EMILIA MOREIRA JALIL

**Prevalência da infecção pelo Papilomavírus
Humano (HPV) em gestantes infectadas ou não pelo
Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) tipo 1
em Ribeirão Preto, SP**

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

Área de concentração: Tocoginecologia

Orientador: Profa. Dra. Silvana Maria Quintana

**Ribeirão Preto
2007**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Jalil, Emilia Moreira

Prevalência da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em gestantes infectadas ou não pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) tipo 1 em Ribeirão Preto, SP. Ribeirão Preto, 2007.

117 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Tocoginecologia.

Orientador: Quintana, Silvana Maria.

1. Papilomavírus Humano. 2. HIV. 3. Gravidez. 4. Prevalência.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Emilia Moreira Jalil

Prevalência da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em gestantes infectadas ou não pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) tipo 1 em Ribeirão Preto, SP.

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

Área de Concentração: Tocoginecologia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

A meu pai,
mesmo distante das suas meninas,
por estar presente em cada projeto meu
e na vontade de construir um mundo melhor.

A minha mãe,
mãe-coragem, mão que afaga,
por seu acalanto suave,
seu companheirismo único.

A eles,
por me ensinarem o que
há de mais belo na vida:
o amor.

AGRADECIMENTOS

A meu pai, por ter sido um exemplo de médico e de ser humano, por sua sensibilidade e amor tão caros a mim;

A minha mãe, por seu incentivo constante, seu esforço materno incansável e seu amor incondicional;

A minha irmã Helena, por seu companheirismo, sua coragem de ferro e seu coração de algodão;

A minha irmã Cristina, por sua doçura, sabendo ouvir e aconselhar em pleno desabrochar;

A Tiago, por tornar minha vida mais rica e por saber, *compañero*, que posso contar contigo;

À Prof^a. Dr^a. Silvana Maria Quintana, por ter visto um potencial "naquela estagiária da Bahia", dando-me a oportunidade de ampliar meus horizontes através do mestrado. Agradeço pela compreensão e companheirismo de sempre e pela convivência com uma orientadora tão despretensiosamente alegre.

Ao Prof. Dr. Geraldo Duarte, por sua dedicação ao ensino, por se revelar um mestre no sentido amplo da palavra. Agradeço pelo incentivo desde o primeiro contato e pela oportunidade de integrar um serviço de excelência;

À Prof^a. Dr^a. Sophie Françoise Mauricette Derchain, pela honra de compor a banca de minha defesa e contribuir de maneira significativa para este trabalho;

Ao Prof. Annibal Muniz Silvany Neto, por sua integridade admirável, sua disponibilidade e cooperação essenciais para a análise estatística desse trabalho;

À Prof^a. Dr^a. Aparecida Yulie Yamamoto, por sua colaboração para a realização e interpretação das técnicas laboratoriais;

Ao Prof. Dr. Eduardo Antônio Donadi, por ter concedido o laboratório de Imunologia Molecular para a realização das técnicas de biologia molecular;

À querida Karina Adami, por me apresentar à FMRP e acreditar, antes mesmo que eu, em minha capacidade de realizar este mestrado;

À amiga Milena Bastos, por ter se tornado minha família em Ribeirão Preto, por estar ao meu lado nos piores e melhores momentos dessa jornada;

Ao amigo Mateus Viana, que primeiro me recebeu em Ribeirão Preto, por seu amor fraternal;

A minha família, por tornarem minha vida mais alegre, pelo apoio e torcida;

A Renata Simões, por sua amizade e disponibilidade para me transformar de leiga a conhecedora dos assuntos da biologia molecular;

A Mariana Machado, por ter aberto para mim as portas da técnica de PCR, por sua amizade e companheirismo em idas e vindas do laboratório;

A Patrícia Melli, por sua maneira atenciosa e humana, admirável nos dias em que vivemos;

A Taísa Abade e Ilza Mazzocato, por mil favores que fiquei devendo e não tenho como pagar;

Ao Prof. Dr. Carlos Augusto Santos de Menezes, que me encantou com seus ensinamentos da Obstetrícia e me inspirou a seguir esta especialidade. Agradeço o cuidado paternal com que sempre me tratou;

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Vieira Lopes, por ter trazido ao mundo esta jovem infanta, por seu incentivo e carinho de sempre;

A Fabiana Fázio, por seu apoio imprescindível nos ambulatórios;

A Carolina Salles e Elaine Moisés, por partilharem comigo seu conhecimento e terem ajudado sempre através do apoio e da palavra amiga;

Aos funcionários do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da FMRP-USP, em especial a Maria Albina Bortolheiro, Reinaldo Tavares, Ricardo Silva e Rosane Casula, que sempre estiveram dispostos a me ajudar no que fosse preciso;

À Sra. Elettra Greene, pela ajuda e eficiência nas traduções deste trabalho;

A todos os professores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da FMRP-USP, pela maneira educada e gentil com a qual me receberam;

A Aline Riella, Ana Flávia, Ana Paula, Ana Amélia Matos, Carolina Moraes, Daniella Campos, Daniela Lopes, Elineusa Oliveira, Felipe Ventim, Igor Campos, Lediane Moura, Lívia Pugliese, Luciana Braga, Juliana Mello, Marcela Brandão,

Taís Araújo, Taís Cunha, à família Hamad, que se mantiveram amigos mesmo à distância;

A Elisa Ferreira, Patrícia Lizarelli, Jardel Caetano, Tazio Vanni, Charles Marques, Daniela Barra, Francisco Gallarreta, Bruno Ramalho, Ionara Barcellos, Márcia Neves, Rodolpho Vieira, companheiros e amigos da pós-graduação;

Aos colegas do Laboratório de Imunologia Molecular, Neifi, Erick, Gustavo, Isabela, Marcos, Sandra, Janaína, por todo apoio e companhia;

A Maria do Carmo e Ana, do laboratório de genética bioquímica, pela ajuda no processo de extração do DNA;

Àqueles que me apoiaram em minha residência e minha vinda para Ribeirão Preto: Antônio Carlos Travessa, Bruno Matias, Cláudia Smith, Delcina, Lílian Medeiros, Manoel Sarno, Nilma Neves, Paula Matos, Paulo Gomes, Rone Peterson, Tayse Rodrigues;

Às gestantes, para quem dei muito pouco diante do que recebi. Agradeço a confiança, o compartilhar de um momento tão significativo e, particularmente, a oportunidade de romper com idéias pré-concebidas que tanto permeiam a infecção pelo HIV;

A Deus, pois devo a Ele cada passo que dei e a ajuda recebida em todos os passos do caminho.

“Tende piedade da mulher no primeiro coito
Onde se cria a primeira alegria da Criação
E onde se consuma a tragédia dos anjos
E onde a morte encontra a vida em
desintegração.

Tende piedade da mulher no instante do
parto
Onde ela é como a água explodindo em
convulsão
Onde ela é como a terra vomitando cólera
Onde ela é como a lua parindo desilusão.
(...)

Tende piedade, Senhor, que dentro delas
A vida fere mais fundo e mais fecundo
E o sexo está nelas, e o mundo está nelas
E a loucura reside nesse mundo.”
Vinícius de Moraes

Resumo

RESUMO

JALIL, E. M. **Prevalência da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) em gestantes infectadas ou não pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) tipo 1 em Ribeirão Preto, SP.** 2007. 117 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

A infecção genital pelo Papilomavírus Humano (HPV) é considerada a doença sexualmente transmissível mais freqüente em todo o mundo, representando importante problema de saúde pública devido à sua alta prevalência e transmissibilidade. Estima-se que cerca de 75% da população sexualmente ativa entre em contato com um ou mais tipos de HPV durante sua vida, com prevalência mais elevada entre mulheres jovens. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) está associada a elevadas prevalências da infecção pelo HPV. A literatura acerca da infecção pelo HPV em gestantes é escassa e controversa. O objetivo do trabalho foi identificar a prevalência da infecção pelo HPV em gestantes e identificar a possível influência da infecção pelo HIV-1 nesta prevalência. Foi realizada amostragem de pacientes do Ambulatório de Pré-natal do Setor de Moléstias Infecto-contagiosas e do Pré-natal de Baixo Risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Todas as pacientes foram informadas sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram coletados lavados cérvico-vaginais, que foram submetidos à extração do DNA utilizando a técnica de *salting out*. Realizou-se a detecção do HPV nas amostras de DNA através da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR), e as amostras positivas para o HPV foram testadas para os tipos 6, 11, 16 e 18. Foram arroladas ao todo 97 pacientes, sendo 44 portadoras do HIV e 53 sem esta infecção. Do total de pacientes avaliadas, 66 foram positivas para o HPV. A prevalência para a infecção pelo HPV foi de 79,5% e 58,5% nas pacientes portadoras ou não do HIV, respectivamente. A infecção pelo HIV aumentou o risco de ser portadora do HPV, principalmente do tipo oncogênico. Contagem de linfócitos T CD₄⁺ abaixo de 200 células/mm³ e carga viral do HIV maior que 10000 cópias aumentaram o risco de infecção pelo HPV. Este estudo mostrou haver maior prevalência da infecção pelo HPV em grávidas portadoras do HIV, permitindo inferir que a infecção por esse retrovírus seja um fator de risco significativo para o aumento da infecção pelo HPV em gestantes.

Palavras-chaves: Papilomavírus Humano; HIV; Gravidez; Prevalência.

Abstract

ABSTRACT

JALIL, E. M. **Prevalence of human papillomavirus (HPV) infection among pregnant women infected or not with human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in Ribeirão Preto, SP.** 2007.117 f. Master's thesis – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

Genital infection with human papillomavirus (HPV) is considered to be the most frequent sexually transmitted disease around the world, representing an important public health problem due to its high prevalence and transmissibility. It is estimated that 75% of the sexually active population gets in contact with one or more HPV types during their lives, with higher prevalence among younger women. Epidemiologic studies have demonstrated that human immunodeficiency virus (HIV) infection is associated with a high prevalence of HPV infection. The literature about HPV infection during pregnancy is scarce and controversial. The aim of this study was to estimate the prevalence of HPV infection in pregnant women and identify the possible influence of HIV-1 infection on this prevalence. Patients were selected from the Prenatal Outpatient Clinic of the Infectious Diseases Sector and from the Low-risk Prenatal Outpatient Clinic of the Obstetrics and Gynecology Department of the University Hospital, Medical School of Ribeirão Preto, São Paulo University. All patients were informed about the study and signed an informed consent term. Cervical-vaginal washes were collected and submitted to DNA extraction by the salting-out technique. HPV was detected in the DNA samples by the polymerase chain reaction (PCR) technique and the HPV-positive samples were tested for types 6, 11, 16 and 18. Ninety-seven patients were included in the study, 44 of them being HIV-positive and 53 HIV-negative. Of the patients evaluated, 66 were positive for HPV. The prevalence of HPV infection was 79.5% and 58.5% in HIV-positive and -negative women, respectively. HIV infection increased the risk of harboring HPV, mainly oncogenic types. A CD₄⁺ T-cell count below 200 cells/mm³ and HIV viral load above 10000 copies/mL increased the risk of HPV infection. This study showed a higher prevalence of HPV infection in HIV-positive pregnant women, suggesting that this retrovirus infection is a significant risk factor for the increase of HPV infection in pregnant women.

Key-words: Human papillomavirus; HIV; Pregnancy; Prevalence.

Lista de Quadros

Quadro 1:	Seqüências dos iniciadores utilizados para detecção e tipificação do HPV através da técnica de PCR.....	50
Quadro 2:	Condições da reação para detecção do HPV, utilizando os iniciadores consensuais GP5+/6+.	51
Quadro 3:	Condições da reação utilizada para detecção do HPV 16.....	51
Quadro 4:	Condições da reação utilizada para detecção do HPV 18.....	52
Quadro 5:	Condições da reação utilizada para detecção do HPV 6.....	52
Quadro 6:	Condições da reação utilizada para a detecção do HPV 11.....	53

Lista de Gráficos

Gráfico 1:	Distribuição das freqüências relativas das categorias de idade de acordo com o status sorológico para o HIV.	59
Gráfico 2:	Distribuição estratificada das freqüências relativas dos níveis de linfócitos T CD ₄ ⁺ (células/mm ³).	63
Gráfico 3:	Distribuição estratificada das freqüências relativas dos níveis de carga viral do HIV (cópias/ml).....	63
Gráfico 4:	Prevalência estimada da infecção pelo HPV e por seus tipos oncogênico ou não, de acordo com o status sorológico para o HIV.	65
Gráfico 5:	Distribuição das freqüências relativas dos tipos de HPV, de acordo com o status sorológico para o HIV.	66
Gráfico 6:	Distribuição das freqüências relativas dos tipos de infecção pelo HPV (única x múltipla), de acordo com o status para o HIV.	67
Gráfico 7:	Análise do nível de células T CD ₄ ⁺ (células/mm ³) de acordo com a positividade para o HPV.	68
Gráfico 8:	Distribuição proporcional da positividade para o HPV de acordo com o nível de células T CD ₄ ⁺ (células/mm ³).	68
Gráfico 9:	Distribuição proporcional da positividade para o HPV de acordo com o nível de carga viral do HIV (cópias/ml).	69

Lista de Tabelas

Tabela 1:	Distribuição das características ginecológicas e obstétricas de acordo com o status sorológico para o HIV.	60
Tabela 2:	Distribuição das características demográficas e comportamentais de acordo com o status sorológico para o HIV.....	61
Tabela 3:	Distribuição dos achados colposcópicos realizados nas gestantes portadoras do HIV.	64
Tabela 4:	Distribuição da positividade para o HPV e seus subtipos de acordo com o status sorológico para o HIV.	66
Tabela 5:	Frequência da positividade para o HPV estratificada para nível de células T CD ₄ ⁺ e carga viral do HIV.....	69
Tabela 6:	Análise das razões de prevalência para a infecção pelo HPV, brutas e ajustadas para a infecção pelo HIV, de acordo com as variáveis tocoginecológicas na população amostral.	70
Tabela 7:	Análise das razões de prevalência para a infecção pelo HPV, brutas e ajustadas para a infecção pelo HIV, de acordo com as variáveis demográficas e comportamentais na população amostral.	72
Tabela 8:	Análise estratificada univariada da RP da infecção pelo HIV para positividade do HPV.	73

Lista de Abreviaturas

3TC	Lamivudina
ACO	Anticoncepcionais orais
Aids	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ARV	Anti-retroviral
ASCUS	Alterações citológicas escamosas de origem indeterminada
AZT	Zidovudina
bp	Pares de bases
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CH	Captura Híbrida
CV	Carga viral
DST	Doença sexualmente transmissível
DUM	Data da última menstruação
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	Papilomavírus Humano
HPV-DNA	Material genético do HPV
HR-HPV	HPV de alto risco oncogênico
IC	Intervalo de confiança
IG	Idade gestacional
JEC	Junção escamocolunar
LIE	Lesão intra-epitelial
LIEAG	Lesão intra-epitelial de alto grau
LIEBG	Lesão intra-epitelial de baixo grau
LR-HPV	HPV de baixo risco oncogênico
NFV	Nelfinavir
PCR	Reação em cadeia de polimerase
PL	Papilomatose de laringe
RN	Recém-nascido
RP	Razão de prevalência
TARV-AA	Terapia anti-retroviral altamente ativa
TV	Transmissão vertical
USG	Ultrassonografia
VB	Vaginose bacteriana
ZT	Zona de Transformação

Sumário

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

1 INTRODUÇÃO.....	25
1.1 O Papilomavírus Humano	25
1.2 Tipos de infecção pelo HPV	27
1.3 Epidemiologia da infecção pelo HPV	29
1.4 Fatores de risco para a infecção pelo HPV	32
1.5 A infecção pelo HPV em mulheres portadoras do HIV	34
1.6 Infecção pelo HPV durante a gestação	36
 2 OBJETIVOS.....	 42
2.1 Objetivos primários	42
2.2 Objetivo secundário	42
 3 PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS.....	 44
3.1 Aspectos éticos	44
3.2 Casuística	44
3.3 Obtenção do material.....	46
3.4 Extração do DNA	48
3.5 Técnica de reação em cadeia da polimerase.....	48
3.6 Análise dos produtos amplificados.....	53
3.7 Coloração com nitrato de prata	54
3.7.1 Fixação e impregnação com nitrato de prata	54

3.7.2 Revelação	55
3.7.3 Fixação final	55
3.8 Interpretação dos resultados	55
3.9 Análise estatística	56
4 RESULTADOS	59
4.1 Caracterização da amostra	59
4.2 Análise simples dos resultados	64
4.3 Cálculo das razões de prevalência	70
4.4 Análise estratificada dos resultados	72
5 DISCUSSÃO	75
6 CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS	102
Anexo A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	102
Anexo B – Termo de consentimento livre e esclarecido	103
Anexo C – Protocolo de pesquisa para coleta de dados clínicos	107
Anexo D – Protocolo assistencial do SEMIGO para o acompanhamento pré-natal de gestantes portadoras do HIV	111
Anexo E – Classificação citológica de Bethesda	112
Anexo F – Terminologia internacional de colposcopia	113
Anexo G – Composição dos reagentes	114
Anexo H – Interpretação dos resultados nos géis de poliacrilamida	115
Anexo I – Caracterização da população amostral	116
Anexo J – Frequências dos tipos de profilaxia antenatal utilizados para as gestantes portadoras do HIV	117

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 O Papilomavírus Humano

O Papilomavírus Humano (HPV), pertencente à família *Papillomaviridae*, é composto por dupla fita de DNA de conformação circular, com cerca de oito mil pares de bases, envolto por um capsídeo icosaédrico de 72 capsômeros. O genoma viral codifica duas proteínas (L1 e L2) que compõem o envoltório viral e seis (E1, E2, E4-E7) que são responsáveis pela replicação viral e formação de novas partículas virais (Figura 1). O genoma do HPV contém ainda uma região não-codificadora (LCR – *Long Control Region*), responsável pela regulação do ciclo de replicação viral (DOORBAR, 2005; SCHEURER; TORTOLERO-LUNA; ADLER-STORTHZ, 2005).

