica, Curso de Farmácia e Bioquímica, UNIANDRAGE, Centro Universitário Campos de Andrade, e Secretária e Membro Efetivo do Núcleo de Estudos de Bacteriologia Clínica de Curitiba, NEBaC.

*Algo só é impossível até que alguém duvide  
e acabe provando o contrário.*

*Albert Einstein*

*Dedico este trabalho ao meu marido Túlio, grande amor da minha vida, que em todos os dias de nossa união me incentivou e me impulsionou a seguir em frente. A você querido, mil palavras não seriam suficientes para dizer o quanto sou grata por você existir.*

*Aos meus pais Maria Teresa e Edson pela vida e por fornecerem a base de todo meu sucesso, a educação.*

## AGRADECIMENTOS

À orientadora e querida amiga, Prof<sup>ª</sup> Maria Suely Soares, pelo apoio, confiança e amizade dedicados, por despertar em mim o espírito científico, por ter me dado a oportunidade de conhecer a Citologia Clínica, a qual se tornou um novo horizonte em minha vida e, sobretudo, por sempre acreditar em minha capacidade.

Ao co-orientador Prof. Aguinaldo José do Nascimento, pelas palavras carinhosas nos momentos difíceis, pelos conhecimentos em estatística e pela paciência e dedicação em me mostrar o melhor caminho.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao professor Obdúlio Gomes Miguel, pelo apoio no início deste curso.

À professora Almeriane Weffort Santos, pelo auxílio em vários momentos. Aos amigos do Laboratório de Citologia Clínica, pela convivência diária e momentos compartilhados, em especial a Ligia Maria Claro, por sempre poder contar com seu ombro amigo.

Ao querido amigo Prof. Carlos Augusto Albini pela amizade, carinho e incentivo os quais foram essenciais para esta conquista.

Às minhas grandes amigas Luciana Faiad Soni, Doralysa Nezello, Célia Arcari e Daniéle Viviane Barbiéri, que sempre me confortaram com palavras maravilhosas.

A amiga Luciana Fassina, pelo companheirismo e amizade dedicados nestes últimos meses.

Às amigas Luciana Soni e Gisele Pesquero Fernandes Bordignon, pela revisão e apoio na área da Micologia.

Ao Major Jorge Nunes Basso, pela oportunidade de compartilhar seus conhecimentos em Citologia Clínica.

Aos caros amigos do NEBaC – Núcleo de Estudos de Bacteriologia Clínica de Curitiba, que contribuíram no desenvolvimento e aprimoramento dos meus conhecimentos em Bacteriologia.

Aos funcionários da Unidade de Saúde Jardim Santos Andrade da Prefeitura Municipal de Curitiba, pela calorosa acolhida e pelo apoio oferecido, sem os quais seria impossível a obtenção das amostras para a realização deste estudo.

A todas as pacientes atendidas na Unidade de Saúde Jardim Santos Andrade, durante a realização deste trabalho, pela confiança em mim depositada e por tão gentilmente aceitarem participar desta pesquisa.

À Irene Ermelino Santos, funcionária do Laboratório de Citologia Clínica, pelo auxílio e cooperação no desempenho de minhas tarefas diárias e por me privilegiar todas as manhãs com seu sorriso.

À Regina Montrez, secretária do curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela disposição e gentileza a mim dispensadas durante toda a realização do curso.

À empresa Newprov – Produtos para Laboratórios Ltda, pelo fornecimento do material de Bacteriologia utilizado neste trabalho.

Às empresas Bio-Rad, Capricorn e Labmax Diagnóstica, pelo fornecimento dos reagentes para detecção de *Chlamydia trachomatis*.

À administração do HEMEPAR, por me ter permitido, a utilização do microscópio de Imunofluorescência do Laboratório.

À equipe do Serviço de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo apoio na utilização de equipamentos e instalações.

Aos professores responsáveis pelos laboratórios de Parasitologia Clínica e de Farmacognosia do Curso de Farmácia da UFPR, pela permissão do uso dos microscópios para a realização das fotomicrografias.

A todas as pessoas que, mesmo não mencionadas devido ao meu esquecimento, e que acrescentaram seus conhecimentos para a realização desta conquista, que certamente contribuiu para que eu me tornasse mestre e, com certeza, um ser humano melhor.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>xv</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xiii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>03</b>
2.1 DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS .....	04
2.2 DST E CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL.....	07
2.3 MICROBIOTA VAGINAL E VULVOVAGINITES.....	07
2.3.1 INFECÇÕES POR <i>Candida</i> spp. ....	08
2.3.2 VAGINOSES BACTERIANAS.....	11
2.3.3 INFECÇÕES POR <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	14
2.4 INFECÇÕES POR <i>Chlamydia trachomatis</i> .....	18
2.5 INFECÇÕES POR PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV).....	22
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
4.1 MATERIAL.....	29
4.1.1 PACIENTES.....	29
4.2 MÉTODOS.....	30
4.2.1 COLETA.....	30
4.2.2.1 SECREÇÃO VAGINAL PARA A REALIZAÇÃO DO EXAME A FRESCO E COLORAÇÃO LARANJA DE ACRIDINA.....	30
4.2.2.2 SECREÇÃO VAGINAL PARA BACTERIOSCOPIA PELO MÉTODO DE GRAM.....	30
4.2.2.3 SECREÇÃO ENDOCERVICAL PARA PESQUISA DE <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	30
4.2.2.4 SECREÇÃO ENDOCERVICAL PARA PESQUISA DE <i>Chlamydia trachomatis</i> .....	31
4.2.2.5 RASPADO DE MATERIAL CÉRVICO-VAGINAL PARA EXAME DE PAPANICOLAOU.....	31
4.2.3 TRANSPORTE E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS .....	32
4.2.4 EXAME A FRESCO PARA PESQUISA DE <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	32
4.2.5 MÉTODO DE COLORAÇÃO LARANJA DE ACRIDINA.....	32
4.2.6 MÉTODO DE GRAM.....	33
4.2.7 CULTURA PARA <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	34

4.2.8 PESQUISA DE <i>Chlamydia trachomatis</i> POR IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRETA (IFD).....	34
4.2.9 COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU.....	35
4.2.10 CONTROLE DE QUALIDADE DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU POR REVISÃO DE LÂMINAS.....	37
4.2.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>68</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>71</b>
<b>9 ANEXOS.....</b>	<b>84</b>

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – ALGUMAS DOENÇAS DE TRANSMISSÃO SEXUAL E SEUS RESPECTIVOS AGENTES ETIOLÓGICOS.....	05
QUADRO 2 - SISTEMA DE ESCORE PARA DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE VAGINOSE BACTERIANA, PROPOSTO POR NUGENT <i>et al.</i> , 1991.....	13
QUADRO 3 - COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU, SEGUNDO RECOMENDAÇÕES PRECONIZADAS PELO FABRICANTE.....	36
QUADRO 4 - SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU, QUANDO COMPARADO A OUTRO MÉTODO PARA DETECÇÃO DE <i>Chlamydia trachomatis</i> , DE ACORDO COM DIVERSOS AUTORES.....	65

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA DAS PACIENTES EM FUNÇÃO DA IDADE....	41
FIGURA 2 - HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA DO NÚMERO DE FILHOS DAS PACIENTES.....	41
FIGURA 3 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	42
FIGURA 4 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	43
FIGURA 5 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	43
FIGURA 6 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM. <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	44
FIGURA 7 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM. <i>Gardnerella vaginalis</i> e <i>Mobiluncus</i> spp. ....	44
FIGURA 8 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	45
FIGURA 9 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Mobiluncus</i> spp. ....	45
FIGURA 10 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Mobiluncus</i> spp. ....	46
FIGURA 11 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Mobiluncus</i> spp. ....	46
FIGURA 12 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Candida</i> spp. ....	47
FIGURA 13 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU <i>Candida</i> spp. ....	48
FIGURA 14 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU <i>Candida</i> spp. ....	48
FIGURA 15 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM. <i>Candida</i> spp. E <i>Lactobacillus</i> spp. ....	49
FIGURA 16 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	53
FIGURA 17 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	53

FIGURA 18 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. *Chlamydia trachomatis*.....55

FIGURA 19 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. *Chlamydia trachomatis*.....56

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS ANTERIORES, RELATADAS PELAS PACIENTES ATENDIDAS NA UNIDADE COMUNITÁRIA DE SAÚDE JARDIM SANTOS ANDRADE, NO PERÍODO DE 18/07/2001 A 27/11/2001.....	40
TABELA 2 – TEMPO DECORRIDO ENTRE A REALIZAÇÃO DO EXAME DE PAPANICOLAOU ANTERIOR E A COLETA, DAS PACIENTES ATENDIDAS NA UNIDADE COMUNITÁRIA DE SAÚDE JARDIM SANTOS ANDRADE, NO PERÍODO DE 18/07/2001 A 27/11/2001.....	40
TABELA 3 – RESULTADOS OBSERVADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E O MÉTODO DE GRAM, PARA A PESQUISA DE <i>Gardnerella vaginalis</i> e <i>Mobiluncus spp.</i> .....	49
TABELA 4 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS NA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E O MÉTODO DE GRAM, PARA A PESQUISA DE <i>Gardnerella vaginalis</i> E <i>Mobiluncus spp.</i> .....	50
TABELA 5 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS NA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E CULTURA DE FUNGOS, CONSIDERADA COMO PADRÃO, PARA A PESQUISA DE <i>Candida spp.</i> .....	50
TABELA 6 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU E CULTURA DE FUNGOS, CONSIDERADA COMO PADRÃO, PARA O DIAGNÓSTICO DE <i>Candida spp.</i> .....	51
TABELA 7 - ANÁLISE DE CONCORDÂNCIA PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE GRAM E PAPANICOLAOU PARA A PESQUISA DE <i>Candida spp.</i> .....	51
TABELA 8 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E O EXAME A FRESCO, PARA A PESQUISA DE <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	52
TABELA 9 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU COM O EXAME A FRESCO, PARA A PESQUISA DE <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	52
TABELA 10 - ANÁLISE DE CONCORDÂNCIA PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS A FRESCO E COLORAÇÃO DE LARANJA DE ACRIDINA PARA A PESQUISA DE <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	54
TABELA 11 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E A IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRETA, CONSIDERADA COMO PADRÃO, PARA A PESQUISA DE <i>Chlamydia trachomatis</i> .....	54
TABELA 12 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E A IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRETA, PARA O DIAGNOSTICO DE <i>Chlamydia trachomatis</i> .....	55

TABELA 13 - PORCENTAGEM GLOBAL DE CONCORDÂNCIA ENTRE OS OBSERVADORES A E B E A OBSERVADORA AEMS, EM RELAÇÃO À IDENTIFICAÇÃO DE MICROORGANISMOS, E/OU SEUS EFEITOS CITOPÁTICOS, NA REVISÃO DE 99 LÂMINAS DE MATERIAL CÉRVICO-VAGINAL.....	56
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  
CDC – *Centers for Diseases Control and Prevention*  
DIP – Doença Inflamatória Pélvica  
DIU – Dispositivo Intra Uterino  
DNA – Ácido Desoxirribonucléico  
DST – Doença Sexualmente Transmissível  
ELISA – Enzimaimunoensaio  
EUA – Estados Unidos da América  
FN – Falso Negativo  
FP – Falso Positivo  
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana  
HPV – Papilomavírus Humano  
HSIL – Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau  
IFD – Imunofluorescência Direta  
Ig – Imunoglobulina  
JEC – Junção Escamo Colunar  
KOH – Hidróxido de Potássio  
LA – Laranja de Acridina  
LCR – Reação em Cadeia da Ligase  
LSIL – Lesão Epitelial Escamosa de Baixo Grau  
NIC – Neoplasia Intraepitelial Cervical  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
P – Prevalência  
PBS – Tampão fosfato-salina  
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase  
PMN – Polimorfonuclear  
VB – Vaginose Bacteriana  
VN – Valor Negativo

VP – Valor Positivo

VPN – Valor Preditivo Negativo

VPP – Valor Preditivo Positivo

## RESUMO

As Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) são processos infecciosos causados por diversos microrganismos, amplamente difundidos por todo o mundo. Algumas delas estão entre as principais causas de morte em países em desenvolvimento, constituindo um sério problema de saúde pública. Existem diversas metodologias para o diagnóstico das DST, com graus de sensibilidade e especificidade variados, de acordo com cada agente etiológico a ser pesquisado. O método de Papanicolaou tem sido amplamente utilizado como um método de triagem para a detecção do câncer cervical na população feminina por todo o mundo. Neste contexto, ele pode ser um método relevante para o diagnóstico das DST. O objetivo deste estudo é verificar se o método de Papanicolaou, pode ser usado para a detecção de diferentes agentes etiológicos causadores das DST. Para tanto, examinou-se a secreção vaginal e raspado cérvico-vaginal de 223 mulheres submetidas ao exame preventivo de câncer cervical, de julho a novembro de 2001, na Unidade Comunitária de Saúde Jardim Santos Andrade, em Curitiba, pelo método de Papanicolaou e por um método padrão (em parêntesis) para o diagnóstico de *Gardnerella vaginalis* (coloração de Gram), *Mobiluncus* spp. (coloração de Gram), *Candida* spp. (cultura em meio de Mycosel e coloração de Gram), *Trichomonas vaginalis* (exame a fresco e coloração de laranja de acridina), *Chlamydia trachomatis* (imunofluorescência direta), e *Neisseria gonorrhoeae* (cultura em meios de ágar chocolate e Thayer Martin). O papilomavírus humano foi investigado somente pelo método de Papanicolaou. Comparou-se os resultados e realizou-se estudos estatísticos como os de sensibilidade e especificidade. Observou-se *G. vaginalis* em 17,8% das amostras analisadas, e encontrou-se uma sensibilidade de 87,2% e especificidade de 99,4%, quando se comparou o método de Papanicolaou com a coloração de Gram. Para a detecção de *Mobiluncus* spp., presente em 3,2% das amostras, a sensibilidade e especificidade foram de 85,7 e 99,5%, respectivamente, também, quando se comparou o método de Papanicolaou com a coloração de Gram. Quando se comparou o método de Papanicolaou com a cultura para detecção de *Candida* spp., a sensibilidade e especificidade encontradas foram de 23,3 e 96,8%, respectivamente. Porém, observou-se uma concordância de 86,3% quando se comparou o método de Papanicolaou com o de Gram, para este mesmo agente. A sensibilidade e especificidade encontradas para o diagnóstico de *T. vaginalis* foram, respectivamente, 60 e 99,5%, quando se comparou o método de Papanicolaou com o exame a fresco. Entretanto, quando se comparou sua detecção usando a coloração de laranja de acridina com o exame a fresco, a concordância foi de 99,1%. Utilizou-se a presença de inclusões eosinofílicas usualmente em células metaplásicas no exame de Papanicolaou, presente em 3,7% dos esfregaços cervicais, como critério sugestivo de infecção causada por *C. trachomatis*, e a sensibilidade e especificidade deste método foram de 37,5 e 100%, respectivamente, quando comparado ao exame de imunofluorescência direta. Não se detectou *N. gonorrhoeae* e papilomavírus humano (HPV), por nenhum dos métodos utilizados. Os resultados apresentados aqui sugerem que há uma alta sensibilidade do método de Papanicolaou para detecção de *G. vaginalis*, *Mobiluncus* spp. e *Candida* spp.. Entretanto, embora este método tenha mostrado alta especificidade no diagnóstico de *T. vaginalis* e *C. trachomatis*, estudos adicionais são necessários para uma avaliação mais precisa de sua sensibilidade.

## ABSTRACT

The Sexually Transmitted Diseases (STD), a group of infectious diseases caused by different microorganisms, are distributed all over the world. They constitute one of the most important causes of death in developing countries, and remain a serious problem in public health. There are many methods for the diagnosis of the STD, with variable degrees of sensibility and specificity depending on the causal agent. The Papanicolaou method has been widely used as a screening test for the detection of cervical cancer in women populations throughout world. In this context, it may become a relevant way for diagnosing STD. The purpose of this study was to verify whether the Papanicolaou method can be used for the detection of different STD-transmitted agents. To accomplish this, the vaginal discharge and the cervical smears of 223 patients submitted to the local cervical cancer prevention program from July to November/2001 in the Communitary Health Unit Jardim Santos Andrade in Curitiba, were examined both by the Papanicolaou method and by the gold standard method (in bracket) for the diagnosis of *Gardenerella vaginalis* (Gram stain), *Mobiluncus* spp. (Gram stain), *Candida* spp. (Gram stain and Saboureaud agar culture), *Trichomonas vaginalis* (freshly prepared wet mount and acridine orange method), *Chlamydia trachomatis* (direct immunofluorescence assay), and *Neisseria gonorrhoea* (Gram stain and Chocolate/Thayer Martin agar culture). Special attention was given for the diagnosis of the *Human Papilomavirus* (HPV) using only the Papanicolaou method. The results were then compared and statistical studies of sensitivity and specificity performed. *Gardnerella vaginalis* was observed in 17.8% of the samples examined and a sensitivity of 87.2% and specificity of 99.4% was found when comparing Papanicolaou and Gram stain methods. For the detection of *Mobiluncus* spp., present in 3.2% of the samples, the sensitivity and specificity were 85.7 and 99.5%, respectively, when the Papanicolaou was compared with Gram stain. When comparing the Papanicolaou method with the culture method for *Candida* spp., the sensibility and specificity found were 23.3 and 96.8%, respectively. Also, a concordance of 86.3% was observed for Papanicolaou method and Gram stain. The sensibility and specificity figure out for the diagnosis of *Trichomons vaginalis* were, respectively, 60 and 99.5%, when the Papanicolaou and the wet mount method were analyzed. However, when comparing its detection using the acridina orange stain with the wet mount method, the concordance was 99,1%. The presence of eosinophilic inclusions in usually metaplastic epithelial cells in Papanicolaou test observed in 3.7% of the cervical smears was used as a criterion for a suggestive infection caused by *Chlamydia trachomatis* and the sensitivity and specificity of this method were 37.5 and 100% when compared to the direct immunofluorescence test. *Neisseria gonorrhoea* and human papilomavirus were not detected by any methods used. The results presented herein suggest that there is a high sensibility of the Papanicolaou method for the detection of *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp., and *Candida* spp.. However, although this method has shown high specificity for the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* and *Chlamydia trachomatis*, additional studies should be performed to assure a better evaluation of its sensibility.

## **1 INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças sexualmente transmissíveis (DST) são processos infecciosos causados por uma variedade de microrganismos, amplamente difundidas por todo o mundo, estando diretamente envolvidas na transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Nos últimos anos, com o aprimoramento de protocolos de pesquisa e o surgimento de novas metodologias, tem se conseguido melhorar a detecção dos patógenos envolvidos nas DST (WHO, 2002).

O exame preventivo de câncer cervical, comumente chamado de exame de Papanicolaou, vem sendo utilizado há muitos anos para detecção de malignidade e de lesões pré-malignas. A implantação de programas para o combate da doença é crescente em nosso país. Recomenda-se que pacientes com histórias de DST realizem o exame mais freqüentemente, devido ao risco aumentado de desenvolver câncer cervical, pois alguns dos agentes responsáveis por DST parecem estar diretamente envolvidos neste processo. Nos países desenvolvidos em que se consegue realizar um exame preventivo anual em mulheres sexualmente ativas e acompanhar casos suspeitos, conseguiu-se diminuir substancialmente as taxas de câncer cervical e de DST (DUCCI *et al.*, 2001).

No Brasil, o uso do método de Papanicolaou é mais disseminado do que o de métodos microbiológicos, por ser importante na prevenção e controle do câncer cervical. Desta forma, por permitir a identificação de alguns agentes infecciosos, pode ser útil no encaminhamento de pacientes portadoras de DST.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS

As doenças sexualmente transmissíveis (DST) são processos infecciosos causados por um grupo heterogêneo de agentes, agrupadas devido à significância epidemiológica do contato sexual, embora este não seja necessariamente, o único meio de transmissão (REESE *et al.*, 1991). A época do aparecimento destas doenças é incerta, mas já no Levítico, no Antigo Testamento, há menção sobre a gonorréia. Lesões ósseas, seguramente causadas por sífilis, foram também encontradas em múmias egípcias de mais de 3.000 anos. Disseminadas por todos os continentes, as DST chegaram ao século XX altamente incidentes em quase todos os países e mantiveram-se assim até o final da II Guerra Mundial quando, com a descoberta da penicilina, tiveram uma diminuição significativa em sua incidência, considerando-se que na época a maioria dos casos conhecidos era de sífilis e de gonorréia. No entanto, no final da década de 50, observou-se um aumento do número de casos, com proporções ascendentes até 1980, quando atingiram cifras semelhantes àquelas observadas na era pré-penicilina (PASSOS, 2001). As clássicas DST, em número de 5, hoje são representadas por um grupo de 25 doenças de possível transmissão sexual, catalogadas na Organização Mundial de Saúde (OMS). Entre elas, são consideradas como doenças de transmissão essencialmente sexual, gonorréia, sífilis, cancro mole e linfogranuloma venéreo; e como doenças freqüentemente de transmissão sexual, donovanose, herpes genital, condiloma acuminado, tricomoníase, candidíase, uretrite não gonocócica, hepatite B, C, escabiose, pediculose e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). VERONESI (1998) descreve ainda as hepatites D e G, como transmissíveis sexualmente. No Quadro 1 estão descritas algumas doenças de transmissão sexual e seus respectivos agentes etiológicos.

Nos países em desenvolvimento, as DST em geral estão envolvidas na transmissão do HIV, constituindo um grave problema de saúde pública, além de estarem diretamente envolvidas na transmissão do vírus da imunodeficiência adquirida humana (HIV) (VAN DICK *et al.*, 2000).

QUADRO 1 – ALGUMAS DOENÇAS DE TRANSMISSÃO SEXUAL E SEUS RESPECTIVOS AGENTES ETIOLÓGICOS

Processos patológicos	Agentes etiológicos
Condiloma genital e anal, displasia cervical, câncer	Papilomavírus humano (HPV)
Vaginites	<i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Mobiluncus</i> spp., <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Candida albicans</i>
Uretrite, epididimite, cervicite, bartolinite, entre outros	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Uretrites, cervicites	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>
Herpes genital	Vírus da herpes tipo 2 ou tipo 1 (menos frequente)
Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)	Vírus da imunodeficiência humana
Linfogranuloma venéreo	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Granuloma inguinal	<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>
Sífilis	<i>Treponema pallidum</i>

Adaptado de: FORBES *et al.*, 1998.

De um modo geral, a faixa etária mais atingida está compreendida entre 20 e 30 anos, porém as DST vem aumentando nos indivíduos com mais de 40 anos (PASSOS, 2001). Estudos recentes mostram que as DST figuram coletivamente entre as cinco mais importantes causas de perda de anos de vida produtiva em países desenvolvidos e ocupam posição de destaque entre as doenças infecciosas emergentes. Nos países em

desenvolvimento, na população feminina entre 15 a 49 anos, as DST representam a segunda maior causa de morte (MENDES, 2001).

A incidência das DST no Brasil e no mundo vem atingindo grandes proporções, efeito esse gerado por diversos fatores, dentre eles: condições sócio-econômicas e culturais das populações, desinformação sobre educação sexual, mau preparo dos profissionais de saúde e de educação, não uso de preservativos, comportamento sexual promíscuo, automedicação, aparecimento de microrganismos resistentes, ocorrência de infecções assintomáticas, entre outros (PASSOS, 1995; FORBES *et al.*, 1998; WHO, 2002). A estimativa da incidência de DST curáveis, não incluindo AIDS e outras DST virais, para o ano de 1998, foi de 333 milhões de casos em todo o mundo (PASSOS, 2001). Segundo estimativas da OMS, o número de novos casos no Brasil no ano de 1999, na população de 15 a 49 anos, foi de 12 milhões, sendo: sífilis, 439 mil; gonorréia, 2,464 milhões; infecções por clamídia, 3,481 milhões; e tricomoníase, 6,139 milhões (WHO,2002).