**Figura 1 – Representação esquemática do genoma do HPV
(modificado de MERCK & CO, 2006).**

Os HPVs são patógenos intra-epiteliais, cujo ciclo de replicação está intrinsecamente associado à diferenciação celular do epitélio. A infecção ocorre por meio da penetração do vírus no tecido através de microtraumas e seus alvos iniciais são as células basais e metaplásicas. No citoplasma celular, o genoma viral liberado se dirige ao núcleo, onde é mantido sob a forma circular, chamada episomal ou não integrada (DOORBAR, 2005). A expressão das proteínas virais ocorre de maneira diferenciada nas diversas camadas do epitélio, associada ao processo de maturação da célula escamosa. Nas camadas superficiais, há expressão das proteínas do capsídeo e produção de novas partículas virais, as quais são eliminadas no ambiente com a descamação celular (SCHEURER; TORTOLERO-LUNA; ADLER-STORTHZ, 2005).

Os papilomavírus são divididos em tipos, que diferem entre si em pelo menos 10% da sequência gênica da proteína maior do capsídeo viral, L1. Os subtipos virais são aqueles em que há diferença entre 2 a 10% da sequência gênica de um tipo viral conhecido. Atualmente, já foram identificados mais de 100 tipos virais, dos quais aproximadamente 40 acometem o trato genital (DE VILLIERS et al., 2004).

Existe especificidade quanto ao tropismo tecidual dentre os HPVs, que podem acometer preferencialmente pele (cutaneotróficos) ou mucosas (mucosatrópicos). De acordo com sua associação com o câncer cervical, são classificados como de baixo (*Low risk*, LR-HPV) ou de alto risco oncogênico (*High risk*, HR-HPV). Segundo Trottier e Franco (2006), os LR-HPVs, como os tipos 6 e 11, freqüentemente estão presentes em lesões condilomatosas, na papilomatose laríngea recorrente e em parte das lesões intra-epiteliais cervicais de baixo grau

(LIEBG). Os HR-HPVs foram identificados em mais de 80% das lesões intra-epiteliais de alto grau (LIEAG) e em 99% dos casos de câncer de colo uterino (SCHIFFMAN et al., 1993; WALBOOMERS et al., 1999). Os HPVs 16 e 18 estão associados, aproximadamente, a 50% das LIEAG e a 70% dos casos de carcinoma escamocelular cervical (CLIFFORD et al., 2003).

Segundo dados da literatura, a co-infecção com múltiplos tipos de HPV é um achado freqüente, principalmente em populações com maior risco para esse vírus. Em uma coorte brasileira, mais de dois tipos do vírus foram encontrados em 20% das mulheres (ROUSSEAU et al., 2001). Em mulheres com citologia normal, a infecção por apenas um tipo viral é duas a oito vezes mais comum do que a infecção múltipla (CLIFFORD et al., 2005). A infecção múltipla por HPV foi associada à persistência viral por alguns autores (HO et al., 1998; WOODMAN et al., 2001), entretanto a interferência de vários tipos virais na duração da infecção, na progressão da lesão e no risco de câncer cervical ainda não está clara (MOSCICKI et al., 2006).

1.2 Tipos da infecção pelo HPV

A infecção pelo HPV pode ser clínica, subclínica ou latente. As verrugas genitais constituem a infecção clínica, caracterizando-se por lesões exofíticas, de aspecto papilar, com base única, uni ou multifocal. Nas mulheres, localizam-se principalmente no intróito vaginal, grandes e pequenos lábios, períneo e clitóris (FERENCZY, 1995). Também podem se manifestar na vagina, cérvix e região peri-anal. Caracterizam-se por sua elevada transmissibilidade e recorrência comum. O exame ginecológico costuma ser suficiente para formular a hipótese

diagnóstica. Os HPVs 6 e 11 estão associados a mais de 90% dessas lesões (GREER et al., 1995). Segundo Koutsky et al. (1997), estima-se que 1% da população sexualmente ativa apresente condilomas acuminados.

A infecção subclínica pelo HPV pode ser diagnosticada apenas com uso de exames complementares. Os métodos diagnósticos empregados para detecção deste tipo de infecção são colpocitologia, colposcopia e exame anátomo-patológico.

A colpocitologia é o exame utilizado para rastreamento das lesões subclínicas, com diversos tipos de classificação. O Sistema de Bethesda vem sendo empregado desde 1998 para classificação citológica das lesões intra-epiteliais cervicais - LIE (SOLOMON et al., 2002). Nos casos com alteração citológica, há indicação de complementar com a colposcopia.

Durante o exame colposcópico, as lesões subclínicas tornam-se visíveis após aplicação de ácido acético a 3%, fenômeno chamado de acetorreação (MELLO, 2005). A classificação colposcópica atual foi estabelecida durante o 11º Congresso Internacional de Barcelona, em 2002 (WALKER et al., 2003). Essa forma de infecção, encontrada em aproximadamente 4% da população sexualmente ativa, pode sofrer processo de malignização e evoluir para o câncer cervical dependendo de fatores virais e do hospedeiro (KOUTSKY et al., 1997).

O diagnóstico de infecção pelo HPV realizado por exames clínico, citológico ou colposcópico pode detectar apenas 5% dos 14 milhões de pessoas infectadas, já que apenas esse percentual apresenta lesões clínicas e/ou subclínicas (KOUTSKY et al., 1997). A infecção pelo HPV que não apresenta qualquer tipo de lesão é chamada de latente e detectada apenas com uso de técnicas de biologia

molecular. Essa forma de infecção é transitória e apresenta transmissibilidade próxima de zero. Não está associada à progressão para câncer, já que não acarreta transformação celular (DUNNE; MARKOWITZ, 2006).

1.3 Epidemiologia da infecção pelo HPV

A infecção genital pelo HPV é considerada a doença sexualmente transmissível (DST) mais freqüente em todo o mundo, representando problema de saúde pública importante devido à sua alta prevalência e transmissibilidade (TROTIER; FRANCO, 2006). Estima-se que 75% da população sexualmente ativa entre em contato com um ou mais tipos de HPV durante sua vida (KOUTSKY et al., 1997). Habitualmente, a infecção é transitória e auto-limitada. Estudos revelam que até 90% das infecções pelo HPV são eliminadas ou suprimidas a níveis indetectáveis após 12 a 24 meses (HO et al., 1998; FRANCO et al., 1999). Infecções com os HR-HPVs, principalmente o HPV 16, parecem ter duração maior do que aquelas associadas aos LR-HPVs (RICHARDSON et al, 2003).

Apesar das estimativas serem variáveis, é consenso que a incidência da infecção pelo HPV é alta, principalmente após a primeira relação sexual e a cada introdução de parceiro novo. Estudos de coorte, utilizando a técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) para detecção do vírus, demonstraram que até 3% por mês das mulheres previamente negativas tornam-se positivas em um teste subsequente. A incidência dos tipos oncogênicos é habitualmente maior do que dos não-oncogênicos (TROTIER; FRANCO, 2006). Em estudos de coorte, cujas amostras eram formadas por estudantes, a incidência cumulativa ultrapassou 40% em três anos de acompanhamento (HO et al., 1998; WOODMAN et al, 2001;

WINER et al, 2003). Em coorte brasileira, a incidência cumulativa foi de 24% em 18 meses (FRANCO et al., 1999).

As taxas de prevalência da infecção pelo HPV variam a depender do método diagnóstico escolhido e da população de estudo. Estudos baseados no rastreamento através do exame de Papanicolaou revelam taxas de prevalências inferiores a 6% (SYRJÄNEN; SYRJÄNEN, 1990; GHAZAL-ASWAD et al., 2006). Com o advento das técnicas de biologia molecular, foi possível obter estimativas mais fidedignas, já que a maioria da população infectada pelo HPV não apresenta sintomas clínicos ou alterações citológicas. Mesmo dentre essas técnicas, ocorrem variações significativas dos dados a depender do método utilizado. Em população de mulheres assintomáticas, demonstrou-se diferença significativa na taxa de detecção encontrada pelas técnicas de PCR e de dot-blot, respectivamente 46 e 11% (BAUER et al., 1991). Os métodos mais utilizados atualmente para a detecção do material genético do HPV são a PCR e a Captura Híbrida (CH).

Uma metanálise recente avaliou 78 estudos com mulheres apresentando citologia normal e encontrou prevalência global estimada de 10,4% para a infecção pelo HPV (DE SANJOSÉ et al., 2007). Este mesmo estudo indicou que a prevalência é maior nas mulheres mais jovens, nos primeiros anos de atividade sexual, e decresce com o aumento da idade, dado mostrado previamente em outros estudos (SCHIFFMAN, 1992; KJAER et al., 2000). Outro padrão da prevalência da infecção pelo HPV tem sido descrito com um segundo pico em mulheres no climatério (HERRERO et al, 2000; SMITH et al. 2004). As razões

para esse segundo pico e sua variação geográfica não foram ainda estabelecidas. Os dois padrões podem ser vistos na figura 2.

Figura 2 – Prevalência da infecção pelo HPV de acordo com a idade (modificado de BASEMAN; KOUTSKY, 2005).

A prevalência da infecção pelo HPV apresenta heterogeneidade significativa em sua distribuição geográfica. Estudo multicêntrico encontrou prevalências estimadas ajustadas para a idade que variaram de 5% em populações mediterrâneas a mais de 15% em diversos países da América Latina (CLIFFORD et al., 2005).

A literatura brasileira carece de estatísticas nacionais. Estudo transversal com mulheres atendidas em um serviço público de rastreamento para câncer em Porto Alegre (RS) detectou o material genético do HPV (HPV-DNA) em 27% das amostras (NONNENMACHER et al., 2002). Por sua vez, Oliveira et al. (2006) identificaram positividade para o HPV em 58% das mulheres encaminhadas para exame de rotina em serviço privado do Rio de Janeiro, RJ. Em estudo realizado na

população rural do Nordeste brasileiro, a prevalência de HPV foi de 26% (DE LIMA SOARES et al., 2003). Em uma amostra de mulheres de uma instituição carcerária de São Paulo, a detecção do HPV através da CH foi de 16,3% para os HR-HPV e de 4,8% para os LR-HPV (LOPES et al., 2001).

O estudo longitudinal Ludwig-McGill vem sendo realizado a fim de estudar a história natural da infecção pelo HPV e das neoplasias cervicais no Brasil. A amostra desta coorte, que está em andamento, é composta por mulheres de baixa renda, residentes em São Paulo. Neste trabalho, a prevalência inicial para o HPV foi de 14%, sendo o HPV 16 o tipo mais freqüente (FRANCO et al, 1999).

1.4 Fatores de risco para a infecção pelo HPV

Os principais fatores de risco para a infecção pelo HPV estão associados a aspectos do comportamento sexual. Um dos determinantes mais significativos para a aquisição do HPV é o número de parceiros sexuais, tanto durante a vida, quanto recentemente. Houve tendência de associação mais intensa entre número de parceiros sexuais e positividade para o HPV quando se tratava de infecção por múltiplos tipos virais ou por HR-HPVs (HO et al., 1998; WINER et al., 2003; VACCARELLA et al., 2006). A introdução de novos parceiros sexuais está associada a maiores taxas de infecção pelo HPV, inclusive a incidência (BOSCH; QIAO; CASTELLSAGUÉ, 2006).

Rousseau et al. (2000) identificaram aumento no risco para HPV's oncogênicos com a diminuição da idade ao primeiro coito. Estudos mostram relação inversamente proporcional entre idade ao primeiro coito e positividade para o HPV (BOSCH et al., 2006).

Atualmente, o comportamento sexual do parceiro vêm sendo melhor estudado, pois a probabilidade de uma mulher ser portadora do HPV está relacionada à presença do vírus no pênis ou na uretra do seu parceiro (BOSCH et al., 2006). Apesar da circuncisão masculina ser aparentemente protetora para a infecção pelo HPV e o câncer cervical, ainda não estabelecido um consenso, havendo estudos que mostram efeitos benéficos e outros que não demonstram tais resultados (BOSCH; QIAO; CASTELLSAGUÉ, 2006; VAN HOWE, 2007).

Além dos fatores relacionados ao comportamento sexual, o determinante mais consistente da infecção pelo HPV é a idade (TROTTIER; FRANCO, 2006). Como já referido, o padrão da infecção pelo HPV apresenta um pico em mulheres mais jovens, havendo declínio posterior com a idade (DE SANJOSÉ et al., 2007). O fator idade aumentou significativamente o risco para HPV em estudo realizado no Brasil, principalmente para os HR-HPVs (ROUSSEAU et al., 2000).

O tabagismo já foi bem descrito como fator de risco para a carcinogênese cervical, porém sua influência na prevalência e na história natural da infecção pelo HPV não está completamente elucidada. Estudo de caso-controle identificou o hábito de fumar como fator de risco para a infecção por HPV de alto ou baixo risco (ROUSSEAU et al., 2000). Em estudo longitudinal, o tabagismo atual aumentou tanto a prevalência, quanto a incidência da infecção pelo HPV (WATTS et al., 2005).

A relação entre a infecção pelo HPV e o uso de anticoncepcionais orais (ACO) é difícil de ser avaliada devido à associação desses com atividade sexual. A maioria dos estudos apresenta dados controversos (BASEMAN; KOUTSKY, 2005). Em estudo de caso-controle no Brasil, o uso de ACO associou-se

significativamente com maior risco de infecção para HR-HPV, particularmente o HPV 16 (ROUSSEAU et al., 2000).

Apesar da controvérsia ainda existente, os estudos mais recentes têm demonstrado papel protetor do condom para a infecção pelo HPV. O uso mais freqüente do condom esteve associado com eliminação mais rápida do vírus (SHEW et al., 2006). Em estudo longitudinal com mulheres que iniciaram sua vida sexual recentemente, houve associação inversa entre o uso do condom masculino e o risco para infecção pelo HPV. Essa associação foi proporcional ao aumento do uso do preservativo (WINER et al., 2006).

Tem sido investigada a influência de outras afecções genitais na infecção pelo HPV. Segundo Samoff et al. (2005), existe associação entre persistência dos HR-HPVs e infecção pela *Chlamydia trachomatis*, porém não houve associação com infecção por *Trichomonas vaginalis* e *Neisseria gonorrhoea* ou vaginose bacteriana (VB). Em outro estudo, a VB associou-se a maior risco de infecção pelo HPV, inclusive em pacientes portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV) tipo 1 (WATTS et al., 2005).

1.5 A Infecção pelo HPV em mulheres portadoras do HIV

O CDC (*Center for Diseases Control and Prevention*, 1992) considera as lesões precursoras do câncer de colo na classificação da infecção pelo HIV desde 1993. A mulher portadora de HIV com diagnóstico de LIE de alto ou baixo grau é incluída na fase B da infecção (sintomática precoce), ao passo que aquelas com carcinoma invasor de colo uterino são classificadas como portadoras de Aids.

A presença de altas prevalências da infecção pelo HPV em mulheres portadoras do HIV já foi largamente documentada na literatura, com estimativas que variaram de 56% (SUN et al., 1997) a 98% (LEVI et al., 2002). Evidências recentes sugerem que metade das infecções por HPV em mulheres soropositivas foi adquirida sexualmente em um período recente, enquanto a outra metade representa reativação de infecções previamente adquiridas (STRICKLER et al., 2005).

Dois grandes estudos de coorte identificaram taxas maiores de prevalência da infecção pelo HPV nas mulheres positivas para o HIV do que nas negativas. Tanto os tipos oncogênicos, quanto os não oncogênicos foram significativamente mais comuns entre as mulheres infectadas pelo HIV. A infecção por vários tipos de HPV foi mais freqüente nas mulheres positivas para o HIV (PALEFSKY et al., 1999; JAMIESON et al., 2002). Em estudo brasileiro realizado com mulheres portadoras do HIV, mais de um tipo de HPV foi identificado em cerca de 80% das amostras positivas para esse vírus (LEVI et al., 2002).

A detecção do HPV-DNA está associada a níveis mais baixos de linfócitos T CD₄⁺ e mais elevados de cargas virais do HIV. O tipo viral menos afetado pela contagem diminuída de células T CD₄⁺ foi o HPV 16. Níveis mais baixos de linfócitos T CD₄⁺, principalmente abaixo de 200 células/mm³, associaram-se à detecção de mais de um tipo de HPV (PALEFSKY et al., 1999; STRICKLER et al., 2003; STRICKLER et al., 2005).

De acordo com Sun et al. (1997), a infecção persistente pelo HPV foi significativamente maior nas mulheres portadoras do HIV quando comparadas às não portadoras, sendo fatores de risco para a persistência do HPV a positividade

para o HIV e a contagem de linfócitos T CD₄⁺, principalmente quando abaixo de 200 células/mm³.

A prevalência e incidência das LIE são maiores nas pacientes portadoras do HIV do que naquelas sem o vírus (PALEFSKY, 2003). Estas diferenças também foram notadas sobre a frequência das alterações citológicas. Tais alterações associaram-se a contagens mais baixas de linfócitos T CD₄⁺ (MASSAD et al., 1999; KOJIC; CU-UVIN, 2007).

Mulheres infectadas pelo HIV têm menores taxas de regressão de LIEBG (SUN et al., 1997) e apresentam maior risco de progressão para LIEAG, principalmente naquelas com baixa contagem de CD₄⁺ (PALEFSKY et al., 1999; DUERR et al., 2006).

Com o advento da terapia anti-retroviral altamente ativa (TARV-AA), cresceu a expectativa de que ocorressem mudanças significativas na história natural do HPV e das doenças induzidas por este vírus nas mulheres portadoras do HIV. Entretanto, tais modificações não têm sido demonstradas pela literatura atual. Nenhum estudo mostrou efeito da TARV-AA na positividade para o HPV cervical, mesmo naquelas mulheres em que houve aumento dos níveis de células T CD₄⁺. Em relação aos efeitos da TARV-AA na história natural das LIE, os dados permanecem inconsistentes e controversos (KOJIC; CU-UVIN, 2007).

1.6 Infecção pelo HPV durante a gestação

A literatura acerca da infecção pelo HPV durante a gestação é escassa e controversa em diversos aspectos. As modificações fisiológicas da gravidez, incluindo alterações imunológicas, podem interferir na infecção pelo HPV. A

observação clínica mostra aumento das lesões condilomatosas nesse período, tanto no número de mulheres acometidas, quanto no tamanho e quantidade das lesões (DUARTE, 2004).

Dados de uma metanálise que incluiu estudos com diversas populações de gestantes identificou taxas de prevalência variando de 5,5 a 65% (MEDEIROS et al., 2005). Dados preliminares de um estudo brasileiro multicêntrico, realizado em seis capitais, revelaram prevalência de 33,4% no grupo de gestantes incluídas (BRASIL, 2006). Em estudo realizado recentemente avaliando gestantes adolescentes e utilizando técnicas de biologia molecular para diagnóstico, HR-HPVs foram detectados em 51,7% das pacientes (SANTOS, 2006).

Em um estudo tailandês, avaliando mulheres grávidas infectadas pelo HIV, identificou-se infecção pelo HPV em 35,5% das pacientes (BOLLEN et al., 2006). Estudo de coorte finlandês revelou aumento na prevalência de sorologia positiva para o HPV 16 em mulheres grávidas de 17% para 24%, entre 1983-1985 e 1995-1997, respectivamente (LAUKKANEN et al., 2003). Avaliando gestantes com alterações citológicas escamosas de origem indeterminada (ASCUS), Armbruster-Moraes et al. (2000) detectaram o HPV-DNA em 48% das amostras.

De Roda Husman et al. (1995a) constataram em mulheres grávidas o mesmo padrão de redução nas taxas de infecção pelo HPV com o aumento da idade observado em mulheres fora do período gestacional.

Sugere-se que haja maior susceptibilidade a algumas infecções durante a gravidez. Uma das explicações para tal é que as alterações imunes presentes na gravidez tendem a manter normal a resposta humoral e suprimir a imunidade celular, favorecendo principalmente a infecção por patógenos intracelulares

(JAMIESON; THEILER; RASMUSSEN, 2006). Outro fator sugerido é a participação dos hormônios no aumento da replicação do HPV. Como vários deles estão aumentados durante a gravidez, haveria maior vulnerabilidade à infecção pelo HPV nesse período. Essa hipótese baseia-se na detecção de receptores para esteróides no genoma do vírus (GLOSS et al., 1987).

Diversos estudos foram realizados na tentativa de estabelecer se há diferença na prevalência da infecção pelo HPV entre gestantes e não-gestantes, porém os resultados são controversos. Trabalhos que relatam aumento na detecção do HPV-DNA durante a gravidez são, em sua maioria, transversais e não utilizam a PCR como método diagnóstico (SCHNEIDER; HOTZ; GISSMANN, 1987; CZEGLÉDY et al., 1987; FIFE et al., 1996; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005). Os trabalhos longitudinais e que utilizaram a PCR têm indicado não haver tal relação (CHANG-CLAUDE et al., 1996; CHAN et al., 2002; NOBBENHUIS et al., 2002).

Em relação aos efeitos da influência da idade gestacional sobre a infecção pelo HPV, os dados da literatura pertinente são inconsistentes. Alguns trabalhos demonstraram aumento proporcional da positividade para o HPV-DNA com a idade gestacional (SMITH et al., 1991), ao passo que outros não detectaram estas diferenças (FIFE et al., 1999). De Roda Husman et al. (1995a) não encontraram diferenças na prevalência da infecção pelo HPV entre gestantes e não gestantes, porém demonstrou redução significativa da carga viral com a evolução da gravidez. Parece haver redução da infecção pelo HPV durante o período puerperal (NOBBENHUIS et al., 2002), inclusive com aumento das taxas de regressão das LIE (YOST et al., 1999).

Avaliando-se a prevalência da infecção pelos HR-HPVs isoladamente, manteve-se a discrepância nos relatos: alguns trabalhos relatam aumento desses tipos virais em mulheres grávidas (FIFE et al., 1996; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al., 2005), bem como outros não identificam diferença (CHAN et al., 2002; MINKOFF et al., 2006) ou mostram redução dos HR-HPVs durante a gestação (TENTI et al., 1997).

Como comentado anteriormente, a infecção pelo HIV aumenta a prevalência da infecção pelo HPV e das LIE cervicais. Tal interação pode ser observada também em gestantes. Estudo tailandês realizado em população de gestantes infectadas pelo HIV identificou infecção pelo HPV em 35,5% das pacientes (BOLLEN et al., 2006). Em 2006, Minkoff et al. encontraram percentual semelhante e mostraram haver redução da positividade para o HPV ao comparar o período anterior com o posterior à gravidez. Não existem estudos acerca do uso de TARV em grávidas e sua influência sobre a positividade e a história natural do HPV.

Apesar da transmissão sexual ser responsável por 98% dos casos de infecção pelo HPV, existe a possibilidade de transmissão materno-fetal, sendo sua complicação mais temida a papilomatose de laringe (PL). Esta é uma afecção extremamente grave, porém rara, com incidência variando de 1,1 a 4,7 casos por 100 nascidos vivos (ARMSTRONG et al., 2000; SILVERBERG et al., 2003). Ao avaliar mulheres que apresentavam história de condilomatose durante a gestação, Silverberg et al. (2003) detectaram risco de 6,9 casos em 1000 nascidos vivos. A presença de condilomatose durante a gestação foi o principal fator de risco para PL, aumentando o risco para esta afecção em 230 vezes.

Comparada ao parto vaginal, a cesárea não alterou o risco para PL (SILVERBERG et al, 2003), nem não foi capaz de proteger o recém-nascido (RN) da contaminação pelo HPV-DNA (MEDEIROS et al., 2005). Muitos autores têm questionado se a detecção do HPV-DNA em RNs representa infecção realmente ou apenas contaminação (WINER; KOUTSKY, 2004). Independente dessa questão, a positividade para o HPV nos neonatos parece ser transitória, sendo o vírus eliminado em pouco tempo (WORDA et al., 2005).

A detecção do HPV-DNA no líquido amniótico, membranas fetais e material trofoblástico é variável (TSENG et al., 1992; AMBRUSTER-MORAES et al., 1994; HERMONAT et al., 1997; EPPEL et al., 2000; WORDA et al., 2005), não sendo bem estabelecido se a transmissão vertical (TV) ocorre apenas no canal de parto ou também durante a vida intra-uterina, seja via ascendente, seja transplacentária. Segundo dados da literatura atual, o HPV não faz viremia, nem é excretado no leite, não sendo possível sua transmissão através do sangue ou da amamentação (BOSCH; QIAO; CASTELLSAGUÉ, 2006).

Poucos são os estudos brasileiros avaliando a infecção pelo HPV em mulheres grávidas. Como citado anteriormente, ser portadora do HIV influencia significativamente as taxas de infecção pelo HPV. Por conta da escassez de dados da literatura e pela relevância dessa infecção como problema de saúde pública, torna-se necessário identificar a prevalência da positividade para o HPV em gestantes portadoras ou não do HIV, avaliando a influência da infecção por este retrovírus nas taxas obtidas.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos primários

- Estimar a prevalência da infecção pelo HPV em gestantes em amostra da população de Ribeirão Preto, SP.
- Identificar a influência da infecção pelo HIV sobre a prevalência da infecção pelo HPV em gestantes.

2.2 Objetivo secundário

- Identificar as variáveis demográficas e comportamentais associadas à infecção pelo HPV em gestantes portadoras ou não do HIV.

Pacientes, Material e Métodos

3 PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

O projeto foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP/USP), em sua 222^a Reunião Ordinária, realizada em 03 de abril de 2006, e enquadrado na categoria **APROVADO**, de acordo com o Processo HCRP nº 16105/2005 (Anexo A).

Vale ressaltar que a pesquisa não interferiu na conduta clínica a ser adotada nos casos, de modo que a evolução obstétrica da paciente seguiu os protocolos do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia (DGO) do HC-FMRP/USP (DUARTE, 2004). Todas as pacientes foram informadas, de forma clara e objetiva, sobre o protocolo de pesquisa a ser executado, com adesão espontânea ao projeto, sendo obtido o consentimento livre e esclarecido de todas as pacientes que participaram do projeto (Anexo B).

3.2 Casuística

Tratou-se de estudo do tipo transversal, com comparação externa (CHECKOWAY; PEARCE; CRAWFORD-BROWN, 1989), realizado entre maio de 2006 a fevereiro de 2007. A seleção das pacientes foi consecutiva, não aleatória.

Foram selecionadas gestantes encaminhadas ao Ambulatório do Setor de Moléstias Infecto-Contagiosas em Ginecologia e Obstetrícia (SEMIGO) devido ao diagnóstico de infecção pelo HIV previamente ou durante a gestação atual. As pacientes foram incluídas de acordo com os critérios assinalados abaixo:

- Idade entre 15 e 40 anos;
- Idade gestacional maior ou igual a 21 semanas, determinada pela data da última menstruação (DUM) e/ou pela ultrassonografia (USG) de primeiro trimestre;
- Diagnóstico prévio confirmado de HIV ou duas sorologias anti-HIV (ELISA 3ª geração) e um exame confirmatório (Western-blot) positivos;
- Ausência de comorbidades outras, além da infecção pelo HIV;
- Concordância da paciente ou de seu responsável (no caso de menor de idade) com o Termo de Consentimento Informado (Anexo B) e com o preenchimento do protocolo do estudo relacionado com seus dados pessoais e sua história sexual, contraceptiva, reprodutiva e médico-ginecológica (Anexo C).

As pacientes que apresentavam quadro de vulvovaginite no dia da consulta tinham a coleta do material cérvico-vaginal postergada para depois do tratamento adequado. Importante salientar que não foi considerado critério de exclusão a presença de qualquer manifestação clínica ou subclínica de infecção pelo HPV neste grupo de pacientes.

Para comparação, foram selecionadas pacientes sem comorbidades, encaminhadas para o Ambulatório de Pré-natal Normal (APRN) do HC-FMRP/USP. Os critérios de inclusão dessas pacientes foram:

- Idade entre 15 e 40 anos;
- Idade gestacional maior ou igual a 21 semanas, determinada pela DUM e/ou pela USG de primeiro trimestre;
- Sorologia anti-HIV (ELISA 3ª geração) NEGATIVA;

- Sorologias para sífilis (VDRL), vírus B da hepatite (HBsAg) e vírus C da hepatite (anti-HCV) negativas;
- Ausência de doenças diagnosticadas;
- Concordância da paciente ou de seu responsável (no caso de menor de idade) com o Termo de Consentimento Informado e com o preenchimento do protocolo do estudo relacionado com seus dados pessoais e sua história sexual, contraceptiva, reprodutiva e médico-ginecológica.

Todas as pacientes arroladas na pesquisa seguiram a rotina pré-natal normal preconizada pelo DGO da FMRP/USP e pelo SEMIGO (DUARTE, 2004), no caso de pacientes positivas para o HIV, com avaliação da carga viral do HIV-1 e quantificação do número relativo e absoluto de células T CD₄⁺ (Anexo D).

3.3 Obtenção do material

Todas as gestantes foram submetidas à coleta de citologia tríplice com espátula de Ayre e escova de coleta endocervical estéril. O material foi disposto de maneira convencional em lâmina única, identificada com registro e iniciais do nome da paciente, seguido de imediata fixação em álcool a 70°. As coletas foram encaminhadas para realização da coloração de Papanicolaou e processadas no Serviço de Patologia do HC-FMRP/USP, com leituras realizadas por dois patologistas independentes. Os esfregaços foram descritos de acordo com o Sistema Bethesda, aprovado em 1998 e revisado em 2002 (Anexo E).

Após a coleta da citologia, foi feita aplicação de 5,0 ml de solução salina com seringa estéril e realização de esfregaço em paredes vaginais, ectocérvice e endocérvice com a mesma escova endocervical utilizada para a coleta da colpocitologia. O lavado era aspirado com a seringa e acondicionado, juntamente com a escova endocervical, em um microtubo tipo *Eppendorf* de 1,5 ml. Após identificação adequada, as amostras eram estocadas em freezer a -80°C até processamento posterior.