As estratégias sanitárias a serem aplicadas para combater as DST são principalmente as de prevenção primária, ou seja, fomento a práticas sexuais mais seguras, incluindo o uso de preservativos, além do tratamento precoce e adequado das pessoas com DST (DICKER *et al.*, 2000). Nos últimos anos, com o aprimoramento de protocolos de pesquisa e novas metodologias para a detecção de patógenos causadores das DST, vem-se conseguindo melhorar a identificação de microrganismos clássicos e de outros agentes etiológicos como, *Chlamydia trachomatis*, papilomavirus humano (HPV), *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp. (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

## 2.2 DST E CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL

Em 1917, Papanicolaou propôs o uso sistemático do esfregaço cérvico-vaginal; em 1923, estudou o ciclo sexual em mulheres revelado pelo esfregaço vaginal e em 1928, referiu o uso do esfregaço para o diagnóstico do câncer (PAPANICOLAOU, 1928; HASS *et al.*, 1998). Recomenda-se um exame anual de Papanicolaou em mulheres sexualmente ativas, como preventivo do carcinoma cervical. Porém, pacientes com história de DST devem realizar o exame mais frequentemente, devido ao risco aumentado de câncer cervical, principalmente porque estas doenças, de modo geral, oportunizam infecções pelo HPV, reconhecidamente carcinogênico (CDC, 2002).

A colpocitologia pelo método de Papanicolaou é um exame de baixo custo, que pode ser empregado tanto para a pesquisa de malignidade ou de lesões pré-malignas, como para o rastreio de agentes das DST. Têm-se obtido resultados satisfatórios no que diz respeito à confiabilidade do método. No Brasil, o uso de metodologias específicas em programas de saúde para a pesquisa de agentes microbiológicos causadores de DST ainda é incipiente.

O diagnóstico das DST pelo método de Papanicolaou se dá, ou pela identificação direta dos microrganismos, ou por alterações citopáticas específicas provocadas por certos microrganismos. De um modo geral, este exame tem graus de sensibilidade e especificidade considerados aceitáveis (GIAMPAOLO, *et al.*, 1983; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000; PANÚCO *et al.*, 2000).

## 2.3 MICROBIOTA VAGINAL E VULVOVAGINITES

A microbiota vaginal normal usualmente é colonizada por lactobacilos, principalmente o *Lactobacillus acidophilus*, responsável pela manutenção do pH vaginal ácido, normalmente entre 4 e 5, através da produção de ácido lático e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,

desfavorecendo assim o desenvolvimento de diversos patógenos. Atualmente, sabe-se que os lactobacilos são os únicos capazes de converter glicogênio em lactato (MARDH, 1991). Além deste mecanismo de defesa, anticorpos do tipo IgA presentes no ambiente vaginal, protegem a mucosa, mas são facilmente destruídos por algumas proteinases bacterianas. A ausência dos lactobacilos foi reconhecida como fator de risco para infecções genitais e complicações na gravidez desde o final do século XIX (MARDH, 1991; DONDERS *et al.*, 2000).

Considera-se como vulvovaginite toda manifestação inflamatória e/ou infecciosa do trato genital feminino inferior, ou seja, vulva, vagina e ectocérvice. Os microrganismos mais envolvidos são: *Candida* spp., *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999; VAN DICK *et al.*, 2000). Alguns organismos como *Candida* spp. e *Gardnerella vaginalis*, são considerados como microbiota normal, porém em determinadas circunstâncias, podem predominar sobre os outros microrganismos presentes, levando ao desenvolvimento de vulvovaginites (MARDH, 1991). De um modo geral, as vulvovaginites se manifestam por meio de corrimento vaginal, cujas características podem ser bastante variáveis, associado a um ou mais dos seguintes sintomas: prurido vulvovaginal, dor ou ardor ao urinar e sensação de desconforto pélvico. Estes sinais e sintomas são inespecíficos, sendo que, em alguns casos, as infecções genitais são completamente assintomáticas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999).

### 2.3.1 INFECÇÕES POR *Candida* spp.

A candidíase é a infecção fúngica mais freqüente do trato genitourinário, não apresentando limitação geográfica do ponto de vista epidemiológico, pelo fato de ocorrer, na maioria das vezes, em pacientes predispostos a um super crescimento de sua própria microbiota (KOWON-CHUNG; BENNETT, 1992; MORAES FILHO; LONGATTO

FILHO, 2000). As espécies do gênero *Candida* estão amplamente envolvidas em casos de vulvovaginites, sendo que a *C. albicans* é responsável por aproximadamente 85% dos casos. Outros casos são devidos, principalmente, à *C. glabrata*, e raramente, a outras espécies, como, *C. krusei* e *C. tropicalis* (VAN DICK *et al.*, 2000).

Para que as espécies de *Candida* possam colonizar a vagina, elas devem aderir-se primeiramente a receptores presentes na superfície das células do epitélio vaginal e, em seguida, desenvolverem-se, proliferarem e germinarem, até provocar uma inflamação sintomática. Em geral, para que ocorra infecção, deve ocorrer uma alteração no ambiente vaginal com mudança do pH. O tempo de incubação é bastante variável, com início dos sintomas imediato ou após vários dias, segundo a sensibilidade da paciente. Os sinais e sintomas que podem estar presentes variam, desde as formas assintomáticas, que representam cerca de 50% dos casos, até aquelas que provocam leucorréias grumosas de coloração branca, inodoras e com aspecto de leite coalhado, acompanhadas de prurido vulvovaginal, ardor ou dor na micção, hiperemia, edema vulvar, fissuras e dispareunia superficial. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000; VAN DYCK *et al.*, 2000).

MORAES FILHO e LONGATTO FILHO (2000) citam como fatores predisponentes para a candidíase: traumas vaginais que podem ocorrer durante o coito, uso de tampões vaginais, alterações da microbiota, *diabetes mellitus*, uso de antibióticos de largo espectro, uso de corticosteróides, alterações imunológicas, condições de higiene e vestuário, gestação, pré-mênstruo e uso de contraceptivos orais. Deve-se considerar ainda que, pacientes portadoras do HIV são mais frequentemente acometidas por infecções mucocutâneas causadas por *Candida* spp. (MENDES, 2001).

O diagnóstico laboratorial da candidíase pode ser realizado através de diversas metodologias, com graus de sensibilidade e especificidade variados.

O exame direto ou a fresco do conteúdo vaginal revela a presença de estruturas birrefringentes compostas de células leveduriformes e/ou pseudo-hifas. A observação é

facilitada, colocando-se KOH a 10% sobre o material a ser examinado, para clarificação do material biológico.

O cultivo dos microrganismos presentes na secreção vaginal em meios específicos como ágar Sabouraud ou Mycosel é o método mais sensível para a detecção de *Candida* spp., sendo considerado como padrão para o diagnóstico de candidíase (KOWON-CHUNG; BENNETT, 1992).

A microscopia pelo método de Gram, amplamente utilizada, é considerada mais sensível que o exame a fresco. Observa-se células leveduriformes e/ou pseudo-hifas gram positivas (KOWON-CHUNG; BENNETT, 1992).

No método de Papanicolaou pode-se observar as pseudo-hifas e células leveduriformes isoladas ou em pequenos grupos, que podem estar próximas ou entrelaçadas com células epiteliais. A ação lesiva da *Candida* spp. promove alterações celulares reativas e degenerativas inespecíficas nas células do epitélio cérvico-vaginal, como: vacuolização citoplasmática, halo perinuclear, edema nuclear, hipercromasia e pseudoeosinofilia. As alterações aparecem mais frequentemente nas células intermediárias. Podem estar presentes no esfregaço células parabasais em maior número, mesmo havendo ação estrogênica, devido à erosão tecidual (GOMPEL e KOSS, 1997; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

As drogas de escolha para o tratamento de infecções por *Candida* spp. mais empregadas são os derivados imidazólicos como cetoconazol, butoconazol, terconazol, itraconazol e fluconazol. As recidivas crônicas são causadas normalmente por diminuição da resposta imune mediada pelo sistema imune celular e, nestes casos, o cetoconazol tem sido o mais utilizado (RADDI *et al.*, 1993; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

### 2.3.2 VAGINOSES BACTERIANAS

SCHNADIG *et al.* (1989) sugeriram como sinônimos de vaginose bacteriana (VB): vaginite por *Gardnerella vaginalis*, vaginose anaeróbica, vaginose não específica, e bacteriose vaginal. Ainda, o termo vaginite é utilizado como sinônimo.

Em 1955, GARDNER e DUKES apresentaram relatos sobre as características clínicas e laboratoriais da vaginose bacteriana que era considerada até o momento como vaginite inespecífica. Estes mesmos autores propuseram o nome *Haemophilus vaginalis* para o agente causal. HOLMES *et al.* (1981) propuseram o termo vaginose, em substituição à vaginite, para melhor caracterizar a ausência de processo inflamatório que constataram em presença de *G. vaginalis*. O termo vaginose foi aceito pela maioria dos autores. A microbiota vaginal de mulheres com vaginose bacteriana está associada com a substituição dos lactobacilos por microrganismos como *Gardnerella vaginalis* e espécies bacteróides como *Mycoplasma* spp. e *Mobiluncus* spp.. Para muitos autores, as bactérias anaeróbicas fazem parte da microbiota normal, e o termo “padrão anaeróbio” pode implicar numa mistura destes patógenos (BETHESDA, 2001). Acredita-se que o trato intestinal é o reservatório de muitas destas bactérias encontradas na VB, que podem levar a uma predisposição para várias infecções no trato urinário superior, no endométrio e na pélvis, ou a condições como, endometrites pós-parto e pós-cesárea, infecções pós-histerectomia, prematuridade fetal e parto pré-termo (MARDH, 1991). Amostras coletadas de fórnix superior de mulheres grávidas com VB apresentam altas concentrações de muco e de fluido vaginal, onde podem ser identificados produtos bacterianos como endotoxinas e interleucinas, que estimulam a síntese local de prostaglandinas, podendo levar à indução do trabalho de parto (PLATZ-CHRISTENSEN, 1995; GIACOMINI *et al.*, 1998; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

PLATZ-CHRISTENSEN *et al.* (1995); BHALLA e KAUSHIKA (1998) diagnosticaram a VB, com maior frequência, em mulheres com Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NIC). Estes autores sugeriram que a microflora anormal presente é capaz de

produzir nitrosaminas, que são convertidas por metabolismo celular em derivados carcinogênicos. É possível que estas nitrosaminas atuem sinergicamente com outros agentes oncogênicos, como o papilomavirus.

A *Gardnerella vaginalis* constitui o agente etiológico mais frequentemente envolvido em casos de VB. Morfologicamente, observa-se coco-bacilos pleomórficos gram variáveis. Estes produzem duas aminas polialifáticas, a putrescina e a cadaverina, que conferem odor de peixe ao corrimento, após adição de KOH 10%.

As espécies de *Mobiluncus* são também importantes, presentes em 38,6% das mulheres com VB (KONEMAN *et al.*, 2001). São representadas por bacilos móveis, Gram negativos ou Gram variáveis e encurvados. Duas espécies são reconhecidas, o *M. curtisii*, e o *M. mulieri*. O *Mobiluncus* spp. produz a trimetilamina, que confere um discreto odor de amina ao corrimento. Clinicamente, a infecção por *Mobiluncus* spp. é semelhante à causada por *G. vaginalis*. Ambos produzem uma reação leucocitária discreta, mas pode ocorrer ausência de polimorfonucleares (PMN). Geralmente, se encontram associados com *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealiticum*. Ainda não existem dados suficientes para que se possa estabelecer que o *Mobiluncus* spp. pode ser parte ou não da microbiota normal, em ausência de vaginose (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000; KONEMAN *et al.*, 2001).

Segundo AMSEL *et al.* (1983), os critérios para diagnóstico clínico-laboratorial das vaginoses causadas por *G. vaginalis* e *Mobiluncus* spp. são:

- Secreção pouco viscosa e homogênea, granular, com aspecto coalhado, fibrosa ou grumosa, escassa, moderada ou abundante;
- pH vaginal acima de 4,5;
- Odor de peixe pela adição de KOH 10%;
- Presença de “clue cells” ou células-chave;

Entre os métodos laboratoriais para diagnóstico da VB causada por estes agentes, a cultura, embora bastante sensível, é duvidosa, pois 36 a 55% de mulheres sem sintomas podem ter VB. Assim, nestes casos, a cultura apresenta um valor preditivo positivo (VPP)

menor que 50% e não é recomendada. Por outro lado, relata-se que a bacterioscopia, após coloração de Gram, apresenta sensibilidade de 62% a 100%, com VPP entre 76% e 100%. Em infecções por *G. vaginalis* pode-se observar, em esfregaços vaginais, células epiteliais recobertas por coco-bacilos pleomórficos gram variáveis, chamadas *clue cells* e, em infecções por *Mobiluncus* spp., células recobertas por bacilos curvos finos e delicados, geralmente gram negativos, mas podendo ser gram variáveis, chamadas *coma cells* (FORBES *et al.*, 1998; KONEMAN *et al.*, 2001).

NUGENT *et al.* (1991), baseando-se em critérios prévios de SPIEGEL *et al.* (1983), propuseram um sistema de escore, com escala de 0 a 10 pontos para classificação das VB através da avaliação da microbiota vaginal pela coloração de Gram, identificando a presença dos seguintes morfotipos: lactobacilos, *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp. (Quadro 2). A vaginose bacteriana é confirmada se o escore obtido para todos os morfotipos for maior que 6.

QUADRO 2 – SISTEMA DE ESCORE PARA DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE VAGINOSE BACTERIANA, PROPOSTO POR NUGENT *et al.*, 1991.

ESCORE	LACTOBACILOS	<i>G. vaginalis</i>	<i>Mobiluncus</i> spp.
0	4 +	0	0
1	3 +	1 +	1-2 +
2	2 +	2 +	3-4 +
3	1 +	3 +	-
4	0	4 +	-

ESCORE	INTERPRETAÇÃO
0-3	Normal
4-6	Intermediário
7-10	Positivo para vaginose bacteriana

Em testes para detecção de aminas, como a técnica de cromatografia gasosa, e no teste da aminopeptidase, enzima produzida por várias bactérias encontradas nas secreções de mulheres com VB, pode se obter sensibilidade de até 93%, porém de forma inespecífica (KONEMAN *et al.*, 2001).

A coloração de Papanicolaou permite a detecção de *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp. em amostras cervicais e a sua diferenciação em relação ao padrão lactobacilar. Pela coloração de Papanicolaou, no esfregaço sugestivo de infecção por *G. vaginalis*, observa-se bactérias dispersas como poeira entre as células epiteliais descamadas e formação de *clue cells*, células geralmente cianofílicas ou eosinofílicas, cariopícnóticas, com citoplasmas finos, transparentes e granulados, cobertos totalmente ou parcialmente por pequenas formações coco-bacilares aparentemente ligadas às células por uma de suas extremidades, com limites pouco nítidos, e que podem ser melhor observadas sob objetiva de imersão (1000 x). Já em casos de infecção por *Mobiluncus* spp., ao microscópio de luz (1000 x) observa-se delicados bacilos sobre as células epiteliais, conferindo à mesma um aspecto de toalha felpuda. (GOMPEL; KOSS, 1997; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

Em geral, as drogas utilizadas para o tratamento da VB incluem metronidazol, clindamicina, tinidazol, tianfenicol e secnidazol (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

### 2.3.3 INFECÇÕES POR *Trichomonas vaginalis*

O *Trichomonas vaginalis* é um protozoário unicelular flagelado, de formato ovóide ou periforme, que mede, em geral, 10 a 30 µm de comprimento por 7 µm ou mais de largura, e que se movimenta por rotação e oscilação, através de 3 a 5 flagelos, juntamente com uma membrana ondulante que possui na parte anterior do corpo. O pH

ótimo para seu desenvolvimento é de 5,5 a 6,0, ocorrendo diminuição da sua motilidade em pH menor que 4,9. Quando o *T. vaginalis* parasita o homem, a intensidade da doença está diretamente relacionada às condições fisiológicas do hospedeiro, bem como à microbiota concomitante. Formas gigantes, medindo 150 a 200 µm, podem ser observadas na fase mais virulenta da doença. Geralmente apresentam-se isolados, podendo formar colônias nos casos de infestação severa ou em pacientes imunodeprimidos (PETRIN *et al.*, 1998; CONSOLARO *et al.*, 1999; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000). Recentes estudos têm demonstrado que a incidência anual de tricomoníase é de 170 milhões de casos em todo o mundo. Somente nos EUA, o *Trichomonas vaginalis* é responsável por mais de 8 milhões de casos por ano, sendo estimado que 10 a 50% das infecções sejam assintomáticas (VAN DER SCHEE *et al.*, 1999; PETRIN *et al.*, 1998).

O parasita geralmente é encontrado na vagina e na uretra femininas, e na região prepucial masculina, sendo mais freqüente na mulher do que no homem. Alguns estudos sugerem que o zinco, presente nas secreções prostáticas masculinas, poderia exercer um certo poder antimicrobiano contra infecções pelo *Trichomonas vaginalis* (CONSOLARO *et al.*, 1999). A infestação feminina por *Trichomonas vaginalis* está relacionada à diminuição da acidez com predomínio de uma microbiota mista normalmente cocóide e freqüentemente associada a *Leptothrix* spp., bactéria gram negativa com morfologia em estruturas capiliformes, finas, longas e segmentadas, normalmente comensais da microbiota vaginal (CONSOLARO *et al.*, 1999; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

O *Trichomonas vaginalis* infecta principalmente o epitélio escamoso, e o tecido lesado pode funcionar como um importante fator de sobrevivência para o parasita, pois um dos mecanismos de patogenicidade parece ser o ataque à espectrina presente no citoesqueleto de eritrócitos do hospedeiro através da ação de proteinases, fornecendo ao mesmo lipídios e ferro necessários ao desenvolvimento de sua virulência (FIORI *et al.*, 1997). A inflamação vaginal está associada à presença de um corrimento ácido

mucopurulento, espumoso, de coloração amarela-esverdeada e odor fétido. Pequenos pontos hemorrágicos podem ser visualizados na vagina e mucosa cervical, caracterizando a cervicite em morango (PETRIN *et al.*, 1998).

Várias metodologias têm sido descritas para diagnóstico laboratorial do *T. vaginalis*. DONNÉ (1836) foi o primeiro a identificar o parasita em exame a fresco, um teste relativamente simples, que se baseia na observação da sua motilidade e morfologia ao microscópio de luz, sob aumento de 400 x, em amostras obtidas de secreções vaginais e cervicais. Apresenta baixa sensibilidade e um número considerável de resultados falso negativos. Entre as possíveis causas de erros, são apontadas, amostra escassa ou pobre em organismos, demora na realização do exame, condições ruins de microscopia, presença de sangue e uso de duchas vaginais prévias à coleta (CLAY *et al.*, 1988; PETRIN *et al.*, 1998).

A cultura nos meios de Diamond ou Trichosel apresenta alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de infecção por *T. vaginalis*. Porém, não é um método utilizado por ser dispendioso e devido à demora na obtenção dos resultados, que pode variar de 3 a 5 dias. Métodos alternativos de cultivo foram desenvolvidos, como o In Pouch TV® (BioMed Diagnostics), um sistema de identificação que consiste na semeadura da amostra em um envelope plástico contendo meio específico para *T. vaginalis*, e na observação da cultura diretamente na plataforma do microscópio, após incubação de 24 h a 5 dias (OHLEMEYER *et al.*, 1998).

A microscopia de iluminação reduzida e transmitida, ou transiluminação, mostra os flagelos em movimento e a membrana ondulante, porém a utilização deste método requer microscópio adequado a estas condições (MORAES FILHO e LONGATTO FILHO, 2000).

Várias colorações têm sido empregadas para a identificação morfológica de *T. vaginalis*, como a coloração de Gram, colorações hematológicas e citológicas. Alguns estudos tem sido desenvolvidos com corantes fluorescentes, como o laranja de acridina (LA). O LA é um corante fluorocromo, que cora diferencialmente os ácidos nucleicos

destes microrganismos. O citoplasma do *T. vaginalis* apresenta fluorescência vermelha e o núcleo, amarela. A sensibilidade e a especificidade deste método são consideradas comparáveis às do método a fresco. Porém, altas concentrações de bactérias na amostra tornam difícil a identificação do parasita, podendo haver resultados inespecíficos nestes casos (BICKLEY *et al.*, 1989; VAN DER SCHEE *et al.*, 1999).

A coloração de Papanicolaou mostra-se extremamente vantajosa para a evidencição de *T. vaginalis*, por ser amplamente utilizada em programas de rastreio de câncer cervical. Nos esfregaços cérvico-vaginais, estes protozoários aparecem como estruturas ovais, redondas, periformes ou irregulares. Deve-se tomar cuidado para não confundir os parasitas com muco, células metaplásicas degeneradas, neutrófilos ou pedaços de citoplasma. Alterações reativas podem ser observadas nas células epiteliais, como: edema nuclear, cariomegalia, binucleação, cariorréxis, pseudoeosinofilia, halo perinuclear e degeneração da cromatina. Podem ser vistos também fundo com infiltrado inflamatório variável e presença de células profundas, mesmo havendo ação estrogênica, devido à erosão tecidual (CONSOLARO *et al.*, 1999; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

A droga utilizada para o tratamento de tricomoníase é o metronidazol, tratando-se ambos os parceiros, para se evitar as recidivas (PETRIN *et al.*, 1998).

Alguns autores têm sugerido que o *Trichomas vaginalis* pode estar envolvido em casos de displasia cervical e carcinoma *in situ*, uma vez que facilita a instalação de outras DST, como infecções por HPV, intimamente associadas ao desenvolvimento de neoplasias cervicais. Outra suposição é que o metronidazol usado para o tratamento possa levar ao desenvolvimento de neoplasias, devido à sua ação carcinogênica, quando administrado em altas concentrações. A produção de nitrosaminas pelo *T. vaginalis* também poderia justificar o desenvolvimento de neoplasias, porém estudos adicionais são necessários para a obtenção de dados confirmatórios (ZHANG *et al.*, 1995).

## 2.4 INFECÇÕES POR *Chlamydia trachomatis*

A *Chlamydia trachomatis* é uma bactéria gram negativa, intracelular obrigatória, reconhecida principalmente nos países desenvolvidos, como o mais comum entre os patógenos sexualmente transmissíveis. Produz uma grande variedade de manifestações da doença, dependendo do sorotipo envolvido. As variedades sorotípicas A, B, Ba e C causam tracoma, e os sorotipos D e K produzem DST, enquanto os sorotipos L1, L2 e L3 estão associados especificamente ao linfogranuloma venéreo (PANÚCO *et al.*, 2000).

Nos EUA, dados do CDC indicam que as infecções urogenitais causadas pela *C. trachomatis* constituem a mais comum das DST em homens e mulheres. Mais de 650.000 casos foram reportados em 1999, sendo 3 em cada 4 em pessoas abaixo de 25 anos de idade. Estima-se que 4 milhões de pessoas são infectadas por ano naquele país, representando custos diretos e indiretos com a infecção de mais de 2,4 bilhões de dólares. Em mulheres, a *C. trachomatis* está envolvida em casos de doença inflamatória pélvica (DIP), gravidez ectópica e dor pélvica crônica (CHAN *et al.*, 2000; CDC, 2002). Em aproximadamente 50% dos casos, as infecções por *C. trachomatis* podem ser completamente assintomáticas durante anos, podendo gerar danos irreparáveis às trompas de Falópio e levando à infertilidade (PALER *et al.*, 2000; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000). Em dois terços dos casos em que há concomitância com a gravidez, a *C. trachomatis* é transmitida pela mãe para a criança durante o nascimento, sendo que 25 a 50% dos recém nascidos afetados desenvolvem conjuntivites; e 10 a 20%, pneumonites (PÁNUCO *et al.*, 2000).