Conforme protocolo seguido pelo SEMIGO, todas as pacientes com infecção pelo HIV foram submetidas a genitoscopia, utilizando colposcópio da marca DF Vasconcelos, modelo CPM7, com aumento de seis, 10, 16, 24 e 40 vezes. Inicialmente, foi realizada a inspeção direta da vulva, vagina e colo com a luz branca. Foi retirado, quando necessário, o excesso de conteúdo vaginal com aplicação de soro fisiológico a 0,9% e visualização sob luz branca e filtro verde para evidenciar a angioarquitetura cervical (Teste de Kraatz). Em seguida, foi aplicado ácido acético a 3% para a identificação da junção escamocolunar (JEC) e da zona de transformação (ZT). O relatório da genitoscopia foi descrito de acordo com as normas da Classificação Colposcópica de Roma (1990), revisada pela Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia, no XI Congresso Mundial em Barcelona em junho de 2002 (Anexo F). Após utilização da solução de lugol a 2% (teste de Schiller), as alterações colposcópicas foram sistematicamente biopsiadas, utilizando-se a pinça de Gaylor-Medina de 3 ou 5 mm. O material obtido foi fixado imediatamente em formol a 10%, com volume de nove vezes o tamanho da peça, para posterior inclusão em parafina.

3.4 Extração do DNA

O DNA oriundo do material citológico foi obtido através da técnica modificada de *salting out*, descrita por Higuchi e Ochman (1989). O material citológico contido no *Eppendorf* foi centrifugado a 6000 x g por 1 minuto para que as células precipitassem. A escova endocervical foi retirada cuidadosamente. Após acréscimo de 1 ml de tampão para lise de eritrócitos (Lise I), o material era submetido a homogeneização vigorosa e nova centrifugação a 6000 x g por dois minutos. Descartado o sobrenadante, adicionava-se ao precipitado restante 300 µL de tampão para lise de leucócitos (Lise II) com 5 µL de Proteinase K. Essa solução era homogeneizada e incubada a 65°C por uma hora, seguida de mais três horas a 37°C. Ao final deste período, as amostras eram aquecidas a 94°C por 10 minutos para inativação da Proteinase K e estocadas a -20°C até a análise subsequente. A composição dos reagentes está descrita no anexo G.

3.5 Técnica de reação em cadeia de polimerase

A técnica de PCR é capaz de amplificar seqüências determinadas de genes através do uso de um par específico de iniciadores (*primers*). Após ocorrer hibridação de cada um com uma fita de DNA denaturada, o *primer* serve como ponto de início para síntese de uma cadeia complementar através de uma enzima, a Taq DNA polimerase. Seu uso para detecção do HPV foi descrito por Shibata, Arnheim e Martin (1988) com a finalidade de identificar o vírus de maneira mais rápida e sensível.

A qualidade do DNA foi avaliada através dos iniciadores pCO3 e pCO4, que amplificam um segmento do gene humano β -globina (BERNARD et al., 1994).

Para detecção da presença do material genético do HPV, foi utilizada a técnica convencional da PCR com utilização dos *primers* consensuais GP5+ e GP6+, que amplificam um fragmento de 150 pares de bases (pb), conforme descrito por De Roda Husman et al. (1995b). Para a tipificação viral, foram utilizados iniciadores específicos para os HPVs 6 e 11 (seqüências gentilmente cedidas pela Prof^a. Dr^a. Luisa Lina Villa) e 16 e 18 (WALBOOMERS et al., 1999). Todos os iniciadores foram sintetizados pela Fermentas *International* Inc. (Canadá), e suas seqüências estão listadas no quadro 1. Os iniciadores específicos amplificam fragmentos de aproximadamente 100 pb da região E7 do genoma viral. A amplificação foi realizada utilizando-se 1 µL do DNA previamente extraído em microtubos de 200 µL devidamente numerados.

As amplificações foram efetuadas no termociclador *GeneAmp PCR System* 9700 (PE Applied Biosystems; Foster City, Califórnia, EUA). As condições de amplificação e concentrações finais para cada par de iniciadores estão descritos abaixo (Quadros 2, 3, 4, 5, 6). A fim de evitar resultados falsos positivos, um controle interno contendo apenas os reagentes da reação, sem DNA, foi incluído em cada amplificação.

A concentração final do MgCl₂ para cada reação foi definida através de testes comparando diversas concentrações até determinação daquela que apresentava maior qualidade da amplificação. As temperaturas de anelamento dos iniciadores para os HPVs 6, 11, 16 e 18 foram definidas por meio da realização de reação de PCR utilizando gradiente de temperatura.

Sistema	Região Gênica	Seqüências Iniciadoras
HPV GP5+ ⁽¹⁾	L1	5'-TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC-3'
HPV GP6+ ⁽¹⁾	L1	5'-GAAAAATAAACTGTAAATCATATTC-3'
HPV16 E7.667 ⁽²⁾	E7	5'-GATGAAATAGATGGTCCAGC-3'
HPV16 E7.774 ⁽²⁾	E7	5'- GCTTTGTACGCACAACCGAAGC-3'
HPV18 E7.696 ⁽²⁾	E7	5'-AAGAAAACGATGAAATAGATGGA-3'
HPV18 E7.799 ⁽²⁾	E7	5'-GGCTTCACACTTACAACACA-3'
HPV 6.3 ⁽³⁾	E7	5'-CTGGCACAAAATATATAGG-3'
HPV 6.5 ⁽³⁾	E7	5'-TTATATTTGCAACCGTTTTTC-3'
HPV 11.3 ⁽³⁾	E7	5'-CGAAAACGGTTGCAAGTG-3'
HPV 11.5 ⁽³⁾	E7	5'-ACTAAGTTGTGTTTTGCACG-3'
pCO3 ⁽⁴⁾	-	5'- ACACAACGTGTTCACCTAGC-3'
pCO4 ⁽⁴⁾	-	5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3'

Quadro 1 - Seqüências dos iniciadores utilizados para detecção e tipificação do HPV através da técnica de PCR (1. DE RODA HUSMAN et al., 1995b; 2. WALBOOMERS et al., 1999; 3. Gentilmente cedidas pela Prof^a. Dr^a. Luisa Lina Villa; 4. BERNARD et al., 1994).

Na reação para o HPV 16, utilizou-se tampão feito no próprio laboratório em que a pesquisa foi realizada, cuja composição está descrita no anexo G. Para as demais reações, foi utilizado o tampão que acompanha a Taq Polimerase (Invitrogen, EUA), composto de 200 mM de Tris-HCl (pH 8,4) e 500 mM de KCl.

Reagentes	Concentração		Ciclagem	
	Inicial	Final		
H ₂ O	Ultra pura	q.s.p 25 µL	94°C – 7'	37x
Tampão	10 X	1,4 X	94°C – 30''	
MgCl ₂	50 mM	3,0 mM	45°C – 45''	
dNTP	20 mM ¹	200 µM	72°C – 1'	
Iniciador 1	10 µM	0,6 mM	72°C – 10'	
Iniciador 2	10 µM	0,6 mM		
Enzima (Taq)	5 U/µL	1,25 U		
Glicerol	50%	5%		
Volume do Mix	-	49,00 µL		
DNA	0,5 ng/µL	1,0 ng		
Volume Total	-	25 µL		

1. Diluição descrita no anexo G.

Quadro 2 - Condições da reação para detecção do HPV, utilizando os iniciadores consensuais GP5+/6+.

Reagentes	Concentração		Ciclagem	
	Inicial	Final		
H ₂ O	Ultra pura	q.s.p 25 µL	94°C – 5'	10x
Tampão + MgCl ₂	10 X	1 X	94°C – 1'	
dNTP	20 mM ¹	400 µM	58°C – 1'	
Iniciador 1	10 µM	0,4 mM	72°C – 1'	
Iniciador 2	10 µM	0,4 mM	94°C – 1'	
Enzima (Taq)	5 U/µL	1,25 U	55°C – 1'	25x
Volume do Mix	-	49,00 µL	72°C – 1'	
DNA	0,5 ng/µL	1,0 ng	72°C – 10'	
Volume Total	-	25 µL		

1. Diluição descrita no anexo G.

Quadro 3 - Condições da reação utilizada para detecção do HPV 16.

Reagentes	Concentração		Ciclagem	
	Inicial	Final		
H ₂ O	Ultra pura	q.s.p 25 µL	94°C – 5'	35x
Tampão	10 X	1 X	94°C – 1'	
MgCl ₂	50 mM	2,0mM	62°C – 1'	
dNTP	20 mM ¹	200 µM	72°C – 1'	
Iniciador 1	10 µM	0,3 mM	72°C – 10'	
Iniciador 2	10 µM	0,3 mM		
Enzima (Taq)	5 U/µL	1,25 U		
Volume do Mix	-	49,00 µL		
DNA	0,5 ng/µL	1,0 ng		
Volume Total	-	25 µL		

1. Diluição descrita no anexo G.

Quadro 4 - Condições da reação utilizada para detecção do HPV 18.

Reagentes	Concentração		Ciclagem	
	Inicial	Final		
H ₂ O	Ultra pura	q.s.p 25 µL	94°C – 5'	39x
Tampão	10 X	1 X	94°C – 1'	
MgCl ₂	50 mM	2,0 mM	55°C – 1'	
dNTP	20 mM ¹	200 µM	72°C – 1'	
Iniciador 1	50 µM	2,5 mM	72°C – 5'	
Iniciador 2	50 µM	2,5 mM		
Enzima (Taq)	5 U/µL	1,25 U		
Volume do Mix	-	49,00 µL		
DNA	0,5 ng/µL	1,0 ng		
Volume Total	-	25 µL		

1. Diluição descrita no anexo G.

Quadro 5 - Condições da reação utilizada para detecção do HPV 6.

Reagentes	Concentração		Ciclagem
	Inicial	Final	
H₂O	Ultra pura	q.s.p 25 µL	<div> <div>94°C – 5'</div> <div>94°C – 1'</div> <div>60°C – 1'</div> <div>72°C – 1'</div> <div>72°C – 5'</div> </div> <div>39x</div>
Tampão	10 X	1 X	
MgCl₂	50 mM	1,24 mM	
dNTP	20 mM ¹	200 µM	
Iniciador 1	50 µM	2,0 mM	
Iniciador 2	50 µM	2,0 mM	
Enzima (Taq)	5 U/µL	1,25 U	
Volume do Mix	-	49,00 µL	
DNA	0,5 ng/µL	1,0 ng	
Volume Total	-	25 µL	

1. Diluição descrita no anexo G.

Quadro 6 - Condições da reação utilizada para a detecção do HPV 11.

3.6 Análise dos produtos amplificados

Um gel não desnaturante 10%, com tamanho de 10 cm, foi utilizado para a revelação que possibilitou diagnosticar e/ou confirmar a presença do HPV-DNA nas amostras. Para a preparação deste gel, foram utilizados os seguintes componentes, cujas composições estão descritas no anexo G:

- 9,8 ml de água deionizada;
- 6,7 ml de acrilamida + bis-acrilamida (29:1);
- 1,4 ml de glicerol;
- 2,0 ml de tampão TBE 10X;
- 15 µL de TEMED;
- 300 µL de solução saturada de potássio.

Em seguida à preparação da mistura, fazia-se a aplicação imediata do gel a um cassete de tamanho determinado previamente montado. Esse cassete era composto por duas placas de vidro colocadas sobre um suporte, separadas por espaçadores de teflon e presas com grampos de aço. Logo após a aplicação do gel entre as placas, colocava-se um pente de teflon na borda superior para formar sulcos, nos quais eram aplicadas as amostras posteriormente. O tempo de polimerização era de aproximadamente 30 minutos.

Após a polimerização do gel, era feita a retirada do pente e montava-se o cassete em uma cuba de eletroforese vertical contendo tampão TBE (o mesmo utilizado na preparação do gel diluído mais 10 vezes) em ambos os pólos.

Para a eletroforese dos sistemas analisados, 5 μ L do produto amplificado eram misturados a 5 μ L do tampão da amostra. Após a mistura com o corante, as amostras e o controle negativo de cada reação eram aplicados diretamente nos géis. O equipamento era ligado a uma fonte de alta voltagem e submetido à voltagem constante de 220 V por 01 hora e 30 minutos.

3.7 Coloração com nitrato de prata

As composições dos reagentes estão descritas no anexo G.

3.7.1 Fixação e impregnação com nitrato de prata

Após o término da eletroforese, o gel era retirado da placa, colocado em 100 mL de solução fixadora com 1 mL de nitrato de prata a 20% e agitado por 5 minutos.

3.7.2 Revelação

Depois de descartada a solução fixadora com a prata, o gel era lavado em água abundante. Após desprezar a água, colocava-se o gel em 100 mL de solução reveladora com 1 mL de formaldeído e mantinha-se em agitação até o aparecimento das bandas.

3.7.3 Fixação final

Após o aparecimento das bandas, o gel era imerso em 200 mL de solução fixadora, sem o nitrato de prata, para interromper o efeito do revelador. Após a leitura, os géis de poliacrilamida eram secos e arquivados. A secagem era realizada colocando-se o gel entre duas folhas de papel celofane embebidas em água sobre uma placa de vidro à temperatura ambiente por 24 horas.

3.8 Interpretação dos resultados

A amostra foi considerada positiva para o HPV quando havia presença de banda de cerca de 150 pb nas reações com o par de *primers* GP5+/6+, indicando a presença de DNA viral (Anexo H). A ausência de bandas indicava que a amostra era negativa para o vírus. Nas reações com os iniciadores específicos para os HPVs 6, 11, 16 e 18, a presença de bandas de aproximadamente 100 pb indicava a positividade para cada um desses tipos virais a depender do par de *primers* utilizado na reação (Anexo H).

Como controle positivo das reações, foram utilizadas amostras de DNA extraídas de linhagens celulares reconhecidamente infectadas pelos HPV 6, 11, 16 (SiHa) e HPV 18 (Hela), gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Luisa Lina Villa,

do Instituto Ludwig de São Paulo. A escolha por esses quatro tipos virais deve-se a sua alta frequência em toda a população, sendo recentemente, inclusive, alvo de vacinas profiláticas.

3.9 Análise estatística

A partir dos resultados obtidos, foi criado um banco de dados no programa *Microsoft Excel 2002* (*Microsoft Office*, EUA). Utilizou-se os programas *EpiInfo* versão 3.4.1 (CDC - *Center for Diseases Control and Prevention*, EUA) e *SPSS 12.0* para Windows (*Apache Software Foundation*, EUA).

O nível de significância adotado foi bicaudal de 5%, e o poder do teste foi estabelecido em 80%. A variável resposta (dependente) do estudo foi a presença do HPV, classificada dicotomicamente (sim/não). A variável independente principal foi a infecção pelo HIV, categorizada como presente ou ausente.

As variáveis quantitativas, mensuradas por meio da média e desvio-padrão, foram idade, idade gestacional, menarca, idade ao primeiro coito e na primeira gestação, número de gestações e de partos, contagem das células T CD₄⁺ e a carga viral do HIV. A idade gestacional foi calculada em semanas completas de gestação no dia da coleta da amostra.

As variáveis qualitativas foram divididas em categóricas e dicotômicas simples. As variáveis categóricas foram: situação conjugal (estável, solteira, divorciada); cor (branca, parda, negra); número de parceiros (até 5, de 6 a 10, mais de 10). A contagem das células T CD₄⁺ foi avaliada em três categorias, conforme classificação do CDC (1992): até 200, entre 200 e 500 e mais de 500 células/mm³. O valor da carga viral também foi avaliado em categorias definidas a

partir das recomendações brasileiras para profilaxia da transmissão vertical do HIV e terapia anti-retroviral em gestantes (Brasil, 2007).

Para análise simples, utilizou-se o Teste t de Student não-pareado para as variáveis quantitativas paramétricas. A correção de Welch foi empregada quando a diferença entre as variâncias foi estatisticamente significativa. Para as variáveis não paramétricas, aplicou-se o Teste U de Mann-Whitney. As variáveis qualitativas foram dispostas em tabelas de contingência e avaliadas através do Teste Exato de Fisher. O Teste do Chi-quadrado de Pearson foi empregado no caso de tabelas maiores que 2 x 2.

Foram calculadas as razões de prevalência (RP) brutas para cada variável independente a fim de avaliar sua força de associação com a variável dependente. Todas as variáveis foram reformuladas como dicotômicas. Foram utilizadas como nível de corte as medianas das variáveis quantitativas. Para evitar confundimento com a variável independente principal, foi realizado ajuste das RP para a infecção pelo HIV.