O ciclo de vida da *C. trachomatis* é único entre os microrganismos, o que permite a sua classificação em uma ordem separada, a das *Chlamydiales*. Ocorrem duas formas distintas deste agente: a forma infectante, chamada corpo elementar, e a forma não infectante, chamada corpo reticular. Os corpos elementares são adaptados para a existência extracelular, por possuírem uma rígida parede celular similar à das bactérias gram negativas, e são relativamente inativos em seu metabolismo. Após a ligação a

receptores presentes na membrana da célula hospedeira, o corpo elementar é interiorizado em um vacúolo fagocítico, ao mesmo tempo em que ocorre a inativação dos lisossomos celulares pela partícula infectante. Dentro de 6 a 8 horas, o corpo elementar torna-se um corpo inicial ou corpo reticular, de 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro, não infectivo e metabolicamente ativo. Os corpos reticulares dividem-se por fusão binária, formando uma colônia de corpos iniciais em questão de horas, quando o vacúolo fagocítico original aumenta de tamanho para acomodar um grande número de organismos em seu interior. Em aproximadamente 24 horas, a multiplicação dos corpos iniciais é interrompida, ocorrendo a transformação para corpos elementares. Quando isto ocorre, a composição da colônia se torna mista, com maioria dos organismos na forma de corpos elementares. Nesta fase, o vacúolo fagocítico da célula hospedeira rompe-se, liberando os corpos elementares no meio extracelular, e dando continuidade ao ciclo (GIAMPAOLO *et al.*, 1983).

Várias metodologias têm sido descritas para o diagnóstico da infecção pela *C. trachomatis*. Um resultado confiável está diretamente associado a uma coleta representativa da região infectada. No caso de endocervicites, deve-se coletar material com escova ou *swab* apropriados, da região endocervical.

Dentre os métodos mais utilizados, o cultivo tissular em células McCoy tratadas com cicloheximida é o mais sensível. Porém, esse método é pouco utilizado por ser um procedimento que requer uma certa infra-estrutura laboratorial, maior tempo até a liberação dos resultados, cuidados especiais com o transporte da amostra e por apresentar um custo elevado (QUINN *et al.*, 1987; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999; VAN DYCK *et al.*, 2000).

A imunofluorescência direta (IFD), para a detecção da presença dos microorganismos intracelulares, é o teste mais sensível depois da cultura. Utiliza-se anticorpos monoclonais marcados com fluoresceína, podendo-se observar os corpos elementares, que ao microscópio de imunofluorescência em aumento de 400 x apresentam-se como pequenas formações arredondadas de coloração verde maçã, com bordos nítidos e bem definidos, medindo aproximadamente 0,25 a 0,35  $\mu\text{m}$ . Cada

fabricante recomenda que sejam observados os corpúsculos, em um número mínimo, para que a reação seja considerada positiva. O esfregaço deve ser observado por ao menos 3 minutos, antes que a reação seja interpretada como negativa. Amostras com ausência de células endocervicais são consideradas inadequadas para um diagnóstico seguro de infecção por *C. trachomatis* (KONEMAN *et al.*, 2001).

A técnica de Enzimaímunoensaio (ELISA), para evidenciação direta do antígeno na amostra coletada, apresenta sensibilidade e especificidade consideradas relativamente boas, sendo normalmente utilizada para triagem (KONEMAN *et al.*, 2001). Porém, alguns estudos sugerem ser necessária a confirmação de resultados positivos, devido a inespecificidade do método, especialmente em populações com baixa prevalência de *C. trachomatis* (CDC, 2002).

Através de ensaios sorológicos, é possível demonstrar e identificar anticorpos do tipo IgG, IgM e IgA específicos contra *Chlamydia trachomatis*, no soro de pacientes infectados. Atualmente, as técnicas sorológicas são consideradas de pouco valor, restringindo-se mais à pesquisa e a estudos soropidemiológicos de populações com alto risco de infecção por este agente (KONEMAN *et al.*, 2001);

Vários autores têm sugerido critérios para o diagnóstico de *C. trachomatis* nos esfregaços cérvico-vaginais corados por Papanicolaou para exame preventivo do câncer, baseados nos critérios sugeridos por GUPTA *et al.* (1979). Estes critérios envolvem a identificação de três tipos de inclusões citoplasmáticas, usualmente dentro de células metaplásicas mononucleadas ou multinucleadas e, ocasionalmente, dentro de células colunares. As inclusões representam os diferentes estágios do ciclo de vida da *C. trachomatis*. No primeiro estágio, observam-se pequenos vacúolos, em áreas rarefeitas do citoplasma, em geral perinucleares, onde se pode observar diminutos corpos cocóides, em geral eosinofílicos. No segundo estágio, a célula infectada apresenta-se levemente vacuolizada, contendo, no interior dos vacúolos, corpos elementares cocóides eosinofílicos, o que confere à célula um aspecto de mordedura de traça ou *moth eaten*. Finalmente, no terceiro estágio de infecção, múltiplos corpos de inclusão distribuídos

randomicamente ocorrem no interior de grandes vacúolos em áreas geralmente perinucleares de células que podem ser multinucleadas, em condensações eosinofílicas com área clara ao redor.

O diagnóstico citológico ainda é bastante discutido e os critérios morfológicos vem sendo aprimorados por vários pesquisadores. À medida que se desenvolvem pesquisas com critérios morfológicos mais definidos, observa-se que aumenta a sensibilidade do método citológico (GIAMPAOLO *et al.*, 1983; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000; PANÚCO *et al.*, 2000; KONEMAN *et al.*, 2001).

Entre os métodos moleculares, ensaios de amplificação do ácido desoxirribonucleico (DNA) como reação em cadeia da polimerase (PCR) e reação em cadeia da ligase (LCR) apresentam altas sensibilidade e especificidade. CHAN *et al.* (2000) demonstraram que o uso de urina de primeiro jato para detecção de *Chlamydia trachomatis* apresenta um melhor resultado quando comparado a amostras coletadas com *swab*, desde que a coleta seja adequada, especialmente em pacientes do sexo masculino.

EDELMAN *et al.* (2000) propuseram que só a presença do papilomavírus não é suficiente para induzir a carcinogênese e que outros patógenos sexualmente transmissíveis, como a *Chlamydia trachomatis*, poderiam levar ao desenvolvimento de neoplasias, mas isto ainda é um ponto controverso e requer mais estudos para confirmação.

O tratamento para infecções por *Chlamydia trachomatis* pode ser feito com tetraciclina, como a doxacilina e lineciclina, bem como com a eritromicina e sulfonamidas. O tempo de tratamento é variável dependendo do grau de complicação da infecção (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000; FAUCI, *et al.* 1998).

## 2.5 INFECÇÕES POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

Os papilomavírus compõem um grupo heterogêneo de vírus DNA, com mais de 100 diferentes tipos já identificados através de técnicas de biologia molecular. Cerca de 30 tipos são sexualmente transmissíveis, e a ocorrência é predominante em epitélios escamosos, infectando a região ano-genital, por exemplo, em pênis, vulva, lábios, região perianal, vagina ou cérvix, causando diversos processos patológicos como verrugas comuns, verrugas planas ou achatadas, além de neoplasias intraepiteliais e carcinoma da cérvix, entre outros (MEISELS; MORIN, 1997; SOARES, 1999; CDC, 2002). Três formas de infecção pelo HPV podem ser definidas: infecções latentes, onde o vírus só é detectado por métodos moleculares, mas não clinicamente, citologicamente ou histologicamente; infecções subclínicas, onde o HPV é detectado microscopicamente ou através de colposcopia, porém não a olho nu; e infecções clínicas, onde o HPV pode ser detectado por exame a olho nu. A habilidade dos HPV proliferarem em um sítio anatômico específico resulta de uma íntima interação entre os vírus e o genoma celular. No trato genital, os tipos HPV-6 e HPV-11 provocam principalmente lesões condilomatosas acuminadas planas e se relacionam com lesões de baixo grau (LSIL). Os tipos HPV-16, HPV-18, HPV-31 e HPV-35 estão relacionados também com lesões de alto grau (HSIL), as quais têm maior probabilidade de evoluir para carcinomas da cérvix.

Em torno de 90% dos tumores malignos cervicais e de suas lesões precursoras contêm o material genético de alguns genótipos de HPV. O risco relativo de mulheres portadoras do DNA de HPV de alto risco para o desenvolvimento de câncer cervical é muito maior do que o das mulheres que não os contêm, o que permite sugerir que os HPV de alto potencial oncogênico são o principal fator de risco para o carcinoma cervical (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000; CHIUCHETTA *et al.*, 2001). Porém, o câncer cervical não se desenvolve em todas as mulheres infectadas pelo HPV, sendo que a presença de tipos mais agressivos e carcinogênicos de HPV como os HPV-16 e 18, pode não ser suficiente para contribuir para o desenvolvimento de lesões de baixo grau, que

possam, posteriormente, progredir a lesões de alto grau. Diferentes co-fatores participam da gênese do câncer uterino como: número de parceiros sexuais, primeiro intercurso sexual em idade precoce, fumo, uso de anticoncepcionais, causas genéticas e imunológicas. Além disso, a transmissão pode ser facilitada pela presença de superfícies escarificadas ou maceradas e oportunizar a infecção por outros agentes causadores de DST (MEISELS; MORIN, 1997).

O câncer cervical é reconhecido mundialmente como a segunda forma de câncer mais comum entre as mulheres. Dados do CDC (2002) dos EUA, sobre a infecção pelo papilomavírus humano, mostram que, aproximadamente 20 milhões de pessoas são constantemente infectadas pelo HPV, com 5,5 milhões de novos casos a cada ano; e que, 50 a 75 % de homens e mulheres sexualmente ativos adquirem o HPV em alguma fase de suas vidas. No Brasil, dados do Ministério da Saúde, para o ano de 1998, mostram que, de todas as mortes por câncer em mulheres na faixa etária entre 35 e 49 anos, 16% foram devidas ao câncer do colo do útero. As taxas de incidência são variáveis por região. As regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste e em especial, as cidades de Belém e Goiânia, são as mais atingidas pelo problema. Uma das maiores dificuldades no controle da doença é a baixa cobertura da população feminina de risco. O Ministério da Saúde recomenda que o exame colpocitológico deve ser realizado preferencialmente em mulheres de 25 a 60 anos, ou naquelas que já tenham atividade sexual, mesmo antes desta faixa de idade. Recomenda também que os exames sejam realizados ao menos uma vez por ano e, após 2 exames anuais consecutivos negativos, a cada 3 anos. Tal recomendação apoia-se em estudos que indicam que a detecção precoce de lesões pré-neoplásicas, pode levar à prevenção ou à cura em até 100% dos casos. No Brasil, os programas têm sido incentivados e cresce gradativamente o número de mulheres que se submetem a tal exame. No entanto, está longe de atingir o número ideal de mulheres triadas. Dados da Prefeitura Municipal de Curitiba mostram que, de março de 1997 a outubro de 1999, 81.909 mulheres com idades de 35 a 49 anos realizaram o exame, pouco mais de 50% da

população alvo, e com certeza menos de 25% da população de risco (DUCCI *et al.*, 2001).

Há vários métodos preconizados para a detecção de HPV, entre eles: métodos citológicos, captura híbrida, hibridização *in situ* e PCR. Porém, em sua maioria, são muito dispendiosos e inviáveis para o uso rotineiro em programas de saúde.

Nos esfregaços cérvico-vaginais corados pelo método de Papanicolaou, a detecção de infecção pelo HPV pode ser sugerida principalmente pela observação da presença de duas alterações celulares mais comuns: as células discarióticas e as células coilócíticas ou coilócitos. Os coilócitos são células escamosas superficiais ou intermediárias, em geral com volume aumentado. Mostram uma tendência à forma oval ou arredondada. O núcleo excêntrico está rodeado por uma zona clara irregular, que apresenta aspecto vazio, ocupando grande parte do citoplasma. Na periferia da área clara perinuclear, o citoplasma é denso, de coloração eosinofílica ou cianofílica. Além disso os coilócitos, podem conter um ou mais núcleos grandes, hipercromáticos, discretamente irregulares, com a cromatina densa, granulosa e grosseira. Estas células são patognômicas de infecção pelo HPV. Entretanto, a discariose é, cada vez mais, reconhecida como relacionada com a infecção pelo HPV. São células com aumento da relação núcleo/citoplasma, cariomegalia, hipercromasia e/ou distribuição irregular da cromatina. Também a disqueratose acompanha, muitas vezes, as alterações citopáticas na infecção pelo HPV. (KOSS, 1992; SOARES, 1999; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000). Desta forma, o uso do método de Papanicolaou pode ser extremamente útil no rasteio de lesões sugestivas de infecção pelo HPV.

Há diversos tratamentos para as infecções genitais causadas por HPV, que dependem da localização e do estágio de crescimento das lesões, bem como das possibilidades de recidiva. Pode-se empregar processos químicos, como a utilização de 5-fluoracil, podofilina, ácidos bicloroacético ou tricloroacético; processos cirúrgicos, utilizando-se raios laser ou instrumentos eletrocirúrgicos; terapias citodestrutivas, como a

crioterapia; ou ainda terapias antivirais, utilizando-se o interferon, entre outros (SOARES, 1999).

### **3 OBJETIVOS**

### 3 OBJETIVOS

O presente estudo foi realizado em amostras de material cérvico-vaginal de pacientes atendidas para a realização do exame preventivo de câncer cervical na Unidade de Saúde Santos Andrade em Curitiba, com os seguintes objetivos:

a) Investigar a relevância da Citologia Cérvico-Vaginal pelo método de Papanicolaou para o diagnóstico de Doenças Sexualmente Transmissíveis como as causadas por: *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida* spp., *Trichomonas vaginalis* e Papilomavírus humano (HPV).

b) Contribuir para um estudo da prevalência destas DST na população feminina atendida na Unidade de Saúde Comunitária Jardim Santos Andrade, da Prefeitura Municipal de Curitiba, PR.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL**

O material utilizado para o presente estudo compreendeu amostras de material cérvico-vaginal de 223 mulheres, que procuraram a Unidade de Saúde Santos Andrade da Prefeitura Municipal de Curitiba, para realização do exame preventivo de câncer cervical, o exame de Papanicolaou.

#### **4.1.1 PACIENTES:**

Compreendeu-se neste estudo, na grande maioria, pacientes que freqüentavam o serviço de saúde regularmente, com arquivos de exames anteriores e controle de freqüência realizado pelos agentes de saúde. As suas idades variaram entre 13 e 70 anos, com média de 33 anos, conforme pode-se observar na Figura 1. Realizou-se a coleta após a concordância das pacientes, sendo que as mesmas assinaram um termo de consentimento informado (Anexo I), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Anexo II). Realizou-se também um questionário onde as pacientes forneceram os seguintes dados: idade, número de filhos, data da última menstruação, data aproximada do último exame de Papanicolaou, uso de medicação, história prévia de doença sexualmente transmissível e presença de corrimento vaginal (Anexo III).

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 COLETA

As pacientes foram encaminhadas por uma auxiliar de enfermagem à sala de exames, onde foram colocadas em posição ginecológica. Foi colocado um espécuro de tamanho adequado a cada paciente, para se ter acesso ao colo do útero. Foram coletados materiais para os diversos procedimentos segundo técnicas preconizadas pelo MINISTÉRIO DA SAÚDE (1997), na seguinte ordem:

#### 4.2.2.1 SECREÇÃO VAGINAL PARA EXAME A FRESCO E COLORAÇÃO DE LARANJA DE ACRIDINA

Utilizando-se um *swab* estéril, coletou-se material de fundo de saco posterior da vagina. Posteriormente, colocou-se o *swab* em tubo de ensaio, contendo 2 ml de salina estéril, previamente identificado.

#### 4.2.2.2 SECREÇÃO VAGINAL PARA BACTERIOSCOPIA PELO MÉTODO DE GRAM

Utilizando-se um *swab* estéril, coletou-se material de fundo de saco posterior da vagina e parede vaginal. Confeccionou-se o esfregaço, passando-se o *swab* gentilmente sobre uma lâmina de microscopia de maneira uniforme. Identificou-se as lâminas e acondicionou-se as mesmas em porta-lâminas apropriados para o transporte.

#### 4.2.2.3 SECREÇÃO ENDOCERVICAL PARA PESQUISA DE *Neisseria gonorrhoeae*

Após limpeza prévia da endocérvice com uma gaze estéril, introduziu-se um *swab* alginatado cerca de 1 cm no canal endocervical, girando-o delicadamente de 8 a

10 vezes, para absorver a secreção. Sem tocar a parede vaginal, retirou-se o *swab*, e inoculou-se o material em biplaca contendo os meios de cultura ágar chocolate suplementado/Thayer Martin, sendo as mesmas posteriormente identificadas e lacradas, para evitar contaminação durante o transporte.

#### 4.2.2.4 SECREÇÃO ENDOCERVICAL PARA PESQUISA DE *Chlamydia trachomatis*

Após limpeza prévia da endocérvice com uma gaze estéril, introduziu-se um *swab* alginatado cerca de 1 cm no canal endocervical, girando-o delicadamente de 8 a 10 vezes, para absorver a secreção. Retirou-se o *swab* sem tocar a parede vaginal. Realizou-se um esfregaço fino e homogêneo em lâmina de microscopia própria para o teste de imunofluorescência direta. Acondicionou-se as lâminas em porta-lâminas apropriados.

#### 4.2.2.5 RASPADO DE MATERIAL CÉRVICO-VAGINAL PARA EXAME DE PAPANICOLAOU

Com o auxílio de uma espátula de Ayre, coletou-se material de fundo de saco vaginal em suas laterais e da junção escamo-colunar (JEC), através de raspagens. Depositou-se o material delicadamente sobre duas lâminas de microscopia no sentido longitudinal, não passando a espátula mais de uma vez no mesmo lugar. Em seguida, com o auxílio de uma escova tipo *citobrush*, coletou-se material endocervical, girando-se a escova delicadamente até completar um ângulo de 360 graus. Depositou-se o material sobre as mesmas lâminas usadas anteriormente, também no sentido longitudinal e não passando a escova no mesmo lugar. Em seguida, as lâminas receberam uma película de polietilenoglicol, com a finalidade de conservação, e foram identificadas e acondicionadas para transporte em porta-lâminas apropriados (GOMPEL e KOSS, 1997).

#### 4.2.3 TRANSPORTE E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Após a coleta, acondicionou-se as amostras adequadamente para o transporte até o Laboratório de Citologia Clínica, Departamento de Patologia Médica, Curso de Farmácia da Universidade Federal do Paraná e, processando-as em seguida, tomando-se o cuidado para que os tempos entre a coleta e as análises não excedessem o preconizado para cada método. Quando necessário, a conservação das amostras não processadas imediatamente seguiu a recomendação para cada método específico. No caso da pesquisa de *Chlamydia trachomatis*, para a qual se utilizou o método de imunofluorescência direta, fixou-se as lâminas com metanol, deixando-as secar ao ar e congelando-as à temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para posterior análise (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997).

#### 4.2.4 EXAME A FRESCO PARA PESQUISA DE *Trichomonas vaginalis*

Homogeinizou-se o frasco contendo salina e secreção vaginal, colocou-se 50  $\mu\text{l}$  deste material sobre uma lâmina limpa, cobriu-se com lamínula e observou-se ao microscópio de luz, com aumento de 400 x, para a pesquisa do parasita. Pesquisou-se a presença do *Trichomonas vaginalis*, geralmente medindo 10 a 30  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de forma ovalada, arredondada ou periforme, com motilidade variável. Nos dias mais frios colocou-se o frasco em banho maria a  $37^{\circ}\text{C}$  para aumentar a motilidade dos microrganismos. Realizou-se o exame até 90 minutos após a coleta, para evitar a possibilidade de resultados falso negativos, devido à morte ou à perda de motilidade dos parasitas (VAN DER SCHEE, 1999).

#### 4.2.5 MÉTODO DE COLORAÇÃO LARANJA DE ACRIDINA

Utilizou-se a secreção vaginal em solução salina colhida para o exame a fresco. Colocou-se 50  $\mu\text{l}$  da amostra previamente homogeinizada sobre uma lâmina de microscopia limpa. Após completa secagem ao ar, fixou-se o material com metanol até

que o mesmo evaporasse, e procedeu-se à coloração cobrindo-se o esfregaço com solução aquosa do corante laranja de acridina na concentração de 5 mg/ml. Posteriormente, novamente após a secagem ao ar das lâminas, observou-se as mesmas ao microscópio de imunofluorescência, em aumento de 400 x. Pesquisou-se os TV, geralmente como estruturas com citoplasma vermelho fluorescente e núcleo amarelo (VAN DER SCHEE, 1999).

#### 4.2.6 MÉTODO DE GRAM

Fixou-se ao calor a lâmina contendo o esfregaço até secagem completa do mesmo. Em seguida, cobriu-se as lâminas com solução de violeta de genciana por 1 minuto, lavou-se com água corrente e cobriu-se com lugol, por um minuto. Em seguida, lavou-se novamente com água corrente e procedeu-se a descoloração com álcool-acetona por aproximadamente 5 segundos, até que a coloração violeta não desprendesse mais da lâmina. Por último, cobriu-se o esfregaço com solução de fucsina por 30 segundos, lavando-o logo em seguida, e deixando-o secar ao ar (ISENBERG, 1995).

Realizou-se o exame das lâminas ao microscópio de luz com objetiva de imersão, aumento de 1000 x, e após analisar várias áreas do esfregaço relatou-se a presença dos seguintes microrganismos:

*Candida* spp.: os elementos leveduriformes de *Candida* spp. são Gram positivos, encontrados sob a forma de pseudo-hifas com aspecto de filamentos retos ou encurvados, de comprimento variável, geralmente segmentados como bambú e/ou células leveduriformes de forma ovóide ou arredondadas, com 3 a 6 µm de diâmetro (LACAZ *et al.*, 1998);

*Gardnerella vaginalis*: células epiteliais recobertas por cocos-bacilos pleomórficos Gram lábeis (células-chave ou *clue cells*);

*Mobilluncus* spp.: bacilos delgados Gram negativos ou Gram variáveis em forma de vírgula ou asa de gaivota, que podem se apresentar sobre as células epiteliais, dando aspecto de toalha felpuda, caracterizando as *coma cells*;

*Neisseria gonorrhoeae*: pesquisou-se a presença de diplococos Gram negativos intra ou extracelulares (KONEMAN *et al.*, 2001).

#### 4.2.7 CULTURA PARA *Neisseria gonorrhoeae*

Inoculou-se as biplacas contendo os meios de ágar chocolate suplementado e Thayer Martin, estriando-se o material sobre a superfície dos meios com alça de níquel-cromo e incubando-se as mesmas sob tensão de CO<sub>2</sub> (5 a 7%) à temperatura de 37°C, durante 48 horas. Em seguida, verificou-se o crescimento bacteriano, pesquisando-se colônias pequenas, branco-acinzentadas, redondas, translúcidas e com bordos irregulares (CDC, 2002).

#### 4.2.8 PESQUISA DE *Chlamydia trachomatis* POR IMUNOFLOURESCÊNCIA DIRETA (IFD)

Utilizou-se neste trabalho os reagentes para IFD das marcas, OMEGA DIAGNOSTICS, BIO-RAD - Pathfinder® e CELLABS. Os procedimentos adotados basearam-se na recomendação de cada fabricante. Após descongelamento a temperatura ambiente das lâminas de imunofluorescência, cobriu-se o esfregaço com 25 a 30 µl de conjugado fluorescente contendo anticorpo monoclonal murino para *C. trachomatis*, e incubou-se as mesmas de 15 a 30 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente ou a 37° C. Em seguida, retirou-se o excesso de reagente, com lavagem em tampão fosfato-salino (PBS) pH 7,4 ou em água destilada. Para a realização da técnica, seguiu-se as recomendações de cada fabricante. Procedeu-se a montagem das lâminas para leitura com fluido de montagem e lamínula 20 x 20. Examinou-se o material ao microscópio de imunofluorescência, com sistema de filtro com comprimento de onda excitatório entre 480-490 nm e emissão média do comprimento de onda de 510 nm, em aumento de 400 x. Pesquisou-se a presença de corpos de inclusão clamidial de coloração fluorescente brilhante verde-maçã de forma

redonda e com bordos lisos. Para reportar um resultado positivo, a quantidade dos corpos de inclusão, obedeceu ao estabelecido pelos fabricantes.

#### 4.2.9 COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU

Procedeu-se à coloração de Papanicolaou, segundo modificações preconizadas para reagentes da marca Newprov®. Posteriormente, realizou-se a montagem das lâminas, com Entellan e lamínula 25 x 60 mm. O Quadro II ilustra a seqüência de cubas para imersão das lâminas, e de tempos utilizados. Realizou-se o escrutínio das lâminas ao microscópio de luz sob aumento de 100 x, 400 x e 1000 x, onde pesquisou-se os seguintes microrganismos: *Candida* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Chlamydia trachomatis*, Papilomavírus humano (HPV), *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis*, pelo achado dos mesmos no esfregaço ou por efeitos citopáticos causados por estes.

Os critérios de análise do esfregaço foram os seguintes para cada microrganismo em questão:

*Candida* spp.: Através da coloração pelo método de Papanicolaou, observou-se as pseudo-hifas e células leveduriformes, de coloração rósea, com certa refringência, geralmente rodeadas por um fino halo esbranquiçado, podendo-se apresentar isoladas ou em pequenos grupos, na periferia das células ou em acúmulos junto aos leucócitos e a detritos celulares (MORAES FILHO e LONGATTO FILHO, 2000).

*Gardnerella vaginalis* : A sugestão da presença da *G. vaginalis*, por meio da citologia, baseou-se nos critérios sugeridos por GARDNER e DUKES (1955), que consistem em:

- Presença de células escamosas superficiais ou intermediárias, com bordos difusos, recobertas por numerosos coco-bacilos, conhecidas como células-chave, e/ou fundo do esfregaço com aspecto arenoso, constituído por coco-bacilos;
- Células com bordos pouco nítidos (difusos);
- Ausência ou escassez de bacilos de Döderlein;
- Fundo do esfregaço com aspecto arenoso, constituído por coco-bacilos;

QUADRO II – COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU, SEGUNDO RECOMENDAÇÕES PRECONIZADAS PELO FABRICANTE.

CUBA Nº	REATIVO	TEMPO (min)
1	Etanol a 96%	30
2	Etanol a 80%	2
3	Etanol a 70%	2
4	Etanol a 50%	2
5	Água destilada	2
6	Hematoxilina de Harris	1¼
7	Água corrente	2
8	Etanol a 50%	2
9	Etanol a 70%	2
10	Etanol a 80%	2
11	Etanol a 96%	2
12	Orange G6	2
13	Etanol a 96%	2
14	Etanol a 96%	2
15	EA-36	2
16	Etanol a 96%	2
17	Etanol a 96%	2
18	Etanol a 96%	2
19	Xilol	2
20	Xilol	2

Adaptado da bula do conjunto reagente para coloração de Papanicolaou marca Newprov®

*Mobiluncus* spp.: Para o diagnóstico de infecção por *Mobiluncus* spp. detectou-se a presença das *coma-cells* ou células em vírgula, células escamosas superficiais ou intermediárias recobertas por bacilos em forma de vírgula e, para uma melhor visualização, observou-se sob a objetiva de imersão ao microscópio de luz (1000 x), a presença de bacilos curvos e delgados unidos à membrana da célula epitelial por uma das extremidades, o que confere ao citoplasma das mesmas um aspecto de toalha felpuda (MORAES FILHO e LONGATTO FILHO, 2000).

*Trichomonas vaginalis*: O citoplasma do *T. vaginalis* se apresenta geralmente cianofílico, cinza-azulado pálido ou arroxeadado, apresentando grânulos citoplasmáticos eosinofílicos. O núcleo é excêntrico, pequeno, pouco definido, finamente vesiculoso, pálido e de aparência degenerada. Os flagelos estão geralmente mal conservados. Deve-se tomar cuidado para não confundir os parasitas com muco, células metaplásicas degeneradas, neutrófilos ou pedaços de citoplasma (MORAES FILHO e LONGATTO FILHO, 2000).

*Chlamydia trachomatis*: observou-se a presença de fina vacuolização intracitoplasmática, com vacúolos múltiplos, apresentando inclusões citoplasmáticas eosinofílicas frequentemente uniformes, moldadas ou sobrepostas com bordos ondulados e, em geral, com uma área clara ao seu redor. Geralmente, as inclusões aparecem em células metaplásicas pavimentosas e células colunares endocervicais, conferindo à célula o aspecto rarefeito, de mordedura de traça (GUPTA *et al.*, 1979).

Papilomavírus Humano (HPV): pesquisou-se alterações citopáticas nucleares e citoplasmáticas, geralmente acompanhadas de disqueratose e ou presença de coilocitose, células escamosas superficiais ou intermediárias, com núcleo hiper Cromático homogêneo e com tamanho aumentado, podendo ser múltiplo e circundado por um grande halo perinuclear e contornos bem acentuados. As células apresentam codensação do citoplasma na periferia da célula.

*Neisseria gonorrhoeae*: pesquisou-se a presença de diplococos, geralmente no interior do citoplasma dos PMN, podendo também ser extracelulares. Realizou-se o escrutínio das lâminas em aumento de 400 x , utilizando-se a imersão, ou aumento de 1000 x, nos casos duvidosos (MORAES FILHO e LONGATTO FILHO, 2000).

#### 4.2.10 CONTROLE DE QUALIDADE DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU POR REVISÃO DE LÂMINAS

Após escrutínio minucioso pela observadora AEMS, das 223 lâminas coradas pelo método de Papanicolaou, a qual relatou a presença de microrganismos e/ou efeitos citopáticos virais, realizou-se o controle de qualidade do método de Papanicolaou, por releitura por dois outros examinadores, A e B, com ampla experiência por mais de 10 anos em citologia cérvico-vaginal, de 99 das 223 lâminas, sem que os dois tivessem conhecimento prévio do resultado. Efetuou-se a releitura num tempo que variou de 1 a 5 minutos, classificando as lâminas da mesma forma que a observadora principal (WRIGHT *et al.*, 1999).

#### 4.2.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se o método estatístico de acurácia com os testes de sensibilidade, especificidade, taxa de erro falso positivo e taxa de erro falso negativo, que têm a finalidade de analisar a relação dos resultados de um teste com os de um método considerado diagnóstico verdadeiro ou, quando não foi possível, de um método considerado com altos índices de sensibilidade e especificidade. Sensibilidade é a capacidade de detectar a presença, quando verdadeira. Especificidade é a capacidade de mostrar a ausência, quando verdadeira. Taxa de erro falso negativo é a falha em detectar presença, quando verdadeira. Taxa de erro falso positivo indica falsamente a presença, quando negativo.

Utilizou-se os testes de concordância e razão do teste kappa para analisar os índices de positividade para comparação entre dois métodos diagnósticos equivalentes. Calculou-se a porcentagem global de concordância e o índice kappa. Porcentagem global de concordância é a porcentagem de diagnósticos positivos e negativos em concordância nos dois métodos. O índice kappa é o parâmetro de concordância que leva em conta a concordância ao acaso. Kappa varia de  $-1$  a  $+1$ . O valor  $0$  representa concordância casual, valores positivos representam índice de concordância além da concordância casual e valores negativos representam índice de discordância além da concordância casual (JEKEL *et al.*, 1999). O teste de normalidade da amostra foi realizado pelo teste não paramétrico de Kolgomorov-Smirnov, com o uso do pacote estatístico Statística V.5.5 (StatSoft).

## **5. RESULTADOS**

## 5. RESULTADOS

A amostra estudada constou de 223 mulheres com idades entre 13 e 70 anos, e idade média de 33 anos. A distribuição de frequência das mulheres em função da idade está ilustrada na Figura 1, sob a forma de histograma. Pode-se observar uma distribuição homogênea em torno da média. A curva de frequência obedece à distribuição normal analisada pelo teste de normalidade não paramétrico de Kolgomorov-Smirnov.

Observou-se que 84% das mulheres analisadas tiveram filhos. O número de filhos variou de 0 a 16, com uma média entre 2 a 3 filhos por mulher (Figura 2).

Observou-se que, 3,6% das mulheres analisadas usavam Dispositivo Intra Uterino (DIU), 3,13% eram gestantes e 5,4% relataram alguma DST prévia (Tabela 1).

TABELA 1. DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS ANTERIORES, RELATADAS PELAS PACIENTES ATENDIDAS NA UNIDADE COMUNITÁRIA DE SAÚDE JARDIM SANTOS ANDRADE, NO PERÍODO DE 18/07/2001 A 27/11/2001.

Doenças	Prevalência
Sífilis	2 (0,9%)
HPV	8 (3,6%)
Hepatite B	1 (0,5%)
Blenorragia	1 (0,5%)

Total de pacientes, 223

Das 223 mulheres estudadas, 62% se submeteram ao exame de Papanicolaou num período de até dois anos (Tabela 2).

TABELA 2 - TEMPO DECORRIDO ENTRE A REALIZAÇÃO DO EXAME DE PAPANICOLAOU ANTERIOR E A COLETA, DAS PACIENTES ATENDIDAS NA UNIDADE DE SAÚDE COMUNITÁRIA JARDIM SANTOS ANDRADE, NO PERÍODO DE 18/07/2001 A 27/11/2001.

Tempo	Pacientes
6 meses	12 (5,4%)
1 ano	75 (33,6%)
2 anos	31 (22,9%)
+ de 2 anos	42 (18,8%)
nunca	25 (11,2%)
não lembrado	4 (1,8%)
não revelado	14 (6,3%)

Total de pacientes, 223

FIGURA 1 - HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA DAS PACIENTES EM FUNÇÃO DA IDADE, ATENDIDAS NA UNIDADE DE SAÚDE COMUNITÁRIA JARDIM SANTOS ANDRADE, NO PERÍODO DE 18/07/2001 A 27/11/2001, PARA A REALIZAÇÃO DO EXAME DE PAPANICOLAOU.

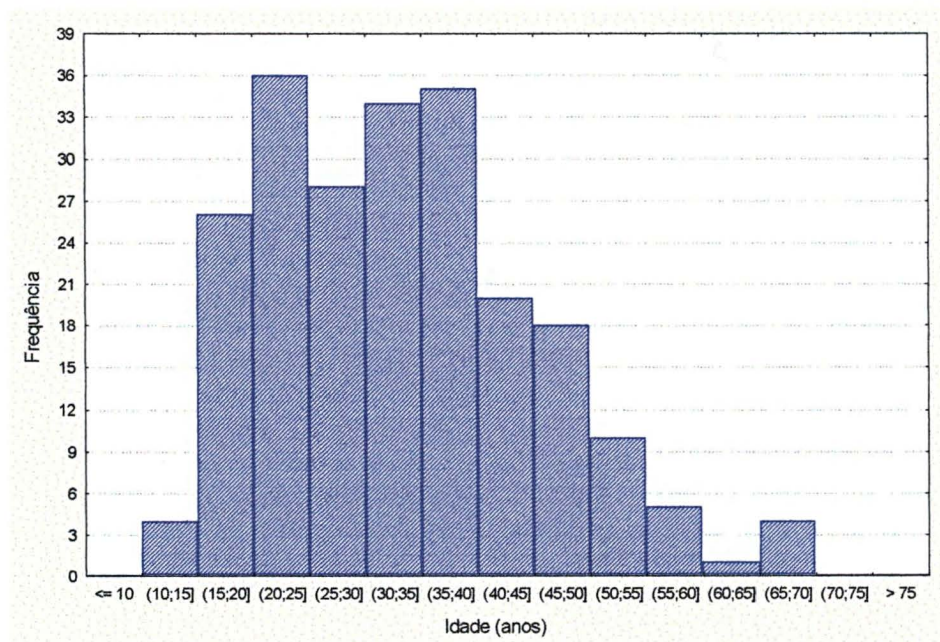
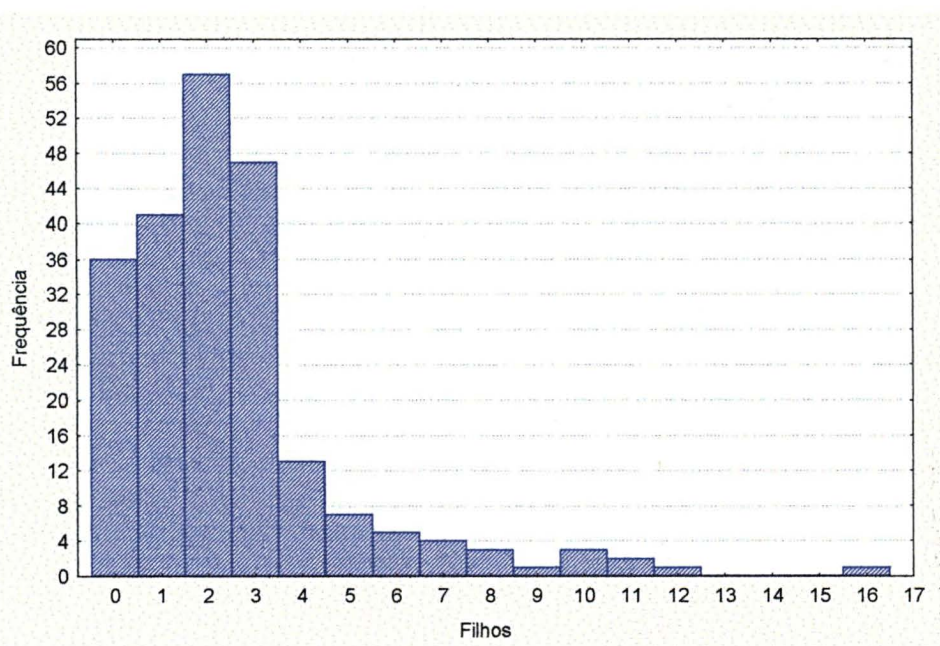


FIGURA 2 - HISTOGRAMA DE FREQUÊNCIA DO NÚMERO DE FILHOS DAS PACIENTES ATENDIDAS NA UNIDADE DE SAÚDE COMUNITÁRIA JARDIM SANTOS ANDRADE, NO PERÍODO DE 18/07/2001 A 27/11/2001, PARA REALIZAÇÃO DO EXAME DE PAPANICOLAOU.



Das 223 pacientes incluídas na pesquisa, 219 foram pesquisadas para a presença de *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp., através dos métodos de Gram e de Papanicolaou.

A pesquisa de *G. vaginalis* pelo método de Gram apontou 39 (17,8%) casos positivos e 180 (82,2%) negativos. Pelo método de Papanicolaou, foram observados 36 casos (16,4%) positivos, e 183 (83,6%), negativos, para a infecção por *G. vaginalis*. Os casos positivos de infecção por *G. vaginalis* estão ilustrados nas Figuras 3 a 8.

Na pesquisa de *Mobiluncus* spp., 07 pacientes (3,2%) foram positivas, enquanto que 212 (96,8%) foram negativas pelo método de Gram, enquanto que pelo método de Papanicolaou, 6 foram positivas (2,7%) e 211 (96,3%), negativas. Os casos positivos de infecção por *Mobiluncus* spp. estão ilustrados nas Figuras 9 a 11.

FIGURA 3 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Gardnerella vaginalis*, clue cells.

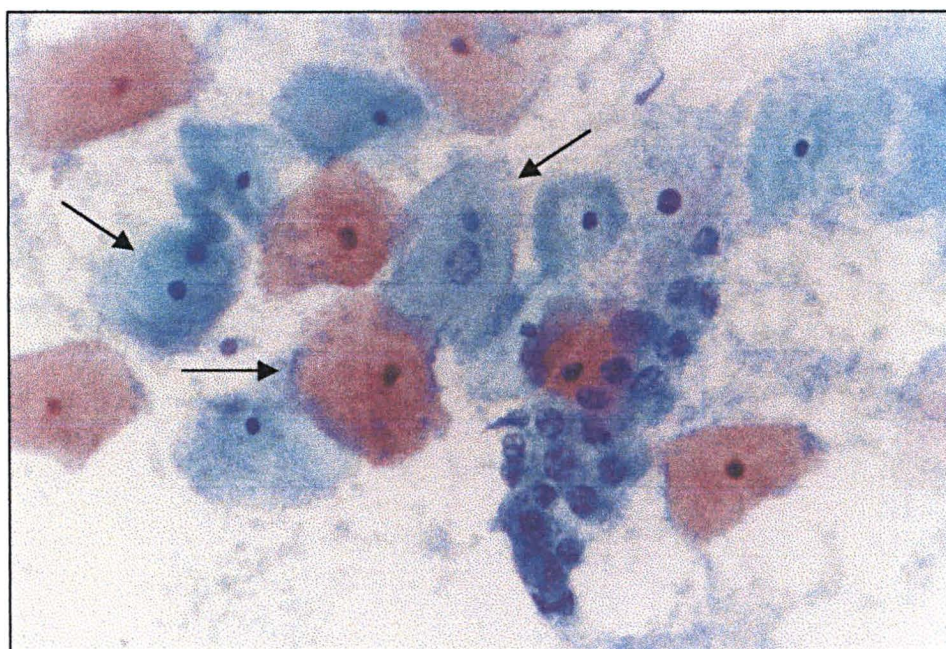


FIGURA 4 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Gardnerella vaginalis*, clue cells.

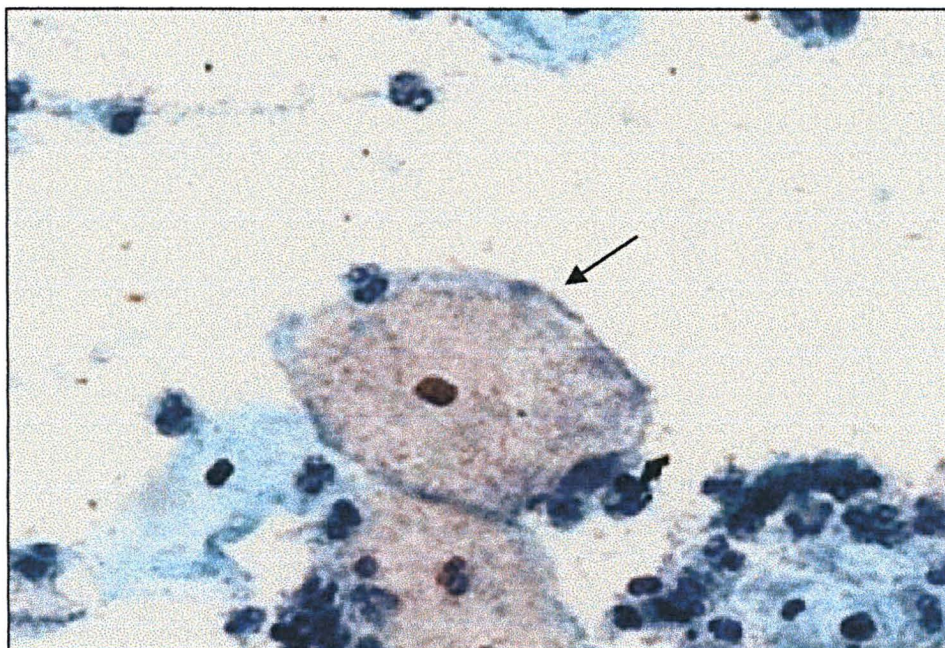


FIGURA 5 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Gardnerella vaginalis*, clue cells.

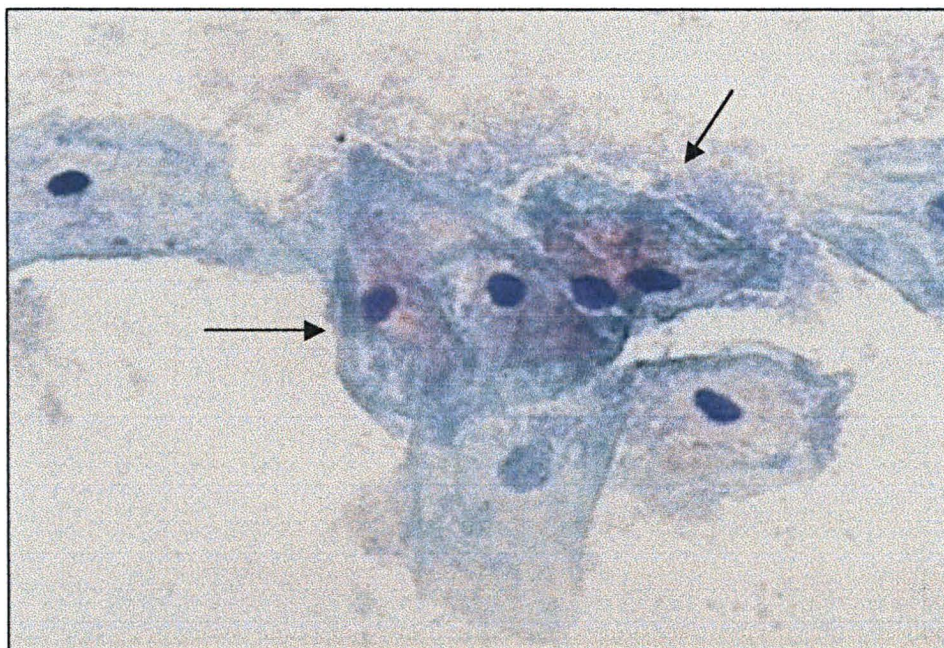


FIGURA 6 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM. AUMENTO DE 1000 x. *Gardnerella vaginalis*, clue cell.

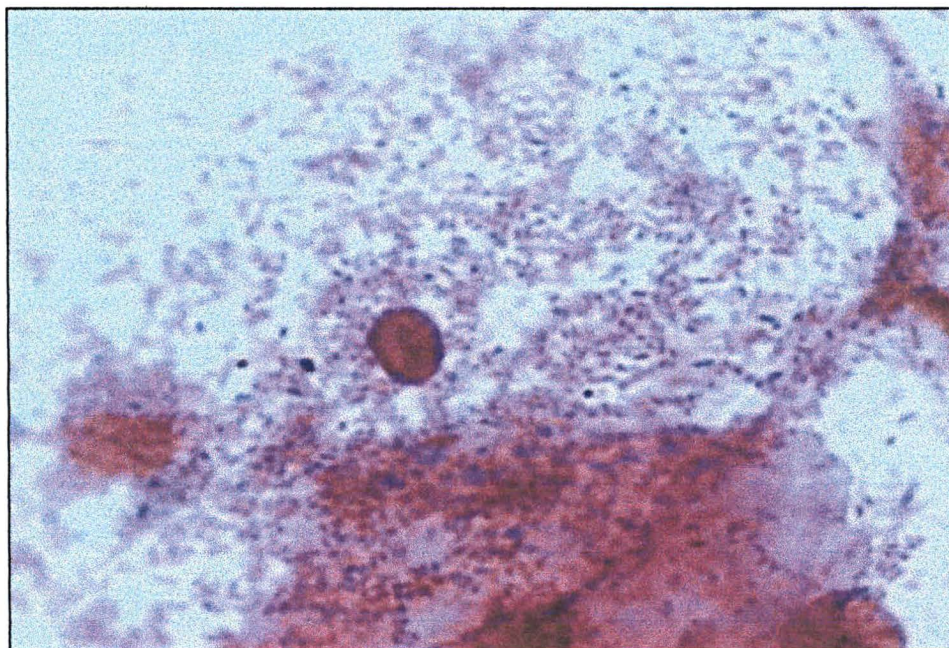


FIGURA 7 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM. AUMENTO DE 1000 x. *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp..