A análise estratificada univariada foi feita utilizando a estatística de Mantel-Haenszel. Esta análise permite o cálculo da razão de prevalência ajustada (RP_{MH}), que identifica o risco atribuído à variável de interesse (infecção pelo HIV) quando o risco oriundo de outro fator é removido (CHECKOWAY; PEARCE; CRAWFORD-BROWN, 1989). O valor do α foi mantido para cada análise separada. Os valores dos intervalos de confiança (IC) obtidos para cada estrato foram comparados entre si a fim de avaliar interação. O valor da RP_{MH} de cada variável independente foi comparado à RP bruta a fim de controlar o efeito de variáveis de confundimento.

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Foram arroladas 97 mulheres grávidas, sendo 44 portadoras do HIV e 53 negativas para o HIV. As características da população amostral em conjunto estão descritas no anexo I. A média de idade das gestantes arroladas no estudo foi de 25,4 ($\pm 6,2$) anos, sendo que a média de idade das gestantes portadoras e não portadoras do HIV foram, respectivamente, 27,4 ($\pm 5,9$) e 23,7 ($\pm 5,9$) anos. A comparação destas médias mostrou diferença estatisticamente significativa ($p=0,01$), ou seja, o grupo de gestantes não portadoras do HIV foi significativamente mais jovem quando comparado com as gestantes portadoras deste vírus. O gráfico 1 mostra a distribuição da idade por categorias nos dois grupos.

Gráfico 1 - Distribuição das frequências relativas das categorias de idade de acordo com o status sorológico para o HIV.

Ao comparar a história ginecológica e obstétrica, observou-se que as idades médias da menarca, do primeiro coito e da 1ª gestação foram semelhantes em ambos os grupos de gestantes, entretanto foi identificada diferença em relação ao número prévio de gestações e à paridade, obtendo médias maiores para esses dois parâmetros nas gestantes com sorologia positiva para o HIV. A idade gestacional média do grupo de portadoras do HIV foi significativamente menor quando comparado ao grupo sem esta infecção. Os dados expostos na tabela 1 demonstram que o grupo de gestantes portadoras do HIV diferiu significativamente do grupo de gestantes não infectadas por este vírus apresentando maior idade cronológica, maior número de gestações anteriores e idade gestacional da coleta de material mais precoce.

Tabela 1 - Distribuição das características ginecológicas e obstétricas de acordo com o status sorológico para o HIV.

Características	Portadora do HIV		Não portadora do HIV		p*
	X	s	X	s	
Idade gestacional	30,8	5,3	34,2	4,7	< 0,05
Nº de gestações	3,8	2,1	2,2	1,5	< 0,05
Paridade	2,4	1,9	1,0	1,4	< 0,05
Menarca	12,8	2,1	12,6	1,8	0,72
Idade do 1º coito	15,7	2,4	16,1	2,9	0,41
Idade na 1ª gestação	18,9	4,2	19,8	3,9	0,13

X – média; s – desvio padrão; * Teste de Mann-Whitney.

A tabela 2 mostra a descrição das características demográficas e comportamentais de acordo com a infecção pelo HIV. Os relatos de história de DST da paciente, excetuando-se a própria retrovirose, ou do parceiro foram significativamente mais freqüentes no grupo de gestantes portadoras do HIV. A

maioria das gestantes referiu situação conjugal estável, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Entretanto, o número de parceiros durante a vida foi maior no grupo de gestantes portadoras do HIV. Cerca de 30% das pacientes deste grupo referiu mais de seis parceiros durante sua vida sexual, comparado com menos de 8% no grupo com sorologia negativa para o HIV. Gestantes com mais de 10 parceiros sexuais foram quatro vezes mais frequente no grupo de gestantes portadoras do HIV (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição das características demográficas e comportamentais de acordo com o status sorológico para o HIV.

Características	Portadora do HIV		Não portadora do HIV		p
	n	%	n	%	
Total	44	100	53	100	
Situação conjugal					
Estável	33	75,0	37	69,8	0,65*
Não-estável	11	25,0	16	30,2	
Cor					
Branca	14	31,8	17	32,1	0,3 [#]
Parda	20	45,5	30	56,6	
Negra	10	22,7	6	11,3	
Número de parceiros					
1 - 5	31	70,5	49	92,5	<0,05 [#]
6 -10	6	13,6	2	3,75	
>10	7	15,9	2	3,75	
Passado de DST	15	34,1	4	7,5	<0,05*
História de DST no parceiro	19	43,2	2	3,8	<0,05*
Tatuagem	12	27,3	14	26,4	1,0*
Uso de drogas ilícitas	12	27,3	7	13,2	0,12*
Uso de álcool	6	13,6	2	3,8	0,13*
Tabagismo	14	31,8	14	26,4	0,65*

*Teste exato de Fisher; [#] Chi-quadrado

Quanto ao momento do diagnóstico da infecção pelo HIV, cerca de 47% das pacientes (21/44) foram identificadas na gestação atual, e o diagnóstico prévio desta infecção aconteceu em gestação anterior em 34,1% dos casos (15/44). Portanto, o diagnóstico da infecção pelo HIV ocorreu durante o acompanhamento pré-natal em mais de 80% das gestantes soropositivas. Nas pacientes que já tinham a infecção identificada, a média de tempo do diagnóstico foi de 5,4 ($\pm$ 3,5) anos.

Quanto aos parâmetros laboratoriais no grupo de gestantes portadoras do HIV, a contagem de linfócitos T CD₄⁺ estava acima de 500 células/mm³ em 45% das pacientes. Segundo os critérios do CDC (1992), levando-se em consideração apenas a contagem de células T CD₄⁺ abaixo de 200 células/mm³, cerca de 20% das gestantes positivas para o HIV apresentavam aids (Gráfico 2). A quantificação da carga viral do HIV abaixo de 1000 cópias/ml foi encontrada em 50% dessas gestantes, das quais 52% (11/21) apresentavam níveis indetectáveis (Gráfico 3). O uso de medicações anti-retrovirais (ARV) previamente à gestação atual foi feito em cerca de 34% das pacientes, das quais alguns casos ocorreram em gestação anterior.

A profilaxia antenatal contra a transmissão vertical do HIV foi instituída em todas as pacientes infectadas por este vírus e, o esquema ARV tríplice, contendo Zidovudina, Lamivudina e Nelfinavir, foi utilizado por 75% destas, conforme preconizado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2006). Uma pequena parcela fez uso de Zidovudina isolada, e algumas pacientes mantiveram esquemas tríplices utilizando outros ARVs devido a resistência do vírus detectada por genotipagem (Anexo I).

Gráfico 2 - Distribuição estratificada das freqüências relativas dos níveis de linfócitos T CD₄+ (células/mm³).

Gráfico 3 - Distribuição estratificada das freqüências relativas dos níveis de carga viral do HIV (cópias/ml).

A avaliação colpocitológica das gestantes arroladas evidenciou alterações sugestivas de infecção pelo HPV e/ou lesão intra-epitelial em 11,4% das amostras oriundas do grupo de gestantes portadoras do HIV, enquanto apenas uma paciente sem infecção pelo HIV apresentou colpocitologia alterada.

Em relação à genitoscopia, observou-se que os achados colposcópicos normais ocorreram na maioria das pacientes portadoras do HIV, mas este exame esteve alterado em 15 pacientes (35,7%). Estes dados estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição dos achados colposcópicos realizados nas gestantes portadoras do HIV.

Achados Colposcópicos	Frequência	
	Absoluta	Relativa (%)
Normais	28	66,7
Anormais menores	9	21,4
Anormais maiores	1	2,4
Vários	4	9,5
Condilomatose genital	5	11,9
Insatisfatórios	2	4,8

1. De acordo com a classificação colposcópica de Barcelona, 2002 (WALKER et al., 2003).

4.2 Análise simples dos resultados

A técnica de PCR evidenciou a presença do DNA-HPV em 68% das pacientes arroladas no estudo (66/97). Foi obtido pelo menos um tipo viral em 64% das amostras positivas para o HPV (42/66), não sendo possível identificar um dos quatro tipos virais estudados nas outras 24 amostras.

A prevalência estimada da infecção pelo HPV nas gestantes com sorologia positiva e negativa para o HIV foi, respectivamente, de 79,5%, e 58,5%, sendo a diferença entre as estimativas estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Ao avaliar apenas a prevalência dos tipos oncogênicos, a diferença foi ainda maior, com quase o dobro de pacientes portadoras do HIV acometidas por HR-HPVs ($p < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos de grávidas portadoras e não portadoras do HIV nas estimativas dos LR-HPVs ($p = 0,98$). Tais achados estão expostos no gráfico 4.

Gráfico 4 – Prevalência estimada da infecção pelo HPV e por seus tipos oncogênicos ou não, de acordo com o status sorológico para o HIV.

Em relação aos tipos virais pesquisados, os HPV 6, 16 e 18 foram mais freqüentes nas pacientes portadoras do HIV, porém o HPV 11 foi quatro vezes mais freqüente nas pacientes com sorologia negativa para o HIV. Nas gestantes portadoras do HIV, os HPV 6 e 16 foram detectados em 40% das amostras. Não houve identificação de amostra positiva para o HPV 18 nas gestantes não infectadas pelo HIV (Gráfico 5). Comparando-se os grupos portadores ou não do HIV, apenas a diferença entre as prevalências estimadas do HPV 6 atingiu nível estatisticamente significativo (Tabela 4).

As amostras tipificadas apresentaram apenas um tipo viral em 69% dos casos. Identificou-se mais de um tipo viral em 31% das amostras. A infecção por mais de um tipo viral foi mais freqüente nas gestantes portadoras do HIV, porém sem atingir diferença estatisticamente significativa entre o grupo de gestantes da amostra avaliada (Gráfico 6).

* $p < 0,05$ – Teste Exato de Fisher.

Gráfico 5 - Distribuição das frequências relativas dos tipos de HPV, de acordo com o status sorológico para o HIV.

Tabela 4 - Distribuição da positividade para o HPV e seus subtipos de acordo com o status sorológico para o HIV.

Amostras HPV positivas	Total		Portadora do HIV		Não portadora do HIV		p*
	n	%	n	%	n	%	
HPV 16							
Sim	22	33,3	14	40,0	8	25,8	0,3
Não	44	66,7	21	60,0	23	74,2	
HPV 18							
Sim	4	6,1	4	11,4	0	0,0	0,1
Não	62	93,9	31	88,6	31	100,0	
HPV 6							
Sim	21	31,8	14	40,0	7	22,6	< 0,05
Não	45	68,2	21	60,0	24	77,4	
HPV 11							
Sim	11	16,7	3	8,6	8	25,8	0,09
Não	55	83,3	32	91,4	23	74,2	
Total	66	100,0	35	79,5	31	58,5	< 0,05

* Teste Exato de Fisher.

Gráfico 6 - Distribuição das frequências relativas dos tipos de infecção pelo HPV (única x múltipla), de acordo com o status para o HIV.

No grupo com sorologia positiva para o HIV, o tempo médio de diagnóstico desta infecção não variou significativamente entre as gestantes portadoras ou não do HPV ($2,4 \pm 3,3$ e $4,7 \pm 4,7$ anos, respectivamente).

A média do nível de células T CD₄⁺ foi menor nas pacientes positivas para o HPV (Gráfico 7), porém este dado ultrapassou o limite de significância estatística ($p=0,06$). A proporção de gestantes portadoras do HIV que estavam infectadas pelo HPV foi inversamente proporcional à contagem de células T CD₄⁺ (Gráfico 8), e todas as pacientes com nível dessas células abaixo de 200 foram positivas para o HPV. A positividade para o HPV foi proporcional ao aumento nos níveis de carga viral do HIV (Gráfico 9).

Gráfico 7 - Análise do nível de células T CD₄⁺ (células/mm³) de acordo com a positividade para o HPV*.

Gráfico 8 – Distribuição proporcional da positividade para o HPV de acordo com o nível de células T CD₄⁺ (células/mm³).

Gráfico 9 - Distribuição proporcional da positividade para o HPV de acordo com o nível de carga viral do HIV (cópias/ml).

Houve tendência a aumento na frequência relativa da positividade para o HPV quando correlacionada concomitantemente aos níveis das células T CD₄⁺ e à carga viral (CV) do HIV. Casos com CV superior a 10000 cópias/ml e nível de células T CD₄⁺ inferior a 200 células/mm³ apresentaram proporções mais elevadas de positividade para o HPV (Tabela 5).

Tabela 5 - Frequência da positividade para o HPV estratificada para nível de células T CD₄⁺(¹) e carga viral do HIV(²).

Carga viral do HIV	Nível de células T CD ₄ ⁺							
	> 500		200-500		< 200		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
< 1000	5/11	45,5	1/2	50,0	2/2	100,0	8/15	53,3
1000-10000	2/2	100,0	6/8	75,0	1/1	100,0	9/11	81,8
>10000	1/1	100,0	4/4	100,0	5/5	100,0	10/10	100,0
Total	8/14	57,1	11/12	91,7	8/8	100,0		

(1) Células/mm³; (2) Cópias/ml.

4.3 Cálculo das razões de prevalência

Os dados obtidos de toda a população amostral foram submetidos à análise categorizada. Idades precoces da menarca, do primeiro coito e da primeira gestação não apresentaram maior risco para a positividade para o HPV. História de até um parto esteve significativamente associada a menor risco de infecção pelo HPV. O número de gestações até três apresentou menor risco de positividade para o HPV, porém o valor de p deste dado ultrapassou o nível significativo. As mulheres que tinham até 34 semanas de gestação apresentaram maior risco de serem positivas para o HPV (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise das razões de prevalência para a infecção pelo HPV, brutas e ajustadas para a infecção pelo HIV, de acordo com as variáveis tocoginecológicas na população amostral.

Variáveis tocoginecológicas	RP	IC 95%	RP ajustada	IC 95% ajustado	p^*
IG					
≤ 34 vs. > 34 semanas	1,3	1,0-1,8	1,27	1,0-1,5	<0,05
Nº de gestações					
≤ 3 vs. > 3	0,77	0,6-0,9	0,8	0,7-0,9	0,06
Paridade					
≤ 1 vs. > 1	0,73	0,6-0,9	0,76	0,63-0,9	<0,05
Menarca					
≤ 12 vs. > 12	1,05	0,8-1,4	1,05	0,9-1,3	0,78
Idade do 1º coito					
≤ 16 vs. > 16 anos	1,1	0,8-1,5	1,1	0,9-1,4	0,37
Idade da 1ª gestação					
≤ 19 vs. > 19 anos	0,95	0,7-1,3	0,94	0,77-1,1	0,62

RP – Razão de prevalência; IC – Intervalo de confiança. *Teste Exato de Fisher

Idade menor do que 25 anos não foi associada a maior positividade pelo HPV. A referência de união estável apresentou menor risco significativo para a infecção para o HPV. O número de parceiros inferior a cinco apresentou tendência a menor risco de positividade para o HPV, quando ajustado para a infecção pelo HIV, porém sem significância estatística (Tabela 7).

A história positiva de DST prévia, tanto na paciente como no parceiro, associou-se a maior positividade pelo HPV. A análise ajustada para a infecção pelo HIV não foi possível nos dois casos por conta de insuficiência numérica. O tabagismo aumentou o risco da detecção do HPV, sendo este risco significativamente maior para os HPVs oncogênicos (RP 2,03; IC95% 1,1-3,7; $p=0,02$). As outras variáveis comportamentais não se associaram a maior risco para o HPV (Tabela 7).

A infecção pelo HIV associou-se a maior risco de positividade para o HPV, atingindo nível estatisticamente significativo (RP 1,36; IC95% 1,04-1,8; $p=0,03$). De maneira semelhante, o risco de detecção de HPVs oncogênicos foi maior entre o grupo de mulheres infectadas pelo HIV (RP 1,99; IC95% 1,01-3,9; $p=0,03$). Não houve aumento significativo do risco para os tipos não-oncogênicos a depender da condição de ser portadora do HIV.

Avaliando-se os parâmetros laboratoriais, a contagem de linfócitos T CD₄⁺ abaixo de 200 associou-se a maior risco para positividade para o HPV (RP 1,36; IC95% 1,1-1,7; $p=0,16$), e a quantificação da carga viral do HIV menor que 1000 apresentou risco diminuído de positividade para o HPV (RP 0,74; IC95% 0,53-1,0; $p=0,06$).

Tabela 7 – Análise das razões de prevalência para a infecção pelo HPV, brutas e ajustadas para a infecção pelo HIV, de acordo com as variáveis demográficas e comportamentais na população amostral.

Variáveis demográficas e comportamentais	RP	IC 95%	RP ajustada[#]	IC 95% ajustado[#]	p*
Idade					
≤ 25 vs. > 25 anos	0,94	0,7-1,2	0,98	0,8-1,2	0,96
Cor					
Branca vs. outros	1,0	0,7-1,3	0,99	0,8-1,2	0,94
Negra vs. outros	1,1	0,8-1,6	1,1	0,9-1,4	0,62
Situação conjugal					
Estável vs. Não-estável	0,8	0,6-1,1	0,8	0,7-0,96	< 0,05
Número de parceiros					
≤ 5 vs. > 5	0,9	0,6-1,2	0,87	0,7-1,0	0,31
Passado de DST	1,5	1,3-1,9	-	-	< 0,05
História de DST no parceiro	1,4	1,1-1,7	-	-	< 0,05
Tatuagem	1,3	1,0-1,7	-	-	0,1
Uso de drogas ilícitas	1,2	0,9-1,6	1,17	0,96-1,4	0,24
Uso de álcool	1,3	1,0-1,8	-	-	0,21
Tabagismo	1,3	1,0-1,7	1,3	1,1-1,56	< 0,05

RP - Razão de prevalência; IC – Intervalo de confiança; *Teste Exato de Fisher.

Não foi possível realizar o controle para as variáveis cujas caselas estão vazias.

4.4 Análise estratificada dos resultados

A análise estratificada univariada não mostrou modificações significativas na RP calculada para a infecção pelo HIV (RP 1,36), não evidenciando interação ou confundimento entre a variável independente principal com outras (Tabela 8). Não foi realizada análise multivariada devido às limitações do tamanho amostral.

Tabela 8 - Análise estratificada univariada da razão de prevalência da infecção pelo HIV para positividade do HPV*.

Variável controlada	RP_{MH}⁽¹⁾	IC 95%
Idade	1,36	1,12-1,66
Situação conjugal	1,36	1,13-1,65
Idade Gestacional	1,30	1,08-1,57
Cor	1,36	1,12-1,65
História de DST	1,30	1,07-1,57
História de DST no parceiro	1,31	1,08-1,60
Tabagismo	1,35	1,12-1,63
Nº de Parceiros	1,37	1,11-1,69
Nº de Gestações	1,33	1,09-1,62
Nº de Partos	1,31	1,08-1,59
Menarca	1,35	1,11-1,63
Idade ao 1º coito	1,35	1,12-1,64
Idade na 1ª gestação	1,36	1,13-1,65

* Estatística de Mantel-Haenszel. (1) Razão de prevalência de Mantel-Haenszel.

Discussão

5 DISCUSSÃO

O período de vida reprodutiva apresenta maior prevalência de DSTs entre as mulheres, sendo natural a preocupação referente às repercussões orgânicas dessas infecções no período gestacional e à possibilidade de transmissão vertical (TV) dos agentes envolvidos. O ciclo gravídico-puerperal pode alterar a evolução das DSTs, e o tratamento destas infecções apresenta particularidades durante a gravidez. Várias destas doenças podem acometer a mulher durante a gestação, mas as de etiologia viral são as mais prevalentes, destacando-se a infecção pelo HPV e pelo HIV, que podem ocorrer isoladamente ou associadas na mesma gestante.

A infecção pelo HIV é uma DST com prevalência de 2,6% na população obstétrica atendida no HC-FMRP/USP. A assistência pré-natal dessas mulheres é de grande importância para adoção de medidas que controlem a TV deste vírus, reduzam os agravos maternos e proporcionem o diagnóstico e tratamento de outras DSTs, a exemplo da infecção causada pelo HPV. A infecção pelo HIV pode modificar o curso natural das outras DSTs e torna mais difícil o controle da infecção pelo HPV.

Segundo Bosch et al. (2006), a evidência de uma possível interação entre o HPV e o HIV foi reconhecida formalmente quando o câncer cervical foi incluído como um dos critérios definidores da Aids em mulheres portadoras do HIV. Segundo Palefsky (2006), existem poucos dados sugerindo um papel direto do HIV na patogênese das lesões HPV-induzidas, entretanto a supressão da resposta imune contra o HPV associada ao HIV pode permitir a persistência das lesões e tempo para o acúmulo de alterações genéticas importantes para a progressão

para o câncer. O uso da terapia anti-retroviral (TARV) e o estabelecimento de condutas profiláticas para as infecções oportunistas têm resultado em maior sobrevida para as pacientes soropositivas. Este aumento na sobrevida proporcionou o surgimento de novos agravos relevantes, dentre os quais se destacam as lesões precursoras do câncer uterino, principalmente porque a TARV não parece modificar significativamente a história natural do HPV em portadoras do HIV (PALEFSKY, 2003). Para estas mulheres, o diagnóstico e o tratamento da infecção pelo HPV se tornam ainda mais imprescindíveis.

A elevada prevalência da infecção pelo HPV durante a gestação poderia refletir a imunomodulação característica do período gestacional, cujas principais modificações são a redução da atividade e número dos linfócitos T *helper* e supressor. Há recuperação dessas alterações até o 6º mês de puerpério na mulher normal, o que não é observado na portadora do HIV (Quintana, 1997). Segundo Kaushic et al. (2003), a susceptibilidade e a resposta imune às infecções do trato genital inferior são reguladas por hormônios sexuais. Os elevados níveis destes hormônios esteróides na gravidez têm sido responsabilizados pelo aumento da replicação do HPV por estimular os receptores hormonais presentes na superfície viral (MICHELIN et al., 1997).

Essas modificações imunológicas e hormonais tornam a gestante portadora do HIV extremamente susceptível à infecção pelo HPV, entretanto inúmeras questões permanecem controversas. Este trabalho buscou identificar a prevalência da infecção pelo HPV em um grupo de gestantes portadoras do HIV, acompanhadas em serviço de referência de Ribeirão Preto (SP), e compará-la com a estimativa encontrada em gestantes acompanhadas em pré-natal de baixo

risco do mesmo serviço. A hipótese foi que a infecção aumenta a prevalência da infecção pelo HPV em gestantes.

Os resultados obtidos nesta população demonstraram prevalência estimada para a infecção pelo HPV de 79,5% nas gestantes portadoras do HIV, comparada a 58,5% nas gestantes não portadoras desta retrovirose, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Apesar das elevadas estimativas de prevalência para os dois grupos de mulheres estudados, a infecção clínica e/ou subclínica (alteração citológica / alteração na genitoscopia) foi encontrada na minoria das pacientes deste estudo. Estes achados estão de acordo com os dados da literatura que estimam a presença de lesões clínicas ou subclínicas em apenas 5% das pacientes infectadas pelo HPV (KOUTSKY et al., 1997).

Está bem estabelecido na literatura que mulheres portadoras do HIV apresentam alta prevalência de infecção pelo HPV (SUN et al., 1997; PALEFSKY et al., 1999; JAMIESON et al., 2002), sendo essa observação também verificada entre gestantes portadoras do HIV (MINKOFF et al., 2006). Os dados nacionais são oriundos de estudos com mulheres não-grávidas infectadas pelo HIV, cujas prevalências estimadas da infecção pelo HPV variaram de 51% (GRINSZTEJN et al., 2006) a 98% (LEVI et al., 2002).

Os estudos comparando mulheres infectadas ou não pelo HIV apresentam prevalências maiores nas primeiras, sendo as estimativas variáveis para as mulheres com sorologia negativa para o HIV. Os dados publicados por Palefsky et al. (1999) demonstraram a presença do HPV-DNA em 63% e 30% das mulheres portadoras e não portadoras do HIV, respectivamente. Estudo brasileiro identificou positividade para o HPV em cerca de 73% das mulheres portadoras do HIV e em

23% das não portadoras (CAMPOS et al., 2005). Estudo canadense demonstrou elevadas prevalências estimadas da infecção pelo HPV: 73,6% entre mulheres portadoras do HIV e 52,5% entre não portadoras deste retrovírus (HANKINS et al., 2000¹ apud Ferenczy et al., 2003, p. 432).

Entre mulheres sem comorbidades, a prevalência estimada para a infecção pelo HPV variou de 11,4 a 20,3% na América Latina (DE SANJOSÉ et al., 2007). No Brasil, a coorte Ludwig-McGill identificou o HPV-DNA em 14% das mulheres no início do estudo (FRANCO et al., 1999). Outros autores relataram percentuais maiores, variando de 23,7% (CAMPOS et al., 2005) a 58,4% (OLIVEIRA et al., 2006).

A comparação direta dos resultados do presente estudo com prevalências encontradas em outros estudos é limitada em decorrência das diferenças metodológicas e da população de origem. A estimativa obtida para as gestantes portadoras do HIV foi compatível com a literatura, que mostra elevada taxa de acometimento pelo HPV neste grupo de mulheres.

A prevalência da infecção pelo HPV que obtidas nas mulheres não portadoras do HIV foi maior do que a observada em estudos populacionais realizados por Franco et al. (1999) e De Sanjosé et al. (2007), porém similar à obtida em outros (HANKINS et al., 2000 apud¹ Ferenczy et al., 2003, p. 432; OLIVEIRA et al., 2006).

Está bem estabelecido que o pico de prevalência da infecção pelo HPV é em mulheres jovens, nos primeiros anos de atividade sexual (SCHIFFMAN, 1992;

¹ HANKINS, C. et al. Immunosuppression and contraceptive practices associated with persistence of human papillomavirus in HIV-positive and HIV-negative women. In: **International AIDS Conference**, 13th, 2000, Durban, África do Sul. Resumos do evento, [S.1; s.n.], p. 9-14.

KJAER et al., 2000). Visto que neste estudo mais de 60% das pacientes não portadoras do HIV tinha até 25 anos, a prevalência da infecção pelo HPV nessas mulheres pode ter sido superestimada. Na literatura nacional, estudo realizado em São Paulo por Rousseau et al. (2001) descreveu prevalência de 13,8% para a amostra estudada e de 20,6% para as mulheres com menos de 26 anos. Outro estudo brasileiro arrolou cerca de 1400 pacientes com até 25 anos, oriundas de vários estados e demonstrou prevalência variando de 36,3 a 41,2% (SOUZA, 2004). Dados semelhantes foram publicados por Dunne et al. (2007) em avaliação realizada entre mulheres norte-americanas sem comorbidades. Estes autores evidenciaram prevalência estimada de 44,8%, na faixa etária de 20 a 24 anos, contraposta à prevalência geral de 26,8%.

Apesar do pico de prevalência observado no presente estudo ter ocorrido entre as mulheres com menos de 25 anos, a idade não se mostrou como fator de risco para a positividade para o HPV. Outros autores já relataram não ter encontrado tal correlação (MOLANO et al., 2003) ou apenas com HR-HPVs (ROUSSEAU et al., 2000). Entretanto, em revisão feita por Trottier e Franco (2006), a idade aparece como determinante da infecção pelo HPV, ao lado dos aspectos relacionados ao comportamento sexual. Como aproximadamente metade de nossa população amostral tinha até 25 anos, a avaliação da idade como fator de risco para a infecção pelo HPV pode ter sido prejudicada.

Além da idade, outro fator que pode ter contribuído para as elevadas taxas da infecção pelo HPV na população amostral é a gestação. Alguns autores sugerem haver aumento na detecção do HPV-DNA em grávidas (SCHNEIDER et al., 1987; CZEGLÉDY et al., 1987; FIFE et al., 1996; HERNÁNDEZ-GIRÓN et al.,

2005), entretanto a associação do aumento da infecção pelo HPV com o período gestacional é controversa.

O risco de ser portadora do HPV foi associado à presença da infecção pelo HIV, independente de outras variáveis, como mostrou a análise estratificada. Este resultado está de acordo com a literatura (SUN et al., 1997; PALEFSKY et al., 1999; JAMIESON et al., 2002; LEVI et al., 2002). A prevalência da infecção pelo HPV em mulheres portadoras do HIV sofre influência de parâmetros imunológicos das pacientes. Aproximadamente metade da amostra deste trabalho apresentou nível de linfócitos T CD₄⁺ maior que 500 células/mm³ e carga viral do HIV inferior a 1000 cópias/ml, sugerindo bom estado imunológico das pacientes. Dentre as pacientes portadoras do HIV, houve maior risco de positividade para o HPV com o decréscimo das células T CD₄⁺ e o aumento da quantificação do HIV, dados compatíveis com o conhecimento atual, previamente relatados por Palefsky et al. (1999) e Strickler et al. (2005).

No atual trabalho, a identificação de mais de um tipo de HPV foi mais freqüente nas pacientes portadoras do HIV, dados consoantes com achados da literatura (LEVI et al., 2002). A infecção por múltiplos tipos virais não parece aumentar a probabilidade de persistência da infecção causada por um tipo do HPV (ROUSSEAU et al., 2001) e também não está associada a maior risco de câncer cervical quando comparada às infecções causadas por apenas um tipo do HPV (BOSCH et al., 2002; MUÑOZ et al., 2003).

Quanto ao tipo de HPV presente na população de gestantes avaliadas neste estudo, observou-se que o risco das pacientes portadoras do HIV estarem infectadas por HR-HPVs foi duas vezes maior que o das gestantes sem a

retrovirose. De acordo com Ferenczy et al. (2003), as mulheres portadoras do HIV têm maior probabilidade de estar infectadas por HPVs oncogênicos, inclusive os tipos 16 e 18, sendo estes achados posteriormente confirmados em estudo realizado na África do Sul por Moodley et al. (2006). Há relato de aumento dos HPVs não oncogênicos nas pacientes portadoras do HIV (PALEFSKY et al., 1999), entretanto os LR-HPVs tiveram distribuição semelhante entre os grupos do presente estudo. Tal achado pode ser decorrente da maior frequência de infecção pelo HPV 11 obtida nas gestantes negativas para o HIV, o que pode representar um padrão específico de distribuição dos HPVs na população originária da amostra, já que existem variações geográficas na distribuição dos tipos de HPV (CLIFFORD et al., 2005). Esse dado deve ser interpretado com cautela, e a realização de estudo mais amplo será útil na avaliação da distribuição dos tipos virais na região estudada.

Os tipos mais frequentes no estudo atual foram os HPVs 16 e 6 nas pacientes portadoras do HIV. Estudo brasileiro realizado por Levi et al. (2002) identificou o HPV 6 como sendo o mais freqüente em mulheres infectadas pelo HIV. Comparando-se a prevalência dos quatro tipos virais tipificados neste estudo (6, 11, 16 e 18), observou-se diferença na distribuição dos tipos virais entre os grupos de gestantes positivas e negativas para o HIV, entretanto apenas para o HPV 6 esta diferença foi significativa. Em 1999, Palefsky et al. também relataram maiores prevalências estimadas para os tipos virais abordados em nosso estudo nas mulheres portadoras quando comparadas às não portadoras do HIV. A determinação da prevalência da infecção pelo HPV e dos principais tipos virais é essencial para o estabelecimento das taxas de TV e da sua relevância para a vida

futura daqueles que são infectados dessa forma. Além disso, a estimativa da prevalência dos HPVs 6 e 11, responsáveis pela papilomatose de laringe, possibilita a identificação dos fatores de risco para essa afecção. Com o advento de vacinas contra o HPV, a determinação dos tipos mais prevalentes deste vírus na população sexualmente ativa é essencial para mensurar o impacto populacional da utilização desses métodos profiláticos.

Além da infecção pelo HIV, o tabagismo aumentou o risco de ser portadora do HPV. Este dado está de acordo com a literatura que tem identificado o hábito de fumar com aumento do risco de infecção pelo HPV (ROUSSEAU et al., 2000; WATTS et al., 2005). Estudo recente identificou o tabagismo como fator de risco independente para a aquisição de HR-HPV (SYRJÄNEN et al., 2007). A exposição ao tabaco parece afetar a resposta imune do hospedeiro à infecção viral, já que os produtos da nicotina e alcatrão podem reduzir o número de células de Langerhans e de outros marcadores imunes, dificultando o *clearance* viral (CASTELLSAGUÉ & MUÑOZ, 2003).