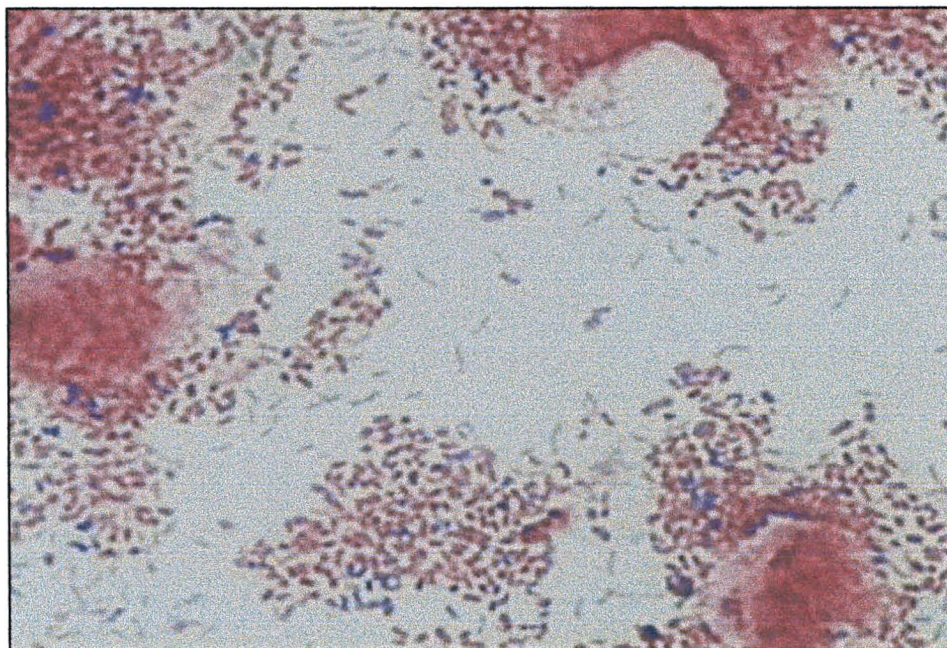


FIGURA 8 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM. AUMENTO DE 1000 x. *Gardnerella vaginalis*, clue cell.

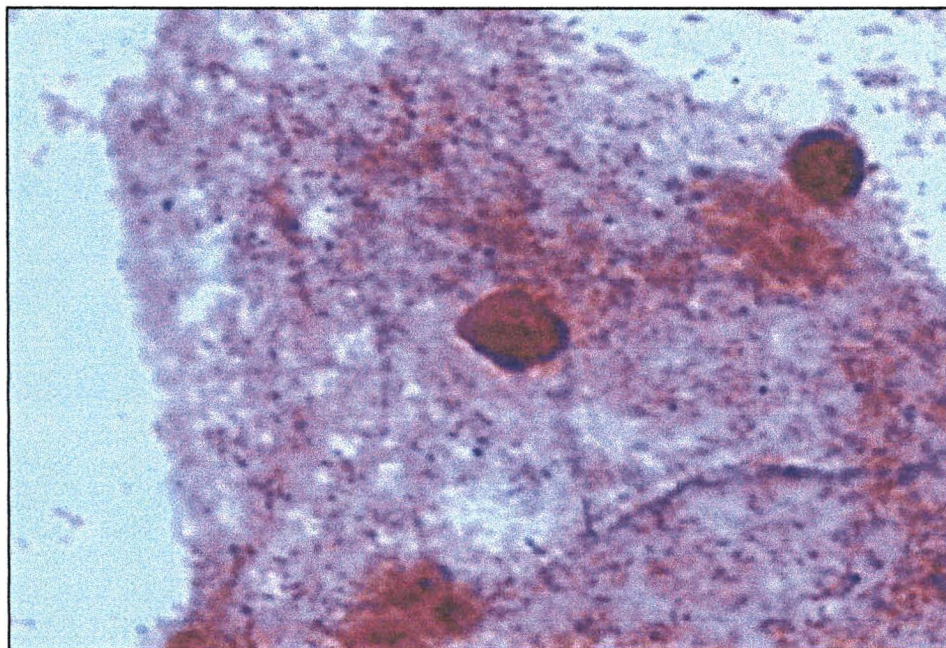


FIGURA 9 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Mobiluncus* spp., coma cell.

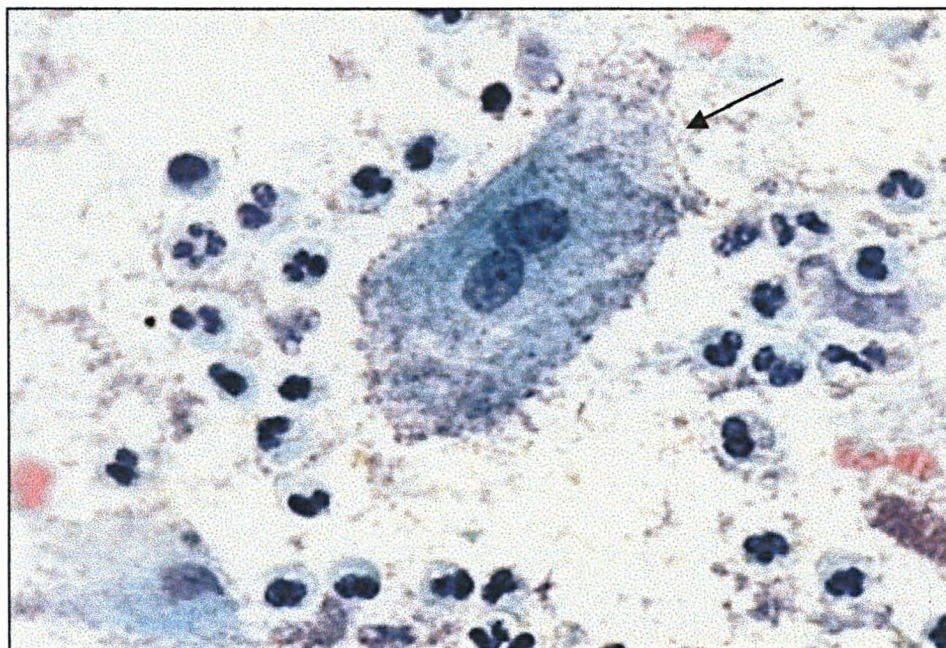


FIGURA 10 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Mobiluncus* spp., coma cell.

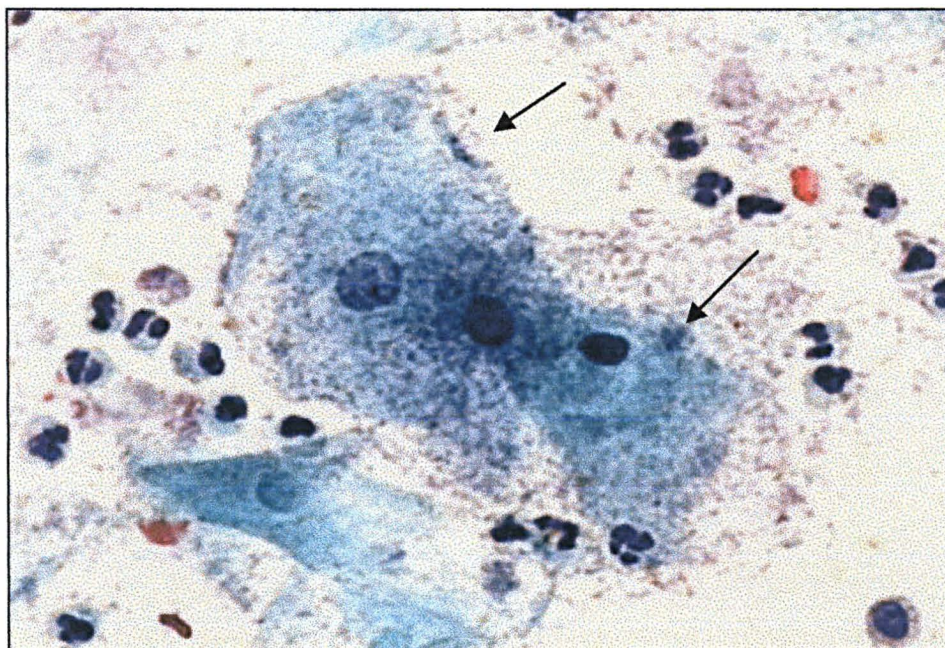
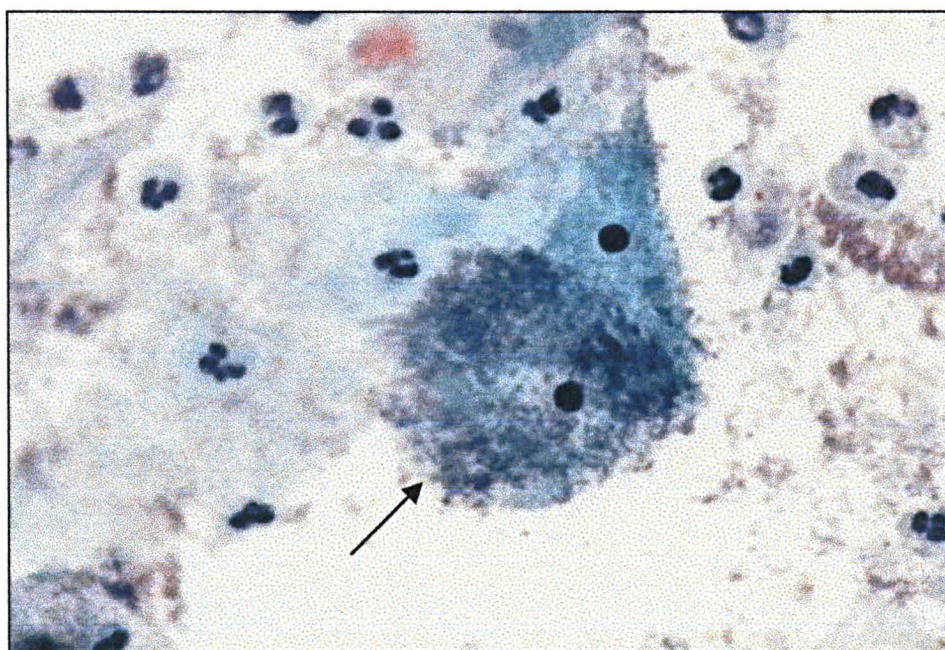


FIGURA 11 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Mobiluncus* spp., coma cell.



Para a pesquisa de *Candida* spp., 220 pacientes foram incluídas no estudo, obtendo-se 30 (13,6%) culturas positivas e 190 (86,4%) culturas negativas. Pelo método de Gram, 14 (6,4%) foram positivas e 206 (93,6%) foram negativas. O método de Papanicolaou apontou 13 (5,9%) amostras positivas e 207 (94,1%) negativas. Os casos positivos de infecção por *Candida* spp. estão ilustrados nas Figuras 12 a 15.

Para análise estatística de comparação de diagnósticos foram utilizados cálculos de sensibilidade e especificidade para comparação do método de Papanicolaou com o método de Gram, que foi considerado como padrão, para diagnóstico de *G. vaginalis* e *Mobiluncus* spp. (Tabelas 4 e 5).

FIGURA 12 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Candida* spp., CÉLULAS LEVEDURIFORMES E PSEUDO-HIFAS .

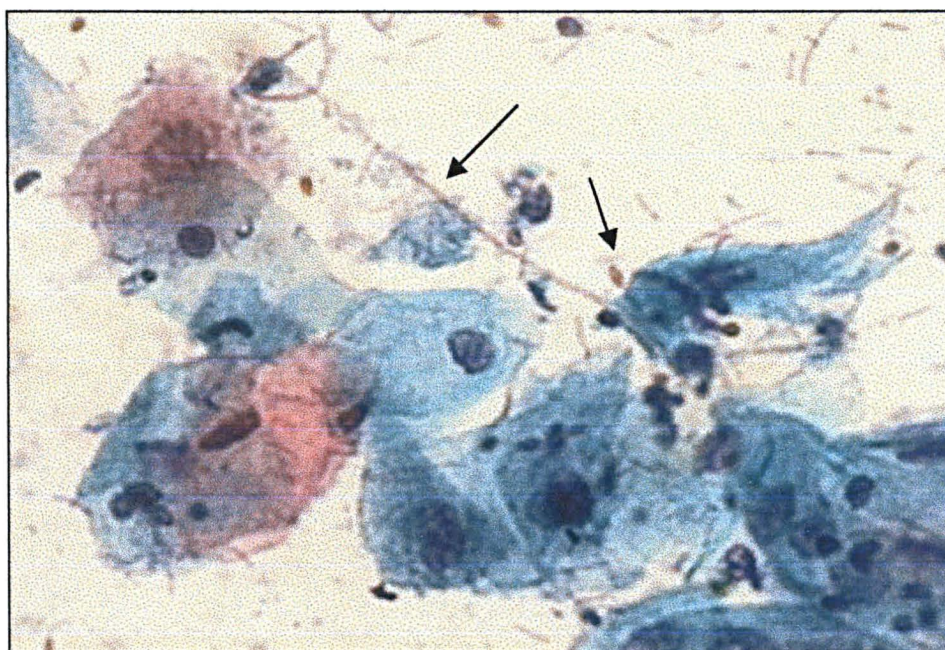


FIGURA 13 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Candida* spp., CÉLULAS LEVEDURIFORMES E PSEUDO-HIFAS .

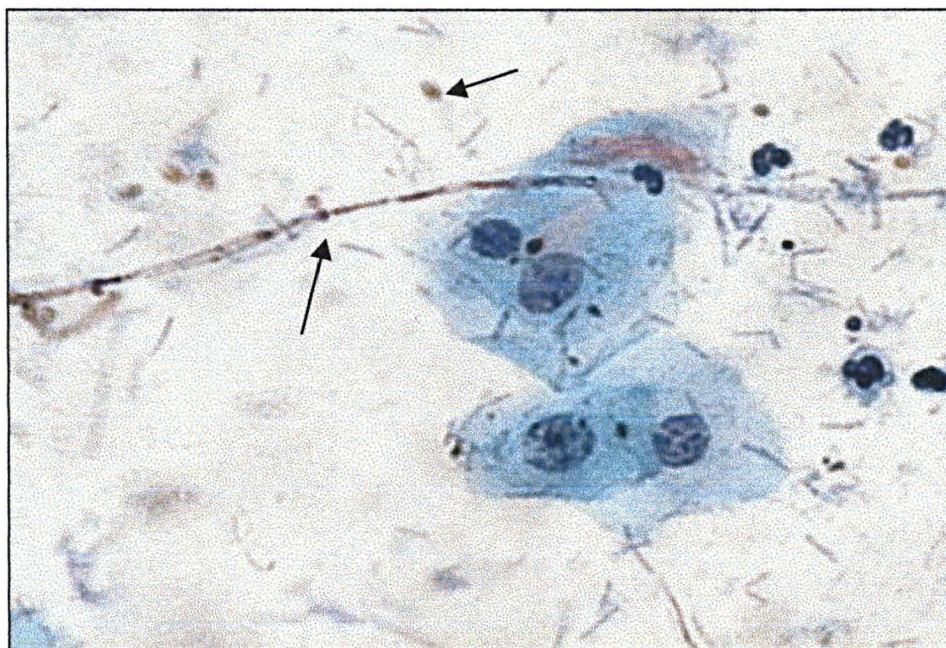


FIGURA 14 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Candida* spp., CÉLULAS LEVEDURIFORMES E PSEUDO-HIFAS .

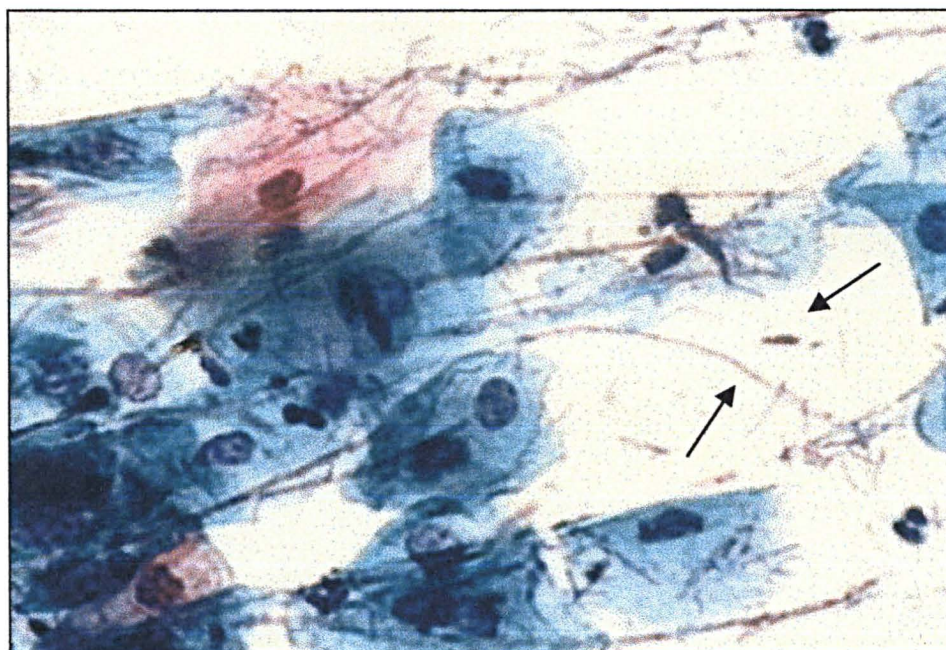
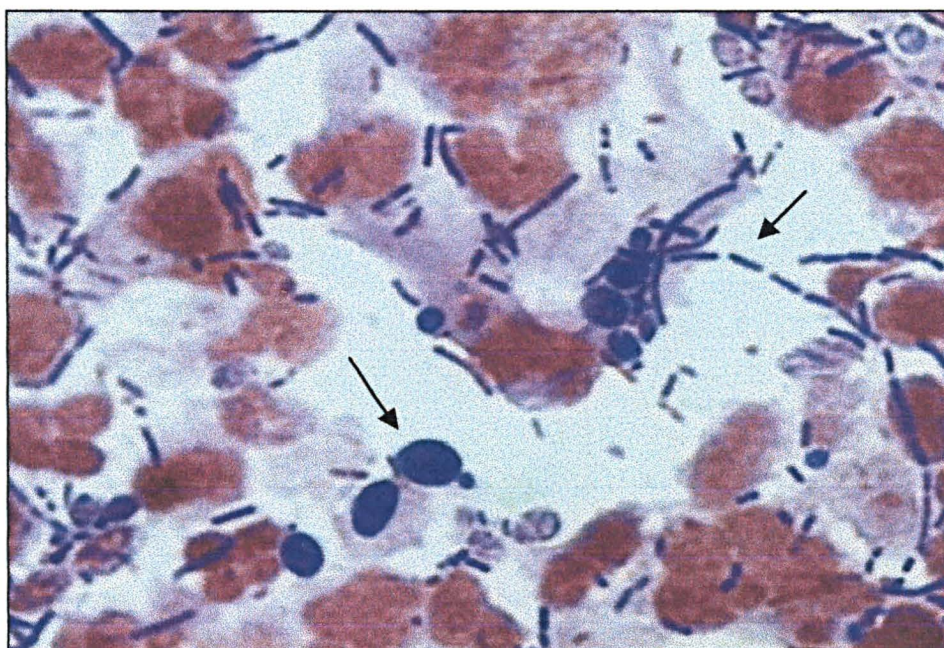


FIGURA 15 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO VAGINAL. COLORAÇÃO DE GRAM. AUMENTO DE 1000 x. *Candida* spp., CÉLULAS LEVEDURIFORMES E *Lactobacillus* spp..



Os resultados positivos e negativos para a pesquisa de GV e MB estão descritos na Tabela 3, e os resultados positivos e negativos para a pesquisa de CA estão descritos na Tabela 5.

TABELA 3 - RESULTADOS OBSERVADOS POSITIVOS E NEGATIVOS NA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E O MÉTODO DE GRAM, PARA A PESQUISA DE *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp..

Resultado	GV	MB
VN	179	211
VP	34	6
FN	5	1
FP	1	1
Total	219	219

GV-*Gardnerella vaginalis*; MB-*Mobiluncus* spp.

VN-valor negativo; VP-valor positivo; FN-falso negativo; FP-falso positivo

TABELA 4 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E O MÉTODO DE GRAM, PARA A PESQUISA DE *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp..

Índices	GV (%)	MB (%)
Sensibilidade	87,2	85,7
Especificidade	99,4	99,5
Prevalência	17,8	3,2
Taxa de erro falso positivo	0,6	0,5
Taxa de erro falso negativo	12,8	14,3

GV-*Gardnerella vaginalis*; MB-*Mobiluncus* spp.

TABELA 5 – RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS NA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E A CULTURA DE FUNGOS, CONSIDERADA COMO PADRÃO PARA A PESQUISA DE *Candida* spp..

Resultado	CA
VN	184
VP	7
FN	23
FP	6
Total	220

CA- *Candida* spp.

VN-valor negativo; VP-valor positivo; FN-falso negativo; FP-falso positivo

A análise comparativa entre o método de Papanicolaou e a cultura de fungos, considerando-se esta como padrão, para diagnóstico de *Candida* spp., está descrita na Tabelas 5 e 6.

A prevalência da candidíase foi de 13,6%. O método de Papanicolaou comparado com a cultura para diagnóstico de *Candida* spp. produziu uma sensibilidade de 23% e uma especificidade de 97%. A taxa de erro falso positivo foi de 3,2%, e a taxa de erro falso negativo foi de 76,7% (Tabela 6). A taxa de sensibilidade foi baixa porque a taxa de erro falso negativo foi alta.

Para comparação entre os métodos de Gram e de Papanicolaou para o diagnóstico de *Candida* spp, foram utilizados a análise de concordância e o teste kappa (Tabela 7).

A análise de concordância para a comparação entre os métodos de Gram e de Papanicolaou, para o diagnóstico de *Candida* spp., produziu uma porcentagem global de concordância de 97,7%, com um índice kappa de 80,3%.

TABELA 6 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU E CULTURA DE FUNGOS, CONSIDERADA COMO PADRÃO PARA A PESQUISA DE *Candida* spp..

Índices	CA (%)
Sensibilidade	23,3
Especificidade	96,8
Prevalência	13,6
Taxa de erro falso positivo	3,2
Taxa de erro falso negativo	76,7

CA- *Candida* spp.

TABELA 7 - ANÁLISE DE CONCORDÂNCIA PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE GRAM E PAPANICOLAOU PARA A PESQUISA DE *Candida* spp..

Resultado	CA
Concordância positiva/positiva	11
Discordância negativa/positiva	2
Discordância positiva/negativa	3
Concordância negativa/negativa	203
Total	219

CA- *Candida* spp.

Porcentagem global de concordância, 97,7%; kappa, 80,3%

Para a pesquisa de *Trichomonas vaginalis*, das 223 pacientes, 220 foram incluídas na pesquisa deste microrganismo pelos métodos a fresco e de Papanicolaou. Pelo método a fresco, 5 amostras (2,3%) foram positivas e 215 (97,7%), negativas. Pelo método de Papanicolaou, 4 (1,8%), foram positivas e 216 (98,2%), negativas. Os casos positivos de infecção por *T. vaginalis* estão descritos nas Figuras 16 e 17.