Relato de DST na paciente ou no parceiro aumentaram o risco de ser portadora do HPV. Por se tratarem de infecções de transmissão sexual, a exposição aos diversos agentes causadores destas doenças é semelhante, aumentando a probabilidade de ter adquirido outra DST. Segundo Burchell et al. (2006), as infecções genitais poderiam exercer papel facilitador para a aquisição do HPV, devido a alterações inflamatórias locais e à presença de microabrasões, ou para a persistência viral através de mudanças imunológicas no microambiente genital. Já existem relatos associando a presença de clamídia e de vaginose bacteriana com a infecção pelo HPV (SAMOFF et al., 2005; WATTS et al., 2005).

Outros autores relacionaram a positividade para o HPV com a presença de anticorpos para o vírus Herpes simples tipo 2 (PHAM et al., 2003).

A presença de união estável foi fator protetor para ser portadora do HPV. Tal correlação foi demonstrada também por outros autores (BURK et al., 1996; SHIN et al., SOUZA, 2004). Essa variável poderia se correlacionar indiretamente com o número de parceiros recentes, que está associado à infecção pelo HPV (BOSCH; QIAO; CASTELLSAGUÉ, 2006), inclusive com LR-HPVs (ROUSSEAU et al., 2000). Apesar de não ter atingido nível significativo, número de parceiros sexuais inferior a cinco durante a vida apresentou menor risco de infecção pelo HPV. O número de parceiros sexuais é determinante consistente da infecção pelo HPV (HO et al., 1998; WINER et al., 2003; VACCARELLA et al., 2006). Maior risco de infecção pelo HPV associado a mais de três parceiros durante a vida sexual foi identificado por Souza (2004).

No presente estudo, idade no primeiro coito inferior a 16 anos não foi fator de risco para a infecção pelo HPV, dado que pode ter decorrido do grande número de gestantes cujo primeiro coito ocorreu com menos de 16 anos (62%). Outros estudos também não encontraram associação entre idade de início da atividade sexual e infecção pelo HPV (PEYTON et al., 2001; MOLANO et al., 2003; SOUZA, 2004). Já em revisão feita por Bosch, Qiao e Castellsagué (2006), estes autores postulam a idade de início da vida sexual como determinante para a aquisição do HPV, apesar de não explicitarem qual a idade avaliada e para que tipo de HPV. Para Rousseau et al. (2000), a idade precoce no primeiro coito parece ter maior risco apenas para os HR-HPVs. Não foi possível avaliar estas associações no presente estudo pelo reduzido tamanho amostral.

A literatura é bastante controversa na associação entre o número de gestações e paridade e risco de infecção pelo HPV. Há descrição de associação positiva entre paridade e infecção pelo HPV (HILDESHEIM et al., 1993), enquanto outros autores descrevem associação negativa (LAZCANO-PONCE et al., 2001; PHAM et al., 2003) ou ainda não haver tal relação (PEYTON et al., 2001; MOLANO et al., 2003; SOUZA, 2004). A multiparidade tem sido associada à carcinogênese cervical (CASTELLSAGUÉ & MUÑOZ, 2003), porém seu papel na infecção pelo HPV não está estabelecido. No presente estudo houve diminuição do risco de ser portadora do HPV para gestantes com menor número de gestações e partos.

As gestantes com idade gestacional abaixo de 34 semanas apresentaram maior risco de serem portadoras do HPV, mesmo após o ajuste para a infecção pelo HIV. Os dados existentes sobre a influência da IG na infecção pelo HPV são inconsistentes, havendo autores que relatam associação positiva (SMITH et al., 1991) e negativa (FIFE et al., 1999) entre IG e positividade para o HPV. Em sua maioria, os dados provêm de estudos transversais e os estudos longitudinais existentes compararam gestantes e não gestantes e descreveram redução da positividade para o HPV no puerpério, porém não avaliaram a evolução da infecção pelo HPV durante as diferentes semanas da gravidez (CHANG-CLAUDE et al., 1996; NOBBENHUIS et al., 2002).

O presente estudo corrobora os dados da literatura sobre a prevalência mais elevada da infecção pelo HPV em mulheres portadoras do HIV. A avaliação de mulheres não-grávidas provenientes da mesma população poderia ajudar a elucidar o papel da gestação na prevalência da infecção pelo HPV. Avaliando

trinta e três pacientes portadoras do HIV no mesmo serviço onde foi realizado este estudo, observou-se positividade para o HPV em 30% das pacientes. Entretanto, a média de idade deste estudo foi maior que a do trabalho atual, e o par de *primers* consensuais utilizado para a técnica da PCR foi o MY9/11 (PAULO et al., 2007).

Deve-se ressaltar que o delineamento do estudo, o tamanho amostral e a amostragem não aleatória, restrita a serviço de referência, limitam a generalização dos dados obtidos para a população. Estudos com casuística maior, baseada na população, poderiam confirmar os resultados obtidos. A literatura ainda carece de estudos longitudinais que estabeleçam a real influência da gestação na detecção do HPV. Existem outros fatores a serem avaliados, tais como o comportamento da carga viral do HPV e a influência da co-infecção com o HIV no decorrer da gestação.

As mulheres infectadas pelo HIV são de grande interesse para a utilização de vacinas para o HPV devido a sua maior susceptibilidade ao HPV. A eficácia dessas vacinas dependeria de vários fatores, dentre eles do acometimento prévio pelos tipos de HPV incluídos na vacina. Em nosso estudo, cerca de 80% das mulheres portadoras do HIV albergavam ao menos um dos tipos da vacina quadrivalente, já aprovada para uso profilático.

Atualmente, é recomendada realização de duas citologias cervicais com intervalo de seis meses após o diagnóstico da infecção pelo HIV, passando à coleta anual caso os dois exames prévios tenham sido negativos (FERENCZY et al., 2003). O rastreamento do HPV através da biologia molecular poderia ser ferramenta útil no seguimento mais acurado dessas pacientes, já que o maior acometimento dessas mulheres pelos tipos oncogênicos do HPV e a supressão da

vigilância imunológica facilitariam a persistência do HPV, etapa fundamental no processo de carcinogênese cervical.

A identificação da assistência pré-natal como o principal momento de diagnóstico da infecção pelo HIV é de extrema relevância. No presente estudo, 80% das grávidas portadoras do HIV tiveram conhecimento desta infecção durante algum acompanhamento pré-natal, realçando sua importância para a identificação e a profilaxia das DSTs. Segundo Araújo, Vieira e Bucher (2006),

os momentos de atendimento à mulher representam espaços oportunos para a realização do aconselhamento e para o acompanhamento e apoio às medidas preventivas. Um desses espaços importantes é o atendimento pré-natal, considerando que geralmente este é o primeiro contato da mulher grávida com a atenção básica e que se deve estabelecer um vínculo entre a gestante e o profissional.

Levando-se em consideração a maior susceptibilidade das mulheres portadoras do HIV à infecção pelo HPV e ao câncer cervical e a dificuldade de acesso da população aos serviços de saúde, o pré-natal se configura como momento oportuno para o rastreamento do HPV e outras DSTs.

Este trabalho é o primeiro estudo avaliando gestantes portadoras ou não do HIV em relação à infecção pelo HPV na região de Ribeirão Preto (SP) e mostrou a necessidade de prosseguir nas investigações acerca da epidemiologia da infecção pelo HPV em nível regional e nacional para estabelecer o padrão desta DST no Brasil. Além disso, a elevada prevalência da infecção pelo HPV em ambos os grupos de gestantes demonstra a necessidade de determinar a importância clínica da forma latente para a transmissão vertical, a fim de que sejam estabelecidas condutas assistenciais adequadas para o seguimento destas mulheres durante e

após a gravidez e também de seus filhos. A divulgação destes resultados contribuirá para a discussão de novos protocolos para a assistência à saúde da mulher pelos gestores de saúde, em especial durante o ciclo grávido-puerperal das mulheres infectadas pelo HIV.

Conclusões

6 CONCLUSÕES

- A prevalência da infecção pelo HPV em gestantes foi de 68%.
- A prevalência da infecção pelo HPV em gestantes portadoras do HIV foi de 79,5%.
- A prevalência da infecção pelo HPV em gestantes de baixo risco foi de 58,5%.
- A prevalência da infecção pelo HPV foi maior em gestantes portadoras do HIV do que em não portadoras do HIV.
- A prevalência da infecção por HPV's oncogênicos foi maior em gestantes portadoras do HIV do que em não portadoras do HIV.
- Baixa contagem de linfócitos T CD4+ e elevada carga viral do HIV foram fatores associados a maior risco de infecção pelo HPV em gestantes portadoras do HIV.
- Tabagismo e relato de DST na paciente ou em seu parceiro aumentaram o risco de ser portadora do HPV.
- O risco de ser portadora do HPV foi menor com o relato de união estável e menor número de parceiros e de partos.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ARAÚJO, M. A. L.; VIEIRA, N. F. C.; BUCHER, J. S. N. F. Aconselhamento pré e pós-teste anti-HIV como estratégia de melhoria da cobertura de testagem em gestantes e prevenção da transmissão vertical do HIV. **Boletim Epidemiológico – Aids e DST**, Brasília, ano III, n. 1, p. 16-22, jan.-jun. 2006.

ARMBRUSTER-MORAES, E. et al. Prevalence of 'high-risk' human papillomavirus in the lower genital tract of Brazilian gravidas. **Int J Gynecol Obstet**, [S.1], v. 69, n. 3, p. 223-7, jun. 2000.

ARMBRUSTER-MORAES, E. et al. Presence of human papillomavirus DNA in amniotic fluids of pregnant women with cervical lesions. **Gynecol Oncol**, [S.1], v. 54, n. 2, p. 152-8, ago. 1994.

ARMSTRONG, L. R. et al. Incidence and prevalence of recurrent respiratory papillomatosis among children in Atlanta and Seattle. **Clin Infect Dis**, [S.1], v. 31, n. 1, p. 107-9, jul. 2000.

BASEMAN, J. G.; KOUTSKY, L. A. The epidemiology of human papillomavirus infections. **J Clin Virol**, [S.1], v. 32, supl. 1, p. S16-24, mar. 2005.

BAUER, H. M. et al. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. **JAMA**, [S.1], v. 265, n. 4, p. 472-7, nov. 1991.

BERNARD, H. U. et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence and phylogenetic algorithms. **J Infect Dis**, [S.1], v. 170, n. 5, p. 1077-85, nov. 1994.

BOLLEN, L. J. M. et al. Human papillomavirus (HPV) detection among human immunodeficiency virus-infected pregnant thai women: implications for future HPV immunization. **Sex Transm Dis**, [S.1], v. 33, n. 4, p. 259-64, abr. 2006.

BOSCH, F. X.; QIAO, Y. L.; CASTELLSAGUÉ, X. Chapter 2: The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. **Int J Gynecol Obstet**, [S.1], v. 94, supl. 1, p. S8-21, nov. 2006.

BOSCH, F. X. et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. **J Clin Pathol**, [S.1], v. 55, n. 4, p. 244-65, abr. 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. **Manual de Controle das Doenças Sexualmente**

Transmissíveis. 4ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 140 p. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>. Acesso em: 01 maio 2006.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Recomendações para profilaxia da transmissão vertical do HIV e terapia anti-retroviral em gestantes.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 176 p. Disponível em: www.aids.gov.br. Acesso em: 20 set. 2007.

BURCHELL, A. N. et al. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*, [S.1], v. 24, supl. 3, p. 52-61, ago. 2006.

BURK, R. D. et al. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. **Sex Transm Dis**, [S.1], v. 23, n. 4, p. 333-41, jul.-ago. 1996.

CAMPOS, R. R. et al. Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana. **Rev Bras Ginecol Obstet**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 5, p. 248-56, abr. 2005.

CASTELLSAGUÉ, X.; MUÑOZ, N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis – role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. **J Natl Cancer Inst Monogr**, [S.1], v. 2003, n. 31, p. 20-8, jun. 2003.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION. 1993 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. **MMWR Recomm Rep**, Atlanta, v. 41, n. 17, p. 1-19, dez. 1992.

CERQUEIRA, D. M. et al. High HPV diversity in women infected with HIV-1 in Brazil. *Arch Virol*, [S.1], v. 152, n. 1, p. 75-83, jan. 2007.

CHAN, P. K. S. et al. Prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus infection: comparison between pregnant women and non-pregnant controls. **J Med Virol**, [S.1], v. 67, n. 4, p. 583-8, ago. 2002.

CHANG-CLAUDE, J. et al. Longitudinal study of the effects of pregnancy and other factors on detection of HPV. **Gynecol Oncol**, [S.1], v. 60, n. 3, p. 355-362, mar. 1996.

CHECKOWAY, H.; PEARCE, N. E.; CRAWFORD-BROWN, D. J. Cross-Sectional Studies. In: _____. **Research Methods in Occupational Epidemiology.** New York: Oxford University Press, 1989. p. 202-30.

CLIFFORD, G. M. et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer

HPV prevalence surveys: a pooled analysis. **Lancet**, [S.1], v. 366, n. 9490, p. 991-8, set. 2005.

CLIFFORD, G. M. et al. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. **Br J Cancer**, [S.1], v. 89, n. 1, p. 101-5, jul. 2003.

DE LIMA SOARES, V. et al. Sexually transmitted infections in a female population in rural north-east Brazil: prevalence, morbidity and risk factors. **Trop Med Int Health**, [S.1], v. 8, n. 7, p. 595-603, jul. 2003.

DE RODA HUSMAN, A. M. et al. HPV prevalence in cytomorphologically normal cervical scrapes of pregnant women as determined by PCR: the age-related pattern. **J Med Virol**, [S.1], v. 46, n. 2, p. 97-102, jun. 1995a.

DE RODA HUSMAN, A. M. et al. The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. **J Gen Virol**, [S.1], v. 76, n. 4, p. 1057-62, abr. 1995b.

DE SANJOSÉ, S. et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **Lancet Infect Dis**, [S.1], v. 7, n. 7, p. 453-9, jul. 2007.

DE VILLIERS, E. M. et al. Classification of papillomaviruses. **Virology**, [S.1], v. 324, n. 1, p. 17-27, jun. 2004.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **J Clin Virol**, [S.1], v. 32, supl. 1, p. S7-S15, mar. 2005.

DUARTE, G. Papilomavírus Humano. In: _____. **Diagnóstico e conduta nas infecções ginecológicas e obstétricas**. 2ª. Edição. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2004. p:21-7.

DUERR, A. et al. Effect of HIV infection on atypical squamous cells of undetermined significance. **Clin Infect Dis**, [S.1], v. 42, n. 6, p. 855-61, mar. 2006.

DUNNE, E. F. et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. **JAMA**, [S.1], v. 297, n. 8, p. 813-9, fev. 2007.

DUNNE, E. F.; MARKOWITZ, L. E. Genital Human Papillomavirus Infection. **Clin Infect Dis**, [S.1], v. 43, n. 5, p. 624-9, set. 2006.

EPPEL, W. et al. Human papillomavirus in the cervix and placenta. **Obstet Gynecol**, [S.1], v. 96, n. 3, p. 337-41, set. 2000.

FERENCZY, A. Epidemiology and clinical pathophysiology of condylomata acuminata. **Am J Obst Gynecol**, [S.1], v. 172, n. 4, abr. 1995.

FERENCZY, A. et al. Human papillomavirus and HIV coinfection and the risk of neoplasias of the lower genital tract: a review of recent developments. **CMAJ**, [S.1], v. 169, n. 5, p. 431-4, set. 2003.

FIFE, K. H. et al. Cervical human papillomavirus deoxyribonucleic acid persists throughout pregnancy and decreases in the postpartum period. **Am J Obstet Gynecol**, [S.1], v. 180, n. 5, p. 1110-4, maio 1999.

FIFE, K. H. et al. Cancer-associated human papillomavirus types are selectively increased in the cervix of women in the first trimester of pregnancy. **Am J Obstet Gynecol**, [S.1], v. 174, n. 5, p. 1487-93, maio 1996.

FRANCO, E. L. et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. **J Infect Dis**, [S.1], v. 180, n. 5, p. 1415-23, nov. 1999.

GHAZAL-ASWAD, S. et al. Cervical smear abnormalities in the United Arab Emirates: a pilot study in the Arabian Gulf. **Acta Cytol**, [S.1], v. 50, n. 1, p. 41-7, jan.-fev. 2006.