A análise comparativa entre o método de Papanicolaou e o exame a fresco para diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*, está apresentada nas Tabelas 8 e 9.

A prevalência de *Trichomonas vaginalis* foi de 2,3%. O método de Papanicolaou comparado com o exame a fresco apresentou sensibilidade de 60%, e especificidade de

99,5%. A taxa de erro falso positivo foi de 0,5% , e a taxa de erro falso negativo foi de 40%.

Pela coloração de laranja de acridina (LA) para a pesquisa de *Trichomonas vaginalis*, 220 pacientes foram pesquisadas, 7 (3,2%) obtiveram resultados positivos, enquanto que 213 (96,8%) obtiveram resultados negativos.

TABELA 8 – RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS NA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E O EXAME A FRESCO, PARA A PESQUISA DE *Trichomonas vaginalis*.

Resultado	TV
VN	214
VP	3
FN	2
FP	1
Total	220

TV- *Trichomonas vaginalis*,

VN-valor negativo; VP-valor positivo; FN-falso negativo; FP-falso positivo

A análise de concordância para comparação entre os métodos a fresco e pela coloração de laranja de acridina, para o diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*, está descrita na Tabela 8.

A análise de concordância por comparação entre o método a fresco e a coloração por LA para o diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*, produziu uma porcentagem global de concordância de 99,1%. O índice kappa encontrado foi de 82,5% (Tabela 10).

TABELA 9 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU COM O EXAME A FRESCO, PARA A PESQUISA DE *Trichomonas vaginalis*.

Índices	TV (%)
Sensibilidade (S)	60,0
Especificidade (E)	99,5
Prevalência (P)	2,3
Taxa de erro falso positivo (TEFP)	0,5
Taxa de erro falso negativo (TEFN)	40,0

TV- *Trichomonas vaginalis*

FIGURA 16 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Trichomonas vaginalis*.

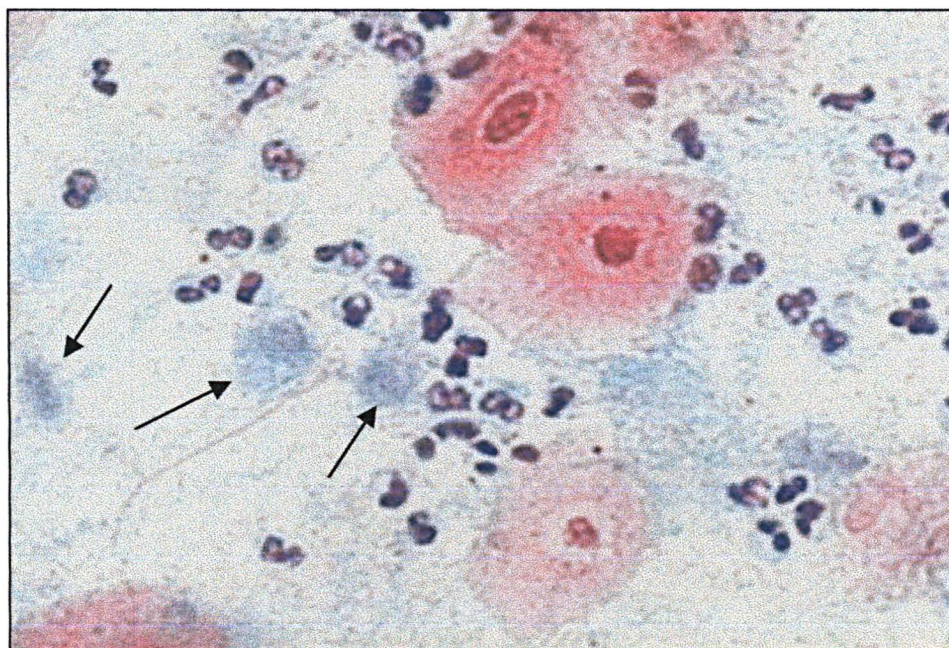


FIGURA 17 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Trichomonas vaginalis*.

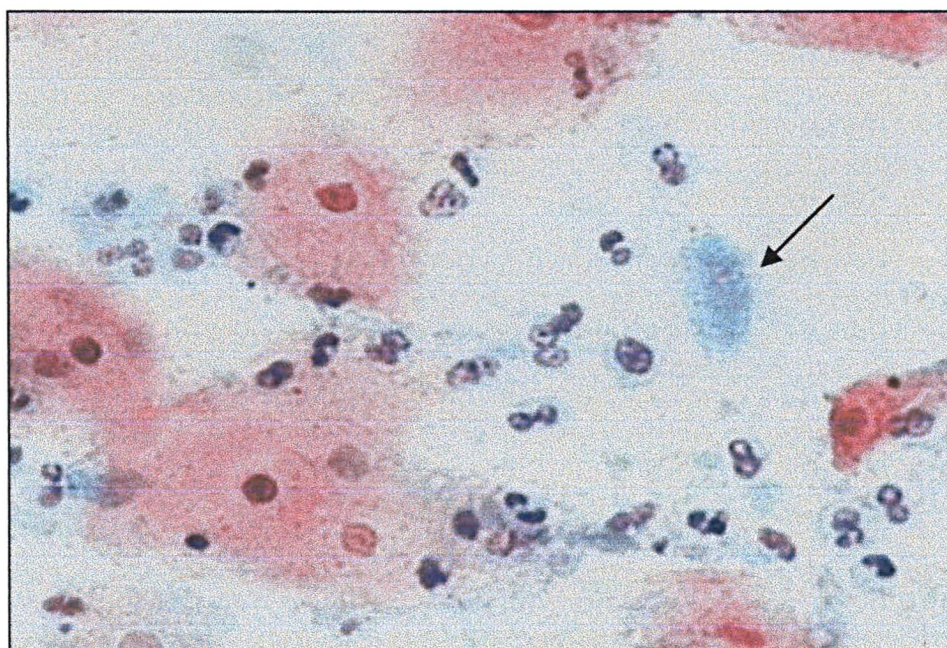


TABELA 10 - ANÁLISE DE CONCORDÂNCIA PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS A FRESCO E COLORAÇÃO DE LARANJA DE ACRIDINA PARA A PESQUISA DE *Trichomonas vaginalis*.

Resultado	TV
Concordância positiva/positiva	5
Concordância negativa/negativa	0
Discordância positiva/negativa	2
Discordância negativa/negativa	213
Total	220

TV - *Trichomonas vaginalis*

Percentagem global de concordância, 99,1%; kappa, 82,5%

Para a pesquisa de *Chlamydia trachomatis*, das 223 pacientes, 219 foram incluídas na pesquisa deste microrganismo pelos métodos de Imunofluorescência direta (IFD) e de Papanicolaou, considerando-se a IFD como padrão. Pela IFD, 8 amostras (3,6%) foram positivas e 211 (96,3%), negativas. Pelo método de Papanicolaou, 3 (1,4%) foram positivas e 216 (98,7%) foram negativas (Tabelas 11 e 12). Os casos positivos de infecção por *C. trachomatis* estão descritos nas Figuras 18 e 19.

TABELA 11 - RESULTADOS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E A IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRETA, PARA A PESQUISA DE *Chlamydia trachomatis*.

Resultado	CT
VN	211
VP	3
FN	5
FP	0
Total	219

CT- *Chlamydia Trachomatis*

VN-valor negativo; VP-valor positivo; FN-falso negativo; FP-falso positivo

A prevalência de *Chlamydia Trachomatis* foi de 3,7%. A sensibilidade do método de Papanicolaou, quando comparado à IFD, foi 37,5% e a especificidade foi de 100%. A taxa de erro falso positivo foi 0%, e a taxa de erro falso negativo foi de 62,5% (Tabela 12). A sensibilidade foi baixa porque a taxa de erro falso negativo foi alta.

TABELA 12 - SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, TAXAS DE ERROS POSITIVOS E NEGATIVOS PARA COMPARAÇÃO ENTRE O MÉTODO DE PAPANICOLAOU E A IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRETA, PARA A PESQUISA DE *Chlamydia trachomatis*.

Índices	CT (%)
Sensibilidade (S)	37,5
Especificidade (E)	100,0
Prevalência (P)	3,7
Taxa de erro falso positivo (TEFP)	0,0
Taxa de erro falso negativo (TEFN)	62,5

CT- *Chlamydia Trachomatis*

FIGURA 18 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400 x. *Chlamydia trachomatis*.

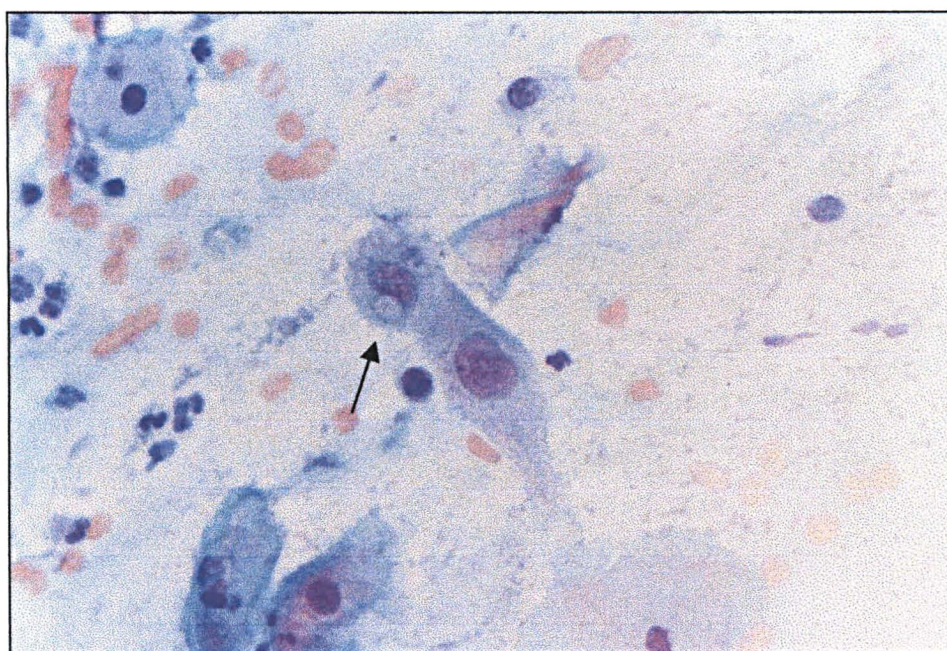
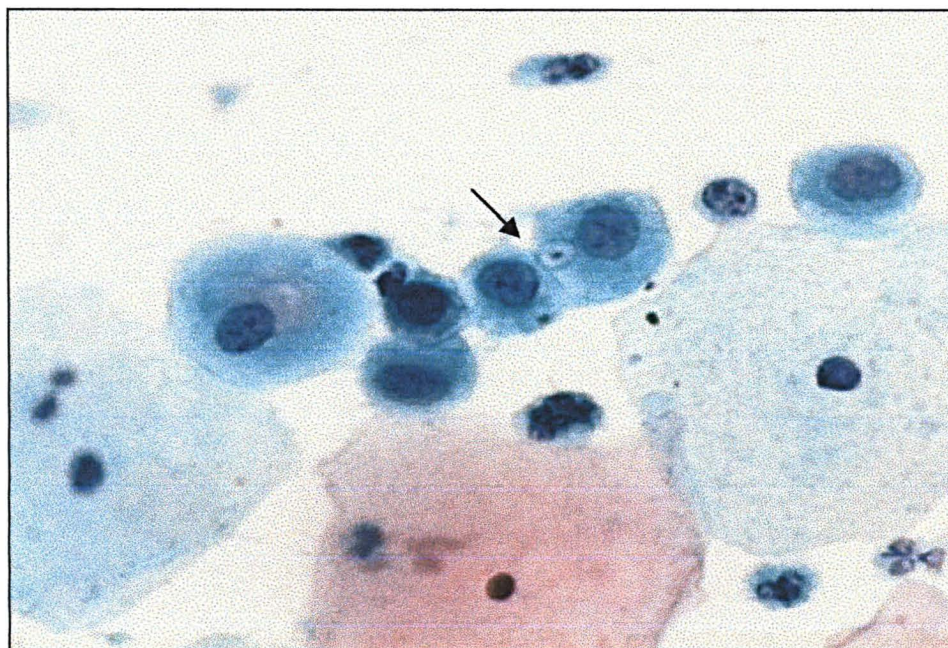


FIGURA 19 - FOTOMICROGRAFIA DE ESFREGAÇO CÉRVICO-VAGINAL. COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU. AUMENTO DE 400X. *Chlamydia trachomatis*.



No controle de qualidade por revisão de lâminas, em relação a identificação sugestiva de microrganismos como: *Candida* spp., *G. vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *T. vaginalis*, associações e alterações citopáticas de HPV, observou-se concordâncias entre 88,7 e 99,0 %, entre os observadores A e B e a observadora AEMS (Tabela 13).

TABELA 13 - PORCENTAGEM GLOBAL DE CONCORDÂNCIA ENTRE OS OBSERVADORES A E B E A OBSERVADORA AEMS, EM RELAÇÃO À IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS, E/OU SEUS EFEITOS CITOPÁTICOS, NA REVISÃO DE 99 LÂMINAS DE MATERIAL CÉRVICO-VAGINAL.

Microrganismos	Observadores	
	A	B
<i>Candida</i> spp.	91,8	92,9
<i>G. vaginalis</i>	88,7	90,9
<i>Mobiluncus</i> spp.	96,9	96,0
<i>Trichomonas vaginalis</i>	99,0	98,0
HPV	96,9	99,0
<i>Gardnerella/Mobiluncus</i>	97,9	99,0

## **6. DISCUSSÃO**

## 6. DISCUSSÃO

O propósito deste trabalho foi avaliar a contribuição do método de Papanicolaou para a triagem de algumas DST utilizando-se paralelamente métodos considerados eficientes para tal finalidade. A observação de microrganismos envolvidos com diversos processos patológicos no esfregaço cérvico-vaginal corado pelo método de Papanicolaou, bem como de seus efeitos citopáticos, está intimamente associada a critérios morfológicos previamente definidos e depende da habilidade e da experiência de cada citologista. Desta forma, definiu-se os critérios a serem adotados para o reconhecimento de estruturas sugestivas de microrganismos causadores de DST, ou mesmo de suas alterações citopáticas específicas.

No presente estudo, identificou-se a presença de *Gardnerella vaginalis*, pela coloração de Gram de 17,8% das pacientes (39/219), e em 16,4% (36/219) pelo método de Papanicolaou, sendo o microrganismo de maior prevalência. DAVIS *et al.* (1997) identificaram *Gardnerella vaginalis* em 38,1% (80/210) das pacientes pelo método de Gram, em uma clínica de colposcopia na Flórida (EUA). Destas, 55% (44/80), também foram positivas pelo método de Papanicolaou. PLATZ-CHRISTENSEN *et al.* (1995), em um hospital em Skövde, na Suécia, GIACOMINI *et al.* (1998), em Pisa, na Itália, e BHALLA e KAUSHIKA (1998), na Índia, obtiveram uma prevalência de 28% (30/107), 10,5% (166/1578) e 27,6% (110/398), respectivamente, deste microrganismo em esfregaços corados pelo método de Papanicolaou. Na identificação da *G. vaginalis* pelo método de Gram, os coco bacilos que recobrem as células chave se mostraram gram variáveis, ou seja, alguns aparecem gram positivos e outros gram negativos. O suporte laboratorial mais utilizado para o diagnóstico de vaginose bacterianas causadas por *Gardnerella vaginalis* é o método de Gram. Contudo, nossos resultados mostram sensibilidade e especificidade de 87,2% e 99,4%, respectivamente, para o método de Papanicolaou em relação ao método de Gram. Estes dados são concordantes com os encontrados por PLATZ-CHRISTENSEN *et al.* (1995) e GIACOMINI *et al.* (1998); de

88,2 e 98,6% e 88,7 e 98,8%, respectivamente. Ainda, VELASQUEZ e ROJAS (1995), encontraram uma correlação entre o método de Gram e Papanicolaou de 100%.

A técnica de Papanicolaou permite ao citologista detectar as células-chave nos esfregaços cérvico-vaginais e diferenciar o padrão lactobacilar do padrão morfológico estabelecido pelo desenvolvimento de *Gardnerella vaginalis* e/ou *Mobiluncus* spp.. Nesta coloração, percebe-se um variado pleomorfismo bacteriano e cuidados especiais devem ser tomados com o intuito de diferenciar estes dois microrganismos.

Nossos dados mostram que *Mobiluncus* spp. foi encontrado em 2,7% (6/219) dos esfregaços cérvico-vaginais corados pelo método de Papanicolaou, e 3,2% (7/219) dos esfregaços corados pelo Gram. A sensibilidade e especificidade pelo método de Papanicolaou para detecção de *Mobiluncus* spp. foram de 85,7% e 99,5%, respectivamente, o que demonstra a eficácia do método de Papanicolaou, se comparado ao de Gram. Estes dados estão de acordo com os de SCHANADIG *et al.* (1989), que identificaram *Mobiluncus* spp. em 22% (34/157) dos esfregaços corados por Papanicolaou e, em apenas 8,3% (13/157) dos esfregaços examinados pelo Gram, em amostras de pacientes de uma clínica de displasias, em Galveston, Texas.

Os escassos dados encontrados na literatura a respeito deste agente podem se dever à falta de valorização pelos citologistas em relação ao diagnóstico diferencial entre *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus* spp.. Tanto pelo método de Papanicolaou como pelo método de Gram, pode-se observar que estas duas bactérias se aderem à membrana de células do epitélio cérvico-vaginal, dando origem às chamadas *clue cells* ou células chave, nos casos de *G. vaginalis*, e *coma cells* ou células em vírgula nos casos de *Mobiluncus* spp.. Ambas podem ser confundidas se observadas ao microscópio de luz, em aumento de 400 x. No entanto, um observador experiente poderá diferenciar a morfologia bacteriana entre coco-bacilo e bacilo fino curvo, se observar atentamente em microscopia de imersão, sob aumento de 1000 x. Desta forma, pode-se chegar ao diagnóstico diferencial (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000). De um modo geral, foi observado um maior número de leucócitos polimorfonucleares (PMN) nos esfregaços onde se detectou

*Mobiluncus* spp., em relação àqueles onde se detectou *Gardnerella vaginalis*. Este achado pode estar relacionado ao fato de que a *G. vaginalis* produz aminoácidos e descarboxilases, havendo a formação de aminas voláteis, que causam a descamação do epitélio e inibem a quimiotaxia dos leucócitos (GIACOMINI *et al.*, 1998).

Isolou-se *Candida* spp. em 13,6% das culturas e, pelo método de Papanicolaou, este agente foi identificado em 5,9% dos esfregaços (Figuras 12 a 14). Utilizou-se ainda para a detecção de *Candida* spp. o método de Gram, pelo qual a positividade foi de 6,4%. Verificou-se, assim, uma alta concordância estes dois métodos, indicando que, pelo método de Papanicolaou, a identificação de células leveduriformes e pseudo-hifas é comparável ao método de Gram.

A baixa sensibilidade do método de Papanicolaou (23,3%), quando comparado à cultura, considerada como método padrão, deve-se ao fato da cultura ser capaz de identificar concentrações muito baixas de organismos viáveis no material. Optou-se pela cultura, devido à sua alta sensibilidade, mas cabe ressaltar que nem sempre uma cultura positiva indica infecção, levando-se em consideração que este microrganismo está presente em 50% das mulheres com microbiota vaginal normal, e que a presença apenas de células leveduriformes não é confirmatória de infecção (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

TAKAC (1998), em uma clínica ginecológica em Maribor, Eslovênia, identificou uma prevalência de *Candida* spp. de 6,1%. MORAES FILHO (1994), em estudos realizados na cidade de Curitiba, encontrou uma prevalência de 3,05%, e LUCENA *et al.* (1999), em uma maternidade no município de Bréjo Santo, Ceará, observaram uma prevalência em gestantes, de 41,8%.

Para a pesquisa de *Trichomonas vaginalis*, considera-se como método padrão a cultura do parasita em meio de Diamond e suas variações, altamente específico e e sensível. Para este trabalho, decidiu-se utilizar o exame a fresco da secreção vaginal de fundo de saco posterior, também considerado, por alguns autores, como método padrão (OHLEMEYER *et al.*, 1998). Este método, descrito primeiramente por DONNÉ (1836),

continua a ser empregado, e é extremamente útil no diagnóstico de infecções causadas por *T. vaginalis* (PETRIN *et al.*, 1998). No presente estudo, o *T. vaginalis* foi identificado em 2,3% das pacientes (5/220) pelo método a fresco. Já pelo método de Papanicolaou, identificou-se o parasita em 1,8% (4/220) dos esfregaços cérvico-vaginais.

Os dados na literatura com relação à prevalência deste agente são bastante variáveis. TAFURI e RASO (1991), em amostras obtidas de um laboratório privado em Belo Horizonte, relataram uma variação da prevalência de 3,4% a 14,8% em pacientes gestantes. ALVARENGA *et al.* (1998), obtiveram uma prevalência de 8,7% pelo exame direto, em secreções vaginais de mulheres atendidas em clínicas especializadas em Araraquara, São Paulo. LUCENA *et al.* (1999), em uma maternidade no município de Brejo Santo, Ceará, obtiveram 5,4%, e FRANKLIN e MONIF (2000), 12,6%, em gestantes atendidas no Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Universidade de Medicina de Creighton, Nebraska, EUA. Utilizando-se o método de Papanicolaou, SARDANA *et al.* (1994), obtiveram uma prevalência de 5,1%, em amostras coletadas no Instituto de Citologia e Oncologia Preventiva, de Nova Deli, e MORAES FILHO (1994) em estudo realizado em Curitiba relatou uma incidência de 4,2%.

A citologia pelo método de Papanicolaou para o diagnóstico de *Trichomonas vaginalis* mostrou sensibilidade e especificidade de 60% e 99,5%, respectivamente. A sensibilidade observada foi concordante com a relatada por OHLEMEYER *et al.* (1998), em estudos realizados em secreções vaginais de adolescentes atendidas em clínicas de St. Louis e Kansas, EUA, onde obtiveram uma sensibilidade de 56%.

Na citologia cérvico vaginal, pode-se observar vários graus de intensidade da infecção por *T. vaginalis*. Em pacientes hysterectomizadas é possível, em alguns casos, observar um esfregaço limpo, sem presença de PMN e sinais de inflamação (MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000). CLAY *et al.* (1988), encontraram uma porcentagem de casos falso positivos de 3 a 6%, pelo método de Papanicolaou e sugerem como causas de erro: amostra pobre em organismos, escrutínio incompleto da lâmina e erros de interpretação. Deve-se ainda levar em conta que, a quantidade de parasitas é

variável no mesmo paciente conforme determinadas circunstâncias. No organismo feminino, por exemplo, uma maior quantidade de microrganismos pode ser encontrada no período menstrual, quando a grande quantidade de ferro decorrente da menstruação é favorável ao desenvolvimento de uma maior virulência deste microrganismo (PETRIN *et al.*, 1998).

Como ensaio paralelo, realizou-se a técnica de coloração com laranja de acridina (LA), uma coloração fluorescente, não núcleo-específica, para a qual se utilizou o mesmo material coletado para a realização do exame a fresco. No presente estudo, a pesquisa de *Trichomonas vaginalis* pela coloração com LA mostrou um índice Kappa de 82,5%, quando comparado ao exame a fresco, evidenciando uma excelente concordância entre as duas metodologias (99,1%). VAN DER SCHEE *et al.* (1999) pesquisaram *T. vaginalis* em 846 amostras de mulheres atendidas em uma Clínica de Doenças Sexualmente Transmissíveis em Rotterdam-Holanda, através das técnicas de exame a fresco, cultura em meio de Trichosel, coloração com LA e PCR. De um total de 846 amostras analisadas, 36 mostraram-se positivas pelo método de LA, enquanto que a cultura em meio de Trichosel mostrou 46, o método a fresco, 31 amostras, e a técnica de PCR 61 amostras. Através dos resultados obtidos, verificou-se que não há ainda uma metodologia ideal, pois nenhuma das metodologias empregadas no estudo foi capaz de identificar todas as amostras positivas, sendo o uso de uma ou mais metodologias recomendado para um diagnóstico mais apurado. Naquele estudo, observou-se uma maior positividade, quando técnicas moleculares como o PCR foram empregadas, porém esta metodologia ainda está longe de ser considerada como ideal, devido à baixa acessibilidade da maioria da população ao método, e por um resultado positivo por esta metodologia não indicar necessariamente a presença de doença.

A prevalência de *Chlamydia trachomatis* na população estudada foi de 3,7%. Estudos demonstram que a prevalência deste microrganismo na população varia conforme os diferentes níveis sócio-econômicos. Nos EUA, a mesma está entre 2 e 23%, é mais comum em adolescentes e atinge cifras mais elevadas em países em desenvolvimento

(RADDI *et al.*, 1992; EDELMAN *et al.*, 2000). PASSOS *et al.* (1994) através da técnica de imunofluorescência direta (IFD), obtiveram uma prevalência de 4% (4/100) em estudos realizados em pacientes não promíscuas atendidas pelo Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e QUINN *et al.* (1987), através da cultura do material endocervical em células McCoy, obtiveram prevalência de 21% (51/245), em pacientes atendidas no Hospital Johns Hopkins e em uma clínica de Baltimore, USA . Estes últimos autores obtiveram uma prevalência de 18,5% quando pesquisaram este agente pelo método de Papanicolaou. MASATOSHI *et al.* (2000) encontraram uma prevalência de 20 a 30% de infecções por *C. trachomatis* em profissionais do sexo, em clínicas de DST na cidade de Fukuoka, Japão, e 5% nas mulheres em geral, através do uso de ELISA e PCR. MAEDA *et al.* (1991), em um hospital de São Paulo, detectaram uma prevalência de 35,7% (59/166), utilizando IFD, em mulheres que não apresentavam nenhuma sintomatologia da doença.

No presente estudo, *Chlamydia trachomatis* foi identificada em 1,4% (3/219) dos esfregaços cérvico-vaginais corados por Papanicolaou, e por imunofluorescência direta (IFD) em 3,6% (8/219) das amostras. Em estudos realizados por GIAMPAOLO *et al.* (1983), em Boston, EUA, dos 53 casos estudados, nenhum apresentou esfregaço sugestivo para *C. trachomatis* pelo método de Papanicolaou, dentre estes, 11 casos foram positivos para *C. trachomatis* por cultura. FORSTER *et al.* (1985), em pacientes atendidas em uma clínica em Londres, identificaram *C. trachomatis* em 37% (45/121) das amostras analisadas por IFD. Destas, o método de Papanicolaou se mostrou sugestivo em 13% dos casos. GEERLING *et al.* (1985), no Departamento de Patologia e Medicina Laboratorial, da Universidade do Texas, EUA, detectaram *C. trachomatis* em 10% (5/50) dos esfregaços citológicos em uma primeira leitura e após revisão das lâminas, com conhecimento dos resultados de cultura positivos, observaram 23% (8/35). CAMPOS *et al.* (1986), em material cervical de mulheres atendidas em vários ambulatórios da capital, interior e litoral de São Paulo, identificaram alterações citológicas sugestivas de infecção

por *C. trachomatis* em 0,16% (49/30.000) dos esfregaços corados por Papanicolaou analisados. MAEDA *et al.* (1987), em amostras obtidas de pacientes atendidas pelo Setor de Citologia Oncótica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, para realização do exame preventivo, identificaram *C. trachomatis* em 46% (19/41) dos esfregaços corados por Papanicolaou e por IFD em 66% (27/41), e CAVALIERI *et al.* (1989) obtiveram 20,4% (33/161) amostras positivas pela IFD e 9,3% (15/161) pelo método de Papanicolaou, em amostras de pacientes que se submeteram ao exame preventivo, em Taubaté, São Paulo. PANÚCO *et al.* (2000) identificaram *C. trachomatis* em 3,2% (4/125) dos esfregaços corados pelo Papanicolaou, em amostras obtidas de mulheres atendidas no Hospital Geral Ignacio Zaragoza, México.

Muitos autores consideram como método padrão para o diagnóstico de *C. trachomatis* o cultivo em células McCoy. No entanto, o método de imunofluorescência direta (IFD), que é um método mais rápido, menos dispendioso e com sensibilidade e especificidade muito próximas às da cultura, 94% e 99%, respectivamente, também pode ser considerado como padrão (QUINN *et al.*, 1987; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997). Desta forma, optou-se por utilizar esta última metodologia.

A sensibilidade e especificidade do método de Papanicolaou na detecção de *C. trachomatis* para este estudo foi de 37,5% e 100%, respectivamente. O Quadro 4 ilustra a sensibilidade e especificidade do método de Papanicolaou, encontradas por diversos autores.

MAEDA *et al.* (1991) demonstraram que a sensibilidade desta metodologia pode ser aumentada se a secreção cervical for coletada com uma escova do tipo *citobrush*.

QUADRO 4 – SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO MÉTODO DE PAPANICOLAOU, QUANDO COMPARADO A OUTRO MÉTODO PARA DETECÇÃO DE *Chlamydia trachomatis*, DE ACORDO COM DIVERSOS AUTORES.

AUTORES (ano)	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE	MÉTODO COMPARATIVO
MAEDA et al. (1987)	83%	55%	IFD
QUIM et al. (1987)	54%	71%	CULTURA
CAVALIERI et al. (1989)	91,6%	84%	IFD
RADDI et al. (1994)	27,3%	83,1%	CULTURA
PANÚCO et al. (2000)	100%	99,18%	PCR
FIGURAS 18 e 19 TABELAS 11 e 12	37,5%	100%	IFD

Em dados da literatura, observou-se uma grande variabilidade da sensibilidade e especificidade do método de Papanicolaou, quando comparado aos diversos métodos para detecção deste agente. Acreditamos que esta variabilidade pode ser devida a variações nos critérios morfológicos adotados pelos pesquisadores para classificar citologicamente uma infecção por *Chlamydia trachomatis*, bem como ao emprego de material não representativo da endocérvice. No presente estudo, adotamos os critérios sugeridos por GUPTA *et al.* (1979), pelos quais se considera um esfregaço cérvico-vaginal como sugestivo para infecção por esta bactéria pela presença de inclusões eosinofílicas citoplasmáticas únicas ou múltiplas no interior de vacúolos, em células metaplásicas pavimentosas e células colunares endocervicais. Quando as inclusões aparecem no interior de diversos pequenos vacúolos, conferem à célula o aspecto de mordedura de traça ou *moth eaten*.

Realizou-se a cultura de secreção endocervical em meio de Thayer Martin e ágar chocolate suplementado para pesquisa de *Neisseria gonorrhoeae*. Entretanto, nenhum caso foi identificado de infecção por esta bactéria em esfregaços cérvico-vaginais corados pelo método de Papanicolaou, nem pela cultura.

Na amostra analisada, verificou-se alguns casos de displasias, sem entretanto se evidenciar a presença do coilócito, célula típica da infecção por HPV. Segundo o sistema

BETHESDA de classificação, em casos onde há presença de lesões epiteliais escamosas de baixo e alto grau, há forte suspeita de infecção por este agente. No entanto, pela ausência de coilócitos e pela impossibilidade de pesquisar casos de infecção por HPV por método padrão, como a captura híbrida ou técnicas de PCR, não se pode afirmar qual é a prevalência de infecção por HPV na população estudada. Não foi possível também avaliar se houve resultados falso negativos pelo método de Papanicolaou. Há necessidade de estudos com um maior número de exames e com a realização de método padrão concomitante para avaliar a relevância do exame de Papanicolaou no diagnóstico de HPV.

Alguns estudos, como os realizados por MORAES FILHO e LONGATTO FILHO (2000), em programas preventivos de massa, utilizando o método de Papanicolaou, citam por exemplo, que a prevalência de infecção por HPV em Curitiba e em São Paulo, para este mesmo ano foi de 0,7% e 1,3%, respectivamente. CHIUCHETTA *et al.* (2001), em estudos na cidade de Maringá, Paraná, obtiveram uma prevalência de 1,7%. YLITALO *et al.* (1995), em uma população feminina na cidade de Uppsala, Suécia, detectaram HPV em 27% das amostras cérvico-vaginais, submetidas ao exame de de Papanicolaou e posteriormente ao método de PCR. SELLORS *et al.* (2000), utilizando a técnica de captura híbrida, obtiveram uma prevalência de 24%, em mulheres de 20 a 24 anos, e 3,4% em mulheres de 45 a 49 anos, em Ontário, Canadá.

A citologia tem sido recomendada por vários autores, como método para detecção de HPV em grandes populações. As vantagens desta metodologia envolvem, seu baixo custo, fácil aplicabilidade mesmo em centros economicamente carentes, alta especificidade e a diminuição dos índices de mortalidade por câncer de colo uterino. Entretanto, apresenta limitações para identificar infecções pelo HPV em lesões pré-neoplásicas. Para minimizar este problema, têm-se empregado métodos alternativos como técnicas de hibridizações moleculares e imunorreações, como as da peroxidase (SOARES, 1999; MORAES FILHO; LONGATTO FILHO, 2000).

Em infecções como as causadas por *C. trachomatis* e HPV, para as quais o exame de Papanicolaou pode ser pouco sensível, é importante que, sempre que possível, sejam

realizados métodos padrão para se evitar falhas no diagnóstico. No entanto, a grande maioria da população feminina, não tem a perspectiva de acesso a exames dispendiosos como rotina, ao menos em países como o Brasil. Sendo assim, é importante aperfeiçoar um meio de detectar o maior número possível de casos destas DST, com o exame de Papanicolaou, ao qual o acesso é ainda limitado, mas crescente. E isto só será conseguido a partir do aprimoramento dos critérios morfológicos e de sua padronização e divulgação, através de estudos a respeito de sua validade.

Para estabelecer um controle de qualidade, comparou-se a revisão de 99 lâminas feita por dois outros observadores, A e B, com a observadora AEMS, obtendo-se uma concordância de 88,7 a 99%, em relação à identificação de microrganismos ou de seus efeitos citopáticos sobre as células epiteliais. Estes dados demonstram que houve um escrutínio minucioso dos esfregaços pela observadora AEMS (STINGHEN *et al.*, 2001).

É importante que os citologistas estejam preocupados e preparados para observar não somente os processos pré-malignos e malignos do epitélio cérvico-vaginal, mas também a detecção de microrganismos que podem contribuir potencialmente para o desenvolvimento dessas patologias. O método de Papanicolaou vem sendo incorporado à saúde pública brasileira e pode contribuir de forma substancial para o diagnóstico das DST.

## **7 CONCLUSÕES**

## 7 CONCLUSÕES

No estudo de uma população de 223 mulheres atendidas na Unidade de Saúde Jardim Santos Andrade, em Curitiba-PR, para a realização do exame preventivo de câncer, a comparação entre o método de Papanicolaou e métodos considerados padrão para o diagnóstico de algumas DST, permite as seguintes conclusões:

- 7.1 *Gardnerella vaginalis* foi o microrganismo de maior prevalência (17,8%), seguido de *Candida* spp. (13,6%), *Chlamydia trachomatis* (3,7%), *Mobiluncus* spp. (3,2%) e *Trichomonas vaginalis* (2,3%). Nenhum caso foi identificado de infecção por *Neisseria gonorrhoeae* e um caso foi duvidoso para o diagnóstico de infecção por HPV, sendo o mesmo considerado como negativo.
- 7.2 No diagnóstico de infecções causadas por *Gardnerella vaginalis*, o método de Papanicolaou mostrou sensibilidade e especificidade de 87,2% e 99,4%, respectivamente, em relação ao método de Gram, rotineiramente utilizado no diagnóstico deste microrganismo.
- 7.3 Quando comparado ao método de Gram, o método de Papanicolaou no diagnóstico de infecções causadas por *Mobiluncus* spp., apresentou sensibilidade e especificidade de 85,7% e 99,5%, respectivamente.
- 7.4 O método de Papanicolaou quando comparado à cultura para diagnóstico de *Candida* spp., mostrou-se pouco sensível, 23,3%, porém com especificidade de 96,8%, e em relação ao método de Gram, amplamente utilizado para o diagnóstico deste agente, mostrou-se eficiente ( kappa, 80,3%).
- 7.5 Na pesquisa de *Trichomonas vaginalis* pelo método de Papanicolaou, a sensibilidade encontrada foi 60,0%, e a especificidade foi 99,5%, em relação ao método a fresco.

7.6 A sensibilidade do método de Papanicolaou para infecções causadas por *Chlamydia trachomatis* foi de 37,5%, e a especificidade, de 100%, em relação à IFD, considerada padrão.

Conclui-se, portanto, que o método de Papanicolaou pode ser indicado para a pesquisa de *Gardnerella vaginalis* e de *Mobiluncus* spp. pela sua alta sensibilidade e especificidade. Na pesquisa de *Trichomonas vaginalis*, *Candida* spp. e *Chlamydia trachomatis*, demonstrou ser um método bastante específico, apesar de limitado em relação à sensibilidade. Estudos adicionais devem ser realizados a fim de se aprimorar os critérios citológicos utilizados no diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, Papilomavirus humano e *Neisseria gonorrhoeae*, com um maior número de casos. Os resultados obtidos sugerem que o exame de Papanicolaou pode contribuir na detecção de casos de DST na população feminina.

## **8. REFERÊNCIAS**

## 8. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, J. G.; IGLESIAS, S. *Chlamydia trachomatis* e infecção genital feminina. Contribuição ao seu estudo. **Jornal Brasileiro de ginecologia**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 3, p. 75-82, 1987.

ALVARENGA, V. L. S.; SANTIAGO, M. C. T. P.; CICARELLI, R. M. B. *Trichomonas vaginalis*: A comparative analysis of diagnostical methods. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 67-76, 1998.

AMSEL, R.; TOTTEN, P. A. SPIEGEL, C. A.; CHEN, K. C. S.; ESCHENBACH, D.; HOLMES, K. K. Nonspecific vaginitis. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 74, p. 14-22, 1983.

BETHESDA SYSTEM 2001 TERMINOLOGY. Disponível em: <http://www.bethesda2001.cancer.gov/terminology.html> acesso em 14 maio 2002.

BHALLA, P.; KAUSHIKA, A. cervical cytology in women with bacterial vaginosis. **Indian Journal Pathology Microbiology**, Panjagutta, v. 44, n. 3, p. 271-275, 1998.

BIBBO, M. **Comprehensive Cytopathology**. 2. Ed. Philadelphia: Saunders, 1997.

BICKLEY, L. S.; KRISHER, K. K. PUNSALANG, A.; TRUPEI, M. A.; REICHMAN, R. C.; MENEGUS, M. A. Comparasion of direct fluorescent antibody, acridine orange, wet mount, and culture for detection of *Trichomonas vaginalis* in women attending a public sexually transmitted diseases clinic. **Sexually Transmitted Diseases**, Philadelphia, v. 16, n. 3, p. 127-131, 1989.

CAMPOS, E. P; MAEDA, M. Y. S.; SHIH, L. W. S.; PACHECO, G. R.; ALVES, V. A. F. Rastreamento de alterações morfológicas atribuíveis a clamídias em 30.000 amostras de esfregaços vaginais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 46, n. ½, p. 59-64, 1986.

CARVALHO, G. **Citologia do Trato Genital Feminino**. 3. Ed. São Paulo: Atheneu, 1989.

CASTRO, J. M. S.; ALVES, B. E. Contribuição para o estudo etiológico das vaginoses bacterianas. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 31-34, 1992.

CAVALIERI, M. J.; SHIH, L. W. S.; YAMAMOTO, L. S. U.; MAEDA, M. Y. S.; COSTA, L. M.; SANTOS, S. I. S. *Chlamydia trachomatis*: importância da colheita endocervical no diagnóstico pelo método de Papanicolaou. **Revista Paulista de Medicina**, São Paulo, v. 107, n. 1, p. 25-28, 1989.

CDC-CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. National Center for HIV, STD and TB Prevention. **Division of Sexually Transmitted Diseases**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nchstp/dstd/dstdp.html>> acesso em: 23 abril 2002.

CHAN, E. L.; BRANDT, K.; STONEHAM, H.; ANTONISHYN, N.; HORSMAN, G. B. Comparasion of the effectiveness of polimerase chain reaction and enzyme immunoassay in detecting *Chlamydia trachomatis* in different female genitourinary specimens. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, Chicago, v. 124, 2000.

CHAVES, E. Procedimentos técnicos usados em citologia vaginal esfoliativa. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 26-29, 1987.

CHIUCHETTA, G. I. R.; RUGGERI, L. S.; PIVA, S.; IRIE, M. M. T.; SUZUKI, L. E.; CONSOLARO, M. E. L. Determinação dos aspectos citológicos e epidemiológicos das lesões cervicais e sua associação com Papilomavirus (HPV). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 39-44, 2001.

CLAY, J. C.; VEERAVAHU, M.; SMYTH, R. W. Practical problems of diagnosis trichomoniasis in women. **Genitourinary Medicine**, London, v.64, p. 115-117, 1988.

CONSOLARO, M. E. L.; SUZUKI, L. E.; MARQUES, E. B. A. Estudo da tricomoníase e sua abordagem no diagnóstico colpocitológico. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, p. 25-28, 1999.

DAVIS, J.; CONNOR, E. E.; CLARK, P.; WILKINSON, E. J.; DUFFY, P. Correlation between cervical cytologic results and Gram stain as diagnostic tests for bacterial vaginosis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 177, n. 3, p. 532-535, 1997.

DICKER, L. W. MOSURE, D. J.; LEVINE, W. C.; BLACK, C. M.; BERMAN, S. M. Impact of switching laboratory tests on reported trends in *Chlamydia trachomatis* infections. **American Journal of Epidemiology**, Cary, v. 151, n. 4, p. 430-435, 2000.

DONDERS, G. G. G.; VEREECKEN, A.; DEKEERSMAECKER, A.; BULCK, B. V.; SPITZ, B. Wet mount microscopy reflects vaginal lactobacillary flora better than Gram stain. **Journal of Clinical Pathology**, London, v. 53, n. 4, 308-313, 2000.

DONNÉ, M. A. Animacules observes dans les matieres purulentes et le produit des secretions des organes genitaux de l'homme et de la femme. **Comptes Rendus de L Academie des Sciences**, Montrouge, v. 3, p. 385-386, 1836.

DUCCI, L.; PEDOTTI, M. A.; SIMÃO, M. G.; MOYSÉS, S. J. **Curitiba: a saúde de braços abertos**. Rio de Janeiro: CEBES, 2001.

EDELMAN, M.; FOX, A.; ALDERMAN, E.; NEAL, W.; SHAPIRO, A.; SILVER, E. J.; SPIGLAND, I.; SUHRLAND, M. J. Cervical Papanicolaou smear abnormalities and *Chlamydia trachomatis* in sexually active adolescent females. **Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology**, Philadelphia, v. 13, p. 65-69, 2000.

EKERT, L. O.; KOUTSKY, L. A.; KIVIAT, N. B.; KRONE, M. R.; STEVENS, C. E.; ESCHENBACH, D. A. The inflammatory Papanicolaou smear: What does it mean? **Obstetrics & Gynecology**, local, v. 86, n. 3, p. 360-366, 1995.

FAUCI, A. S.; BRAUNWALD, E. ISSELBACHER, K. J.; WILSON, J. D.; MARTIN, J. B.; KASPER, D. L.; HAUSER, S. L.; LONGO, D. L. **Harrison's Principles of Internal Medicine**. 14. Ed. New York: McGraw-Hill, 1998.

FERENCZY, A. Viral testing for genital human papillomavirus infections: recent progress and clinical potentials. **International Journal of Gynecological Cancer**, Cambridge, v. 5, p. 321-328, 1995.

FIORI, P.L. P.; RAPPELLI, P; ADDIS, M., F.; MANNU, F.; CAPPUCINELLI, P. Contact-dependent disruption of the host cell membrane skeleton induced by *Trichomonas vaginalis*. **Infection and Immunity**, Washington, v. 65, n. 12, p. 5142-5148, 1997.

FORBES, B. A.; SAHM, D. F.; WEISSFELD, A. S. **Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology**. 10. Ed. St. Louis: Mosby, 1998.

FORSTER, G. E; COOKEY, I.; MUNDAY, P. E.; RICHMAN, P. I.; JHA, R.; COLEMAN, D.; THOMAS, B. J.; HAWKINS, D. A.; EVANS, R. T.; TAYLOR-ROBINSON, D. Investigation into the value of Papanicolaou stained cervical smears for the diagnosis of chlamydial cervical infection. **Journal of Clinical Pathology**, London, v. 38, p. 403-408, 1985.

FRANKLIN, T. L.; MONIF, G. R. G. *Trichomonas vaginalis* and bacterial vaginosis. Coexistence in vaginal wet mount preparations from pregnant women. **The Journal of Reproductive Medicine**, St. Louis, v. 45, n. 2, 2000.

FOUTS, A. C; KRAUS, S. J. *Trichomonas vaginalis*: Reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. **The Journal of Infectious diseases**, Chicago, v. 141, n. 2, p. 137-143, 1980.

GARDNER, H. L.; DUKES, C. D. *Haemophilus vaginalis* vaginitis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 69, n. 5, p. 962-976, 1955.

GEERLING, S.; NETTUM, J. A.; LINDNER, L. E.; MILLER, S. L.; DUTTON, L.; WECHTER, S. Sensitivity and specificity of the Papanicolaou-stained cervical Smears in the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection. **Acta Cytologica**, St. Louis, v. 29, n. 5, p. 671-675, 1985.

GIACOMINI, G.; BIANCHI, G.; MORETTI, D. Detection of sexually transmitted diseases by urethral cytology, the ignored male counterpart of cervical cytology. **Acta Cytologica**, St Louis, v. 33, n. 1, p. 11-15, 1989.

GIACOMINI, G. G.; CALCINAI, A.; MORETTI, D. CRISTOFANI, R. Accuracy of cervical/vaginal cytology in the diagnosis of bacterial vaginosis. **Sexually Transmitted Diseases**, Hagerstown, Philadelphia, v. 25, n. 1, p. 24-27, 1998.

GIAMPAOLO, C.; MURPHY, J.; BENES, S.; McCORMACK, W. M.. How sensitive is the Papanicolaou smear in the diagnosis of infections with *Chlamydia trachomatis*?. **American Journal of Clinical Pathology**, Chicago, v. 80, n. 6, p. 844-849, 1983.

GONÇALVES, M. A.; SILVA FILHO, F. C. Estudo do comportamento clínico e a microscopia eletrônica de cepas de *Trichomonas vaginalis* na Cidade do Rio de Janeiro. **Jornal Brasileiro de Ginecologia**, Rio de Janeiro, v. 103, n. 11-12, p. 403-412, 1993.

GONÇALVES, M. A. G.; CARVALHO, G.; SILVA FILHO, F. C. Associação *T. vaginalis* e *G. vaginalis*: variações nos efeitos epiteliais. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p. 4-10, 1999.

GOMPEL, C.; KOSS, L. G. **Citologia ginecológica e suas bases anatomoclínicas**. São Paulo: Manole, 1997.