GLOSS, K. et al. The upstream regulatory region of the human papillomavirus-16 contains an E2 protein-independent enhancer which is specific for cervical carcinoma cells and regulated by glucocorticoid hormones. **EMBO J**, [S.1], v. 6, n. 12, p. 3735-44, dez. 1987.

GONÇALVES, M. A. et al. Relationship between human papillomavirus (HPV) genotyping and genital neoplasia in HIV-positive patients of Santos City, São Paulo, Brazil. **Int J STD AIDS**, [S.1], v. 10, n. 12, p. 803-7, dez. 1999.

GREER, C. E. et al. Human papillomavirus (HPV) type distribution and serological response to HPV type 6 virus-like particles in patients with genital warts. **J Clin Microbiol**, [S.1], v. 33, n. 8, p. 2058-63, ago. 1995.

GRINSZTEJN, B. et al. Assessing sexually transmitted infections in a cohort of women living with HIV/AIDS, in Rio de Janeiro, Brazil. **Int J STD AIDS**, [S.1], v. 17, n. 7, p. 473-8, jul. 2006.

HERMONAT, P. L. et al. Human papillomavirus is more prevalent in first trimester spontaneously aborted products of conception compared to elective specimens. **Virus Genes**, [S.1], v. 14, n. 1, p. 13-7, jan. 1997.

HERNÁNDEZ-GIRÓN, C. et al. High-risk human papillomavirus detection and related risk factors among pregnant and nonpregnant women in Mexico. **Sex Transm Dis**, [S.1], v. 32, n. 10, p. 613-618, out. 2005.

HERRERO, R. et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. **J Natl Cancer Inst**, [S.1], v. 92, n. 6, p. 464-74, mar. 2000.

HIGUCHI, R. G.; OCHMAN, H. Production of single-stranded DNA templates by exonuclease digestion following the polymerase chain reaction. **Nucleic Acids Res**, [S.1], v. 17, n. 14, p. 5865, jul. 1989.

HILDESHEIM, A. et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-income women in Washington, D. C. **Sex Transm Dis**, [S.1], v. 20, n. 5, p. 279-85, set.-out. 1993.

HO, G. Y. et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **N Engl J Med**, [S.1], v. 338, n. 7, p. 423-8, fev. 1998.

JAMIESON, D. J. et al. Characterization of genital human papillomavirus infection in women who have or who are at risk of having HIV infection. **Am J Obstet Gynecol**, [S.1], v. 186, n. 1, p. 21-7, jan. 2002.

JAMIESON, D. J.; THEILER, R. N.; RASMUSSEN, S. A. Emerging infections and pregnancy. **Emerg Infect Dis**, [S.1], v. 12, n. 11, p. 1638-43, nov. 2006.

KAUSHIC, C. et al. Progesterone increases susceptibility and decreases immune responses to genital herpes infection. **J Virol**, [S.1], v. 77, n. 8, p. 4558-65, abr. 2003.

KJAER, S. K. et al. Human papillomavirus infection in Danish female sex workers. Decreasing prevalence with age despite continuously high sexual activity. **Sex Transm Dis**, [S.1], v. 27, n. 8, p. 438-45, set. 2000.

KOJIC, E. M.; CU-UVIN, S. Update: human papillomavirus infection remains highly prevalent and persistent among HIV-infected individuals. **Curr Opin Oncol**, [S.1], v. 19, n. 5, p. 464-9, set. 2007.

KOUTSKY, L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. **Am J Med**, [S.1], v. 102, n. 5A, p. 3-8, maio 1997.

LAUKKANEN, P. et al. Time trends in incidence and prevalence of human papillomavirus type 6, 11 and 16 infections in Finland. **J Gen Virol**, [S.1], v. 84, n. 8, p. 2105-9, ago. 2003.

LAZCANO-PONCE, E. et al. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. **Int J Cancer**, [S.1], v. 91, n. 3, p. 412-20, fev. 2001.

LEVI, J. E. et al. High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. **J Clin Microbiol**, [S.1], v. 40, n. 9, p. 3341-5, set. 2002.

LOPES, F. et al. HIV, HPV, and syphilis prevalence in a women's penitentiary in the city of Sao Paulo, 1997-1998. **Cad Saude Publica**, [S.1], v. 17, n. 6, p. 1473-80, nov.-dez. 2001.

MASSAD, L. S. et al. Prevalence and predictors of squamous cell abnormalities in Papanicolaou smears from women infected with HIV-1. Women's Interagency HIV Study Group. **J Acq Immun Defic Syndr Hum Retrovirol**, [S.1], v. 21, n. 1, p. 33-41, maio 1999.

MEDEIROS, L. R. et al. Vertical transmission of the human papillomavirus: a systematic quantitative review. **Cad Saude Publica**, [S.1], v. 21, n. 4, p. 1006-15, jul.-ago. 2005.

MELLO, I. S. Colposcopia. In: MARTINS, N.V.; RIBALTA, J.C.L (Eds.). **Patologia do Trato Genital Inferior**. São Paulo: Roca, 2005. p. 491-502.

MERCK & CO. **HPV-16 Genome**. 2006. Disponível em: <http://www.merckmedicus.com.br>. Acesso em 24 set. 2007.

MICHELIN, D. et al. Regulation of human papillomavirus type 18 in vivo: effects of estrogen and progesterone in transgenic mice. **Gynecol Oncol**, [S.1], v. 66, n. 2, p. 202-8, ago. 1997.

MINKOFF, H. et al. Relationship of pregnancy to human papillomavirus among human immunodeficiency virus-infected women. **Obstet Gynecol**, [S.1], v. 108, n. 4, p. 953-960, out. 2006.

MOLANO, M. et al. Determinants of clearance of human papillomavirus infections in colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. **Am J Epidemiol**, [S.1], v. 158, n. 5, p. 486-94, set. 2003.

MOODLEY, J. R. et al. HIV and pre-neoplastic and neoplastic lesions of the cervix in South Africa: a case-control study. **BMC Cancer**, [S.1], v. 6, p. 135-40, maio 2006.

MOSCICKI, A.-B. et al. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. **Vaccine**, [S.1], v. 24, supl. 3, p. 42-51, ago. 2006.

MUÑOZ, N. et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **N Engl J Med**, [S.1], v. 348, n. 6, p. 518-527, fev. 2003.

NONNENMACHER, B. et al. Genital human papillomavirus infection identification by molecular biology among asymptomatic women. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 95-100, fev. 2002.

OLIVEIRA, L. H. S. et al. Human papillomavirus status and cervical abnormalities in women from public and private health care in Rio de Janeiro state, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 5, p. 279-85, set.-out. 2006.

PALEFSKY, J. M. Biology of HPV in HIV infection. **Adv Dent Res**, [S.1], v. 19, n. 1, p. 99-105, abr. 2006.

PALEFSKY, J. M. Cervical human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in women positive for human immunodeficiency virus in the era of highly active antiretroviral therapy. **Curr Opin Oncol**, [S.1], v. 15, n. 5, p. 382-8, set. 2003.

PALEFSKY, J. M. et al. Cervicovaginal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. **J Natl Cancer Inst**, [S.1], v. 91, n. 3, p. 226-36, fev. 1999.

PAULO, M. et al. The environmental cofactors in carcinogenesis in high risk HPV/HIV-positive women. **Braz J Infect Dis**, [S.1], v. 11, n. 2, p. 189-95, abr. 2007.

PEYTON, C. L. et al. Determinants of genital human papillomavirus detection in a US population. **J Infect Dis**, [S.1], v. 183, n. 11, p. 1554-64, jun. 2001.

PHAM, T. H. et al. Human papillomavirus infection among women in South and North Vietnam. **Int J Cancer**, [S.1], v. 104, n. 2, p. 213-20, mar. 2003.

QUINTANA, S. M. **Avaliação longitudinal de aspectos imunológicos e virológicos durante a gravidez e puerpério em mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1)**. 1997. 141 f. Tese (Doutorado em Tocoginecologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

RICHARDSON, H. et al. The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, [S.1], v. 12, n. 6, p. 485-90, jun. 2003.

ROUSSEAU, M. C. et al. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. **J Infect Dis**, [S.1], v. 184, n. 12, p. 1508-17, dez. 2001.

ROUSSEAU, M. C. et al. A cumulative case-control study of risk factor profiles for oncogenic and nononcogenic cervical human papillomavirus infections. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, [S.1], v. 9, n. 5, p. 469-76, 2000.

SAMOFF, E. et al. Association of Chlamydia trachomatis with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. **Am J Epidemiol**, [S.1], v. 162, n. 7, p. 668-75, out. 2005.

SANTOS, F. E. **Identificação do papilomavírus humano em gestantes adolescentes por meio de captura híbrida II: correlação com a colpocitologia oncótica convencional, em base líquida e colposcopia**. 2006. 126 f. Dissertação (Mestrado em Obstetrícia e Ginecologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SCHEURER, M. E.; TORTOLERO-LUNA, G.; ADLER-STORTHZ, K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. **Int J Gynecol Cancer**, [S.1], v. 15, n. 5, p. 727-46, set.-out. 2005.

SCHIFFMAN, M. H. Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. **J Natl Cancer Inst**, [S.1], v. 84, n. 6, p. 394-8, mar. 1992.

SCHIFFMAN, M. H. et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. **J Natl Cancer Inst**, [S.1], v. 85, n. 12, p. 958-64, jun. 1993.

SCHNEIDER, A.; HOTZ, M.; GISSMANN, L. Increased prevalence of human papillomaviruses in the lower genital tract of pregnant women. **Int J Cancer**, [S.1], v. 40, n. 2, p. 198-201, ago. 1987.

SEDLACEK, T. V. et al. Mechanism for human papillomavirus transmission at birth. **Am J Obstet Gynecol**, [S.1], v. 161, n. 1, p. 55-9, jul. 1989.

SHIBATA, D.; ARNHEIM, N.; MARTIN, W. J. Detection of human papillomavirus in paraffin-embedded tissue using the polymerase chain reaction. **J Exp Med**, [S.1], v. 167, n. 1, p. 225-30, jan. 1988.

SHEW, M. et al. Association of condom use, sexual behaviors, and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. **Arch Pediatr Adolesc Med**, [S.1], v. 160, n. 2, p. 151-6, fev. 2006.

SHIN, H. R. et al. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Busan, South Korea. **Int J Cancer**, [S.1], v. 103, n. 3, p. 413-21, jan. 2003.

SILVERBERG, M. J. et al. Condyloma in pregnancy is strongly predictive of juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. **Obstet Gynecol**, [S.1], v. 101, n. 4, p. 645-52, abr. 2003.

SMITH, E. M. et al. Persistent HPV infection in postmenopausal women. **Int J Gynaecol Obstet**, [S.1], v. 87, n. 2, p. 131-7, nov. 2004.

SMITH, E. M. et al. The association between pregnancy and human papilloma virus prevalence. **Cancer Detect Prev**, [S.1], v. 15, n. 5, p. 397-402, 1991.

SOLOMON, D. et al. The 2001 Bethesda System – Terminology for reporting results of cervical cytology. **JAMA**, [S.1], v. 287, n. 16, p. 2114-9, abr. 2002.

SOUZA, E. P. **Epidemiologia da infecção genital por HPV e anormalidades na citologia cervical em mulheres jovens brasileiras**. 2004. 151 f. Tese (Doutorado em Tocoginecologia) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2004.

STRICKLER, H. D. et al. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus – positive women. **J Natl Cancer Inst**, [S.1], v. 97, n. 8, p. 577-86, abr. 2005.

STRICKLER, H. D. et al. Human papillomavirus type 16 and immune status in human immunodeficiency virus-seropositive women. **J Natl Cancer Inst**, [S.1], v. 95, n. 14, p. 1062-71, jul. 2003.

SUN, X. W. et al. Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. **N Engl J Med**, [S.1], v. 337, n. 19, p. 1343-9, nov. 1997.

SYRJÄNEN, K. et al. Smoking is an independent risk factor for oncogenic human papillomavirus (HPV) infections but not for high-grade CIN. **Eur J Epidemiol**, [S.1], v. 22, n. 10, p. 723-35, set. 2007.

SYRJÄNEN, K.; SYRJÄNEN, S. Prevalence of genital human papillomavirus infections in a mass-screened Finnish female population aged 20-65 years. **Int J STD AIDS**, [S.1], v. 1, n. 6, p. 410-5, nov. 1990.

TENTI, P. et al. Latent human papillomavirus infection in pregnant women at term: a case-control study. **J Infect Dis**, [S.1], v. 176, n. 1, p. 277-80, jul. 1997.

TROTTIER, H.; FRANCO, E. L. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. **Vaccine**, [S.1], v. 24, supl. 1, p. S1-15, mar. 2006.

TSENG, C-J. et al. Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: relationship between infection rate and mode of delivery. **Obstet Gynecol**, [S.1], v. 91, n. 1, p. 92-6, jan. 1998.

VACCARELLA, S. et al. Sexual behavior, condom use, and human papillomavirus: pooled analysis of the IARC Human Papillomavirus Prevalence Surveys. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, [S.1], v. 15, n. 2, p. 326-33, fev. 2006.

VAN HOWE, R. S. Human papillomavirus and circumcision: a meta-analysis. **J Infect**, [S.1], v. 54, n. 5, p. 490-6, maio 2007.

WALBOOMERS, J. M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **J Pathol**, [S.1], v. 189, n. 1, p. 12-9, set. 1999.

WALKER, P. et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. **Obstet Gynecol**, [S.1], v. 101, n. 1, p. 175-7, jan. 2003.

WATTS, D. H. et al. Effects of bacterial vaginosis and other genital infection on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. **J Infect Dis**, [S.1], v. 191, n. 7, p. 1129-39, abr. 2005.

WINER, R. L. et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. **N Engl J Med**, [S.1], v. 354, n. 25, p. 2645-54, jun. 2006.

WINER, R. L.; KOUTSKY, L. A. Delivering reassurance to parents: perinatal human papillomavirus is rare. **Sex Transm Dis**, [S.1], v. 31, n. 1, p. 63-4, jan. 2004.

WINER, R. L. et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. **Am J Epidemiol**, [S.1], v. 157, n. 3, p. 218-26, fev. 2003.

WOODMAN, C. B. et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. **Lancet**, [S.1], v. 357, n. 9271, p. 1831-6, jun. 2001.

WORDA, C. et al. Prevalence of cervical and intrauterine human papillomavirus infection in the third trimester in asymptomatic women. **J Soc Gynecol Investig**, [S.1], v. 12, n. 6, p. 440-4, set. 2005.

* Modelo de referências de acordo com:
Associação Brasileira de Normas (ABNT) – NBR 6023.

ANEXOS

ANEXO A - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**
Comitê de Ética em Pesquisa

Fone: (16) 3602-2228 / Fax: (16) 3633-1144
cep@hcrp.fmrp.usp.br www.hcrp.fmrp.usp.br

Campus Universitário - Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP

Ribeirão Preto, 05 de abril de 2006

Ofício nº 901/2006
CEP/MGV

Prezada Professora:

O trabalho intitulado “**DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA DA INFECÇÃO PELO PAPILOMA VÍRUS HUMANO (HPV) DE ALTO E BAIXO RISCO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (PCR-RT), NO CONTEÚDO CÉRVICO-VAGINAL DE GESTANTES INFECTADAS OU NÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 (HIV-1)**”, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 222ª Reunião Ordinária realizada em 03/04/2006, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 16105/2005.

Aproveito a oportunidade para apresentar a Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa do
HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssima Senhora
PROFª DRª SILVANA MARIA QUINTANA
Depto. de Ginecologia e Obstetria
Em mãos

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO. **FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO-USP
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA**

Av. Bandeirantes, 3900 - 8º andar - Ribeirão Preto-SP - CEP 14049- 900
Fone (016) 633-0216 - Fax (016) 633-9633

PESQUISA CIENTÍFICA**TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO**

Nome da paciente:.....

Data de Nascimento / Idade:

Registro HC e/ou documento de identificação:.....

NOME DA PESQUISA: *“Determinação da Frequência da Infecção pelo Papiloma*

*Vírus Humano (HPV) de alto e baixo risco através da
Técnica de Reação em Cadeia de Polimerase