GUIJON, F. B.; PARASKEVAS, M.; BRUNHAM, R. The association of sexually transmitted diseases with cervical intraepithelial neoplasia: A case-control study. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 151, n. 2, p. 185-190, 1985.

GUPTA, P. K.; LEE, E. F.; EROZAN, Y. S.; FROST, J. K.; GEDDES, S. T.; DONOVAN, P. A. Cytologic investigations in Chlamydia infection. **Acta Cytologica**, St. Louis, v. 23, n. 4, p. 315-320, 1979.

HALL, S.; LORINCZ, A.; SHAH, F.; SHERMAN, M. E.; ABBAS, F.; PAULL, G.; KURMAN, R. J.; SHAH, K. V. Human papillomavirus DNA detection in cervical specimens by hybrid capture: correlation with cytologic and histologic diagnosis of squamous intraepithelial lesions of the cervix. **Gynecologic Oncology**, Orlando, v. 62, p. 353-359, 1996.

HARRY, T. C.; RASHID, S.; SARAVANAMUTTU, K. M.; SHRESTHA, T. L. Ignored trichomonal infestation diagnosed by Papanicolaou smear. **Genitourinary Medicine**, London, v. 71, n. 4, p. 257-258, 1995.

HASS, P.; COMELI, O.; MARCON, S.; MÜLLER, K. Levantamento das características metodológicas em citologia cérvico-vaginal no Estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 194-196, 1998.

HOLMES, K. K. SPIEGEL, C.; AMSEL, R.; ESCHENBACH, D. A.; CHEN, K. C. S.; TOTTEN, P. Nonspecific vaginosis. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Stockholm, v. 26, p. 110, 1981.

HOWARD, L. K. Epidemiology of vaginitis. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 165, n. 4, p. 1168-1176, october 1991.

ISENBERG, H. D. **Clinical microbiology procedures handbook**. Washington: American Society for Microbiology, 1995.

JEKEL, J. F.; ELMORE, J. G.; KATZ, D. **Epidemiologia, bioestatística e medicina preventiva**. Porto Alegre: Limed, 1999.

KOSS, L. G. **Diagnostic cytology and its histopathologic bases**. Philadelphia: J. B. Lippincott Company, 1992.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN JR, W. C. **Diagnóstico microbiológico. Texto e atlas colorido**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

KURMAN, R. J.; SOLOMON, D. **O sistema Bethesda para o relato de diagnóstico citológico cervicovaginal**. Rio de Janeiro: Revinter, 1997.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. **Medical mycology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Guia para identificação: fungos, actinomicetos, algas de interesse médico**. São Paulo: Sarvier, 1998.

LOTFI, H.; DOTI, H.; LEICA, M. V.; OLCESE, E. Flujo genital. Relación com *Gardnerella vaginalis*, correlación entre diferentes metodos diagnósticos. **Obstetricia Y Ginecología Latino Americanas**, Buenos Aires, v. 42, n. 3-4, p. 140-143, 1984.

LUCENA, A. L. M.; BARBOSA, R. C. C. Incidência de *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* e fungos, em secreções vaginais de mulheres grávidas. **NewsLab**, São Paulo, n. 44, p. 208-214, 1999.

LYTTLE, H.; PLATTS, W. M.; MacLEAN, A. B. Pilot study of cervical cytology screening in sexually transmitted diseases clinic. **Genitorinary Medicine**, London, v. 61, p. 330-334, 1985.

MAEDA, M. Y. S.; CAVALIERI, M. J.; SHIH, L. W. S.; YAMAMOTO, L. S. U. *Chlamydia trachomatis* em esfregaços cervicais e vaginais: importância do método de Papanicolaou no rastreamento em grandes populações. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 47, n. 1/2, p. 45-50, 1987.

MAEDA, M. Y. S.; LONGATTO FILHO, A.; SANTOS, D. R.; CAVALIERE, M. J.; SHIH, L. W. S.; OYAFUSO, M. S. ANDREA FILHO, A. D. Detection of *Chlamydia trachomatis* cervical infection: a comparasion of Papanicolaou and immunofluorescent staining in smears obtained by Aire's spatula and citobrush. **Pathologica**, Genova, v. 83, p. 105-109, 1991.

MAEDA, M. Y. S.; SHIRATA, N. K.; LONGATTO FILHO, A.; CAVALIERI, M. J.; UTAGAWA, M. L.; LORETO, C. Estudo morfológico de infecções concomitantes de *Chlamydia trachomatis* e papilomavírus humano em esfregaços cérvico-vaginais com neoplasias intra-epiteliais cervicais invasoras. **Folha médica**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 4, p. 119-122, 1993.

MARDH, P. A. The vaginal ecosystem. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 165, n. 4, p. 1163-1168, 1991.

MASATOSHI, T.; HIROSHI, N.; KAZUYUKI, S.; MASASHI, H.; HIROSHI, Y.; TISHIKATSU, A.; KOHEI, A.; SEIJI, N. Evaluation of a new enzyme immunoassay (EIA) for the detection of *Chlamydia trachomatis* in male urine, female endocervical swab, and patient obtained vaginal swab specimens. **Journal of Clinical Pathology**, London, v. 55, n. 5, p. 350-354, 2000.

MEISELS, A.; MORIN, C. **Cytopathology of the uterus**. Chicago: ASCP Press, 1997.

MENDES, R. E. **Avaliação da prevalência e sensibilidade a antimicrobianos dos organismos responsáveis por cervicite, vaginite e vaginose bacteriana em gestantes infectadas por HIV**. São Paulo, 2001. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências Básicas em Doenças Infecciosas e Parasitárias) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Técnicas para coleta de secreções**. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis. AIDS, Série TELELAB, 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diagnóstico laboratorial da clamídia**. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis. AIDS, Série TELELAB, 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Políticas de saúde. **Manual de Controle de Doenças Sexualmente Transmissíveis**. Coordenação DST e AIDS. 3. Ed. Brasília: Ministério da saúde, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Coordenação Nacional DST/AIDS**. Disponível em: <<http://www.aids.gov>> acesso em 23 abril 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Instituto Nacional do Câncer – INCA. Programa de Controle do Câncer do Colo do útero - Viva Mulher**. Disponível em: <[http://www.inca.org.br/viva\\_mulher/](http://www.inca.org.br/viva_mulher/)> acesso em 28 de abril de 2002.

MONTEIRO, M. V. C.; SILVA, A., R.; PEDROSA, C. M.; CANTO, M. C.; SILVESTRIN, R.; GONÇALVES, M. A. G. Tricomoniase. **Femina**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 9, p. 911-914, 1992.

MORAES FILHO, A. Diagnóstico citológico de agentes microbiológicos e doenças sexualmente transmissíveis em programa de massa. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CITOPATOLOGIA, 1994, Recife. **Relação de trabalhos**, Recife, 1994.

MORAES FILHO, A. ; LONGATTO FILHO, A. **Colo Uterino & Vagina. Processos inflamatórios. Aspectos histológicos, citológicos e colposcópicos**. Rio de Janeiro: Revinter, 2000.

MURTA, E. F. C.; SOUZA, M. A. H.; ARAÚJO JUNIOR, E.; ADAD, S. J. Incidence of *Gardnerella vaginalis*, *Candida* sp and human papilloma virus in cytological smears. **São Paulo Medical Journal**, São Paulo, v. 118, n. 4, p. 105-108, 2000.

NUGENT, R. P.; KROHN, M. A.; HILLEIER, S. L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 29, n. 2, p.297-301, 1991.

OHLEMEYER, C. L.; HORNBERGER, L. L.; LYNCH, D. A.; SWIERKOSZ, E. M. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* in adolescent females: In Pouch TV® culture versus wet-mount microscopy. **Journal of Adolescent Health**, New York, v. 22, n. 3, p. 205-208, 1998.

OMER, E. F. E.; NAEEM E., H. A.; ALI, M. H.; CATTERALL, R. D.; ERWA, H. H. Evaluation of the laboratory diagnosis of vaginal trichomoniasis in Khartoum. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Oxford, v. 91, p. 292-295, 1988.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S. I. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier, 2000.

PALER, R. J.; SIMPSON, D. R.; KAYE, A. M.; GUNN, S.; FELIX, J. C. The relationship of inflammation in the Papanicolaou smear to *Chlamydia trachomatis* infection in high-risk population. **Contraception**, New York, v. 61, p. 231-234, 2000.

PANÚCO, C. A. B.; RODRÍGUEZ, I. D.; MÉNDEZ, J. T. H.; GUZMÁN, L. A. M.; FIERRO, D. A.; MURILLO, J. M.; MALDONADO, E. R. Detection of *Chlamydia trachomatis* in pregnant women by the Papanicolaou technique, enzyme immunoassay and polymerase chain reaction. **Acta Cytologica**, St. Louis, v. 44, n. 2, 114-123, 2000.

PAPANICOLAOU, G. N. The diagnosis of early human pregnancy by the vaginal smear method. **Proceedings of the Society of Experimental Biology Medicine**, [S.I.], v. 22, p. 436-437, 1925.

PAPANICOLAOU, G. N. New cancer diagnosis. **Proceedings of the Third Race Betterment Conference**, New York, 1928.

PAPANICOLAOU, G. N. The sexual cycle in the human female as revealed by vaginal smear. **American Journal of Anatomy**, Philadelphia, v. 52, p. 519-637, 1933.

PAPANICOLAOU, G. N.; TRAUT, H. F. **Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear**. New York: Commonwealth Fund, 1943.

PAPANICOLAOU, G. N.; TRAUT, H. F.; MARCHETTI, A. A. **The epithelia of woman's reproductive organs**. New York: Commonwealth Fund, 1948.

PASSOS, E. P.; FOCCHI, J.; CUNHA FILHO, J. S. L.; BARCELLOS, S.; GOLDIM, J. R.; VESSERMANN, J. Incidência de *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* em mulheres assintomáticas promíscuas e não-promíscuas. **Jornal Brasileiro de Ginecologia**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 1-2, p. 7-9, 1994.

PASSOS, M. R. L. **Doenças sexualmente transmissíveis**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Editora Cultural Médica, 1995.

PASSOS, M. R. L. **Doenças sexualmente transmissíveis, se educar, dá para evitar**. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2001.

PETRIN, D.; DELGATY, K.; BHATT, R.; GARBER, G. Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis*. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 11, n. 2, p. 300-317, 1998.

PILONETTO, M.; PILONETTO, D. V. **Manual de procedimentos laboratoriais em microbiologia**. Curitiba: Microscience, 1998.

PLATZ-CHRISTENSEN, J. J.; LARSSON, P. G.; SUNDSTRÖM, E.; BONDESON, L. Detection of bacterial vaginosis in wet mount, Papanicolaou stained vaginal smears and in Gram stained smears. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**, Denmark, v.74, p. 67-70. 1995.

PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA. **Boletim Epidemiológico de Curitiba, setembro a dezembro de 2000**. Disponível em: <http://www.curitiba.pr.gov.br/bolepidem> acesso em: 28 de abril de 2002.

QUINN, T. C.; GUPTA, P. K.; BURKMAN, R. T.; KAPPUS, E. W.; BARBACCI, M.; SPENCE, M. R. Detection of *Chlamydia trachomatis* cervical infection: a comparasion of papanicolaou and immunofluorescent staining with cell culture. **American Journal og Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 157, n. 2, p. 394-399, 1987.

RADDI, M. S.; VIDAL, A. F. L.; MARTINS, M. C. D.; LORENCETTI, N. C. Métodos para o diagnóstico das vaginites. **Folha Médica**, Rio de Janeiro, v.101, n. 4, p.243-247, 1990 .

RADDI, M. S.; VIDAL, A. F. L.; LORENCETTI, N. C.; SANTANA, D. M. Avaliação do exame bacterioscópico do material cervical em pacientes portadoras de *Chlamydia trachomatis*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 54-56, 1992.

RADDI, M. S.; MARTINS, M. C. D.; SANTANA, D. M.; MACHADO, R. D. Etiologia das infecções cérvico-vaginais em pacientes com indicação clínica. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 1, p. 17-22, 1993.

RADDI, M. S.; SOARES, C. P.; BELLODI, E. E.; MARTINS, M. C. D.; LORENCETTI, N. C. Comparação do Papanicolaou e cultura em células para o diagnóstico de infecções cervicais causadas por *Chlamydia trachomatis*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 117-121, 1994.

RANTALA, I; KIVINEN, S. Demonstration of *Chlamydia trachomatis* in Papanicolaou stained gynecological smears. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Wiesbaden, v. 17, p. 46-48, 1998.

REESE, R. E.; BETTS, R. F. **A practical approach to infectious diseases**. Boston: Little, Brown and Company, 1991.

SANTOS, D. R.; ANDRÉA FILHO, A.; SHIRATA, N. K.; LONGATTO FILHO, A.; MAEDA, M. Y. S.; CAVALIERI, M. J.; SHIH, L. W. S.; OYAFUSO, M. S. *Gardnerella vaginalis*: estudo morfológico em esfregaço a fresco e pelo método de Papanicolaou e sua correlação clínica. **Jornal Brasileiro de Ginecologia**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 4, p. 105-108, 1989.

SANTOS, D. R.; LONGATTO FILHO, A.; MAEDA, M. Y. S.; OYAFUSO, M. S.; SHIH, L. W. S.; CAVALIÉRI, M. J.; MARZIONA, F.; CARVALHO, M. I. *Chlamydia trachomatis* em esfregaços de colo uterino irradiado: aspectos citológicos e imunocitoquímicos. **Revista Paulista de Medicina**, São Paulo, v. 107, n. 4,5,6, p. 229-232, 1989.

SARDANA, S.; SODHANI, P.; AGARWAL, S. S.; SEHGAL, A.; ROY, M.; SINGH, V.; BHATNAGAR, P.; MURTHY, N. S. Epidemiologic analysis of *Trichomonas vaginalis* infection in inflammatory smears. **Acta Cytologica**, St. Louis, v. 38, n. 5, p. 693-697, 1994.

SCHACHTER, J.; HOOK III, E. W.; McCORMACK, W. M.; QUINN, T. C.; CHERNESKY, M.; CHONG, S.; GIRDNER, J. I.; DIXON, P.; DeMEO, L.; WILLIAMS, E.; CULLEN, A.; LORINCZ, A. Ability of the Digene Hybrid Capture II test to identify *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in cervical specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 37, n. 11, p. 3668-3671, 1999.

SCHNADIG, V. J.; DAVIE, K. D.; SHAFER, S. K.; YANDELL, R. B.; ISLAM, M. Z.; HANNIGAN, E. V. The cytologist and bacteriosis of the vaginal-ectocervical area. **Acta Cytologica**, St. Louis, v. 33, n. 3, p. 287-297, 1989.

SELLORS, J. W.; MAHONY, J. B.; KACZOROWSKI, J.; LYTWYN, A.; BANGURA, H.; CHONG, S.; LORINCZ, A.; DALBY, D. M.; JANJUSEVIC, V.; KELLER, J. L. Prevalence and predictors of human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, v. 163, n. 5, 2000.

SOARES, C. P. Papilomavírus Humano (HPV) – Um estudo de revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v. 20, n. 1, p. 11-34, 1999.

SPIEGEL, C. A.; AMSEL, R.; ESCHENBACH D. A.; SCHOENKNECHT, F.; HOLMES, K. K. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. **Journal of clinical Microbiology**, Washington, v. 18, p. 170-177, 1983.

STINGHEN, A. E. M.; NASCIMENTO, A. J.; FELIPE, L. M.; LEONART, M. S. S. Revisão Rápida entre observadores para detecção de casos falso negativos em citologia cérvico-vaginal. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE CITOLOGIA CLÍNICA, 2001, Goiânia. **Relação de trabalhos**. SBCC: Goiânia, 2001. p. 2.

TAFURI, W. L.; RASO, P. Ocorrência de *Trichomonas vaginalis* em 100.000 exames citopatológicos cérvico-vaginais diagnosticados entre os anos de 1984 a 1989, em Belo Horizonte, Minas Gerais. **Jornal Brasileiro de Ginecologia**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 11-12, 1991.

TAKAC, I. The frequency of bacterial and yeast infection in women with different grades of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, Shannon, v. 80, p. 231-234, 1998.

TEIXEIRA, C. V.; MORAIS, M. G. F.; REMÍGIO NETO, J.; SILVA, J. D. MORAIS, V. L. S. A. Fixação de padrões de flora do trato cérvico-vaginal. Contestação ao uso da classificação de Döderlein e modificações de Bozzini, 1993 e Linhares *et al.*, 1995. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. 47-51, 1999.

TOMIOKA, E. S.; SOUZA, A. Z.; IWAKURA, M. M.; ZITRON, L. R.; DANIEL, M. M.; ROCHA, A. P. R.; GONÇALVES, J. B.; NISHIMURA, C. L. Agentes sexualmente transmitidos em ginecologia: incidência e importância. **Jornal Brasileiro de Ginecologia**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 4, p. 183-187, 1987.

VAN DER SCHEE, C.; BELKUM, V.; ZWIJGERS, L.; BRUGGE, E.; O'NEILL, E. L.; LUIJENDIJK, A. D.; RIJSOORT-VOS, T.; MEIJDEN, W. I.; VERBRUGH, H.; SLUITERS, H. J. F. Improved diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR using vaginal swabs and urine specimens compared to diagnosis by wet mount microscopy, culture and fluorescent staining. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 37, n. 12, p. 4127-4130, 1999.

VAN DYCK, E.; MEHEUS, A. Z.; PIOT, P. **Diagnóstico de laboratório de las enfermedades de transmisión sexual**. Genebra: Organización Mundial de la Salud, 2000.

VELA, C.; MENDOZA N.; OTIMIANO, L. Cytologic diagnosis of *Chlamydia* in cervicovaginal secretions. **Acta Cytologica**, St. Louis, v. 42, n. 4, p. 954-958, 1998.

VELASQUEZ, C. T.; ROJAS, N. M. **Diagnóstico citológico y Gram de la vaginosis bacteriana**. Revista Médica IPSS, Lima, v. 4, n. 1, p. 53-58, 1995.

VERONESI, R. **Hepatitis virais**. São Paulo: Editora Atheneu, 1998.

VILAR, M. L. L.; SANTOS, M. A.; MACIEL, G. M. F. L.; MEIRELES, T. E. F.; SANTIAGO, L. H.; CABRAL, M. E. F. Levantamento epidemiológico das DST no serviço de dermatologia do Hospital Universitário Prof. Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 4, p. 359-365, 1988.

ZHANG, Z. F.; GRAHAM, S.; YU, S. Z.; MARCHALL, J.; ZIELEZNY; M.; CHEN, Y. X.; SUN, M.; TANG, S. L.; LIAO, C. S.; XU, J. L.; YANG, X. Z. *Trichomonas vaginalis* and cervical cancer. A prospective study in China. **American Journal of Epidemiology**, Cary, v.5, n.4, p.325-332, 1995.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Sexually transmitted diseases**. Disponível em: < [http:// www.who.int/health-topics/std.htm](http://www.who.int/health-topics/std.htm)> Acesso em: 23 abril 2002.

WOODS, G. L.; WALKER, D. H. Detection of Infection or infectious agents by use of cytologic and histologic stains. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 9, n. 3, p. 382-404, 1996.

WRIGHT, R. G.; HALFORD, J. A.; DITCHMEN, E. J. Detection of false-negative Papanicolaou smears by rapid rescreening in a large routine cervical cytology laboratory. **Pathology**, Sydney, v. 31, p. 379-381, 1999.

YLITALO, N.; BERGSTRÖM, T.; GYLLENSTEN, U. Detection of genital human papillomavirus by single-tube nested PCR and type-specific oligonucleotide hybridization. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 33, n. 7, p. 1822-1828, 1995.

## **9. ANEXOS**

## 9. ANEXOS

ANEXO I - TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO.....	86
ANEXO II - CARTA DA COMITÊ DE ÉTICA .....	87
ANEXO III - QUESTIONÁRIO RESPONDIDO PELAS PACIENTES.....	88

### 3.5. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

a) O objetivo desta pesquisa é:

1. Investigar a relevância da Citologia Cérvico-vaginal pelo método de Papanicolaou para pesquisa de algumas doenças sexualmente transmissíveis (de transmissão essencialmente através da relação sexual e frequentemente de transmissão sexual) incluindo infecções por: *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida spp*, *Trichomonas vaginalis*, Papilomavírus humano

2. Contribuir para um estudo epidemiológico das principais DST que acometem a população em questão

b) Caso você participe da pesquisa, será necessário fazer exames, onde serão coletados materiais no momento de seu exame preventivo de câncer, para diagnóstico de tais doenças citadas acima.

c) Como em qualquer tratamento você poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados a coleta de secreção vaginal e endocervical, como um pequeno incomodo na utilização de espéculo para coleta.

d) Se houver necessidade de tratamento os possíveis riscos serão avaliados pelo seu médico

e) Contudo os benefícios esperados são: o diagnóstico correto de alguma possível doença sexualmente transmissível.

f) Os médicos ( nome e telefone ) poderão ser contatados (local, hora), são os responsáveis pelo seu tratamento e farão o acompanhamento conforme consta no padrão ético Vigente no Brasil.

g) Está garantido todas as informações que você queira, antes durante e depois do estudo.

h) A sua participação neste estudo é voluntária. Você tem a liberdade de recusar participar do estudo, ou se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado.

i) As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos profissionais que executam a pesquisa e pelas autoridades legais. No entanto , se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.

j) Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa ( como exames, etc...) não são de responsabilidade do paciente.

k) Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro.

l) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá meu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico. Eu entendi que qualquer problema relacionado ao tratamento será tratado sem custos para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

\_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_  
Data Assinatura do paciente \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Nome do pesquisador \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Curitiba, 28 de junho de 2.001.

Ilmo (a) (s) Sr. (a)( s)  
**ANDREA EMILIA MARQUES STINGHEN**  
Nesta

Prezado(a) Senhor(a):

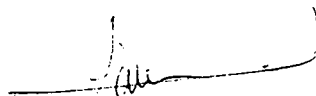
Comunicamos que o Projeto de pesquisa “RELEVÂNCIA DA CITOLOGIA CÉRVICO-VAGINAL PELO MÉTODO DE PAPANICOLAU PARA O DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS ( DST)”, está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução nº 196/96 do Ministério da Saúde.

**Protocolo CEP-HC nº 024 EXT.006/2001-03**

O referido projeto foi apresentado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, em reunião realizada no dia 27 de março de 2.001.

Sendo o que se apresenta para o momento, subscrevo-me,

Atenciosamente



**Prof. Dr. Renato Tambara Filho**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em  
Seres Humanos do Hospital de Clínicas – UFPR

2ª via

**QUESTIONÁRIO PARA SER RESPONDIDO PELA PACIENTE NO MOMENTO DA COLETA:**DATA DA  
COLETA: \_\_\_\_\_

NOME: \_\_\_\_\_

IDADE: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE  
FILHOS: \_\_\_\_\_DATA DA ÚLTIMA  
MENSTRUACÃO: \_\_\_\_\_DATA APROXIMADA DO ÚLTIMO EXAME DE  
PAPANICOLAOU: \_\_\_\_\_

ESTÁ FAZENDO USO DE ALGUMA MEDICAÇÃO ? \_\_\_\_\_

QUAL ? \_\_\_\_\_

JÁ TEVE ALGUMA DOENÇA SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEL ? \_\_\_\_\_

QUAL ? \_\_\_\_\_

**ANOTAÇÕES A SEREM FEITAS PELO COLETADOR(A):**

CORRIMENTO:

 sim não

COR DO CORRIMENTO:

 branco amarelado esverdeado incolor outro \_\_\_\_\_OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

NOME DO COLETADOR: \_\_\_\_\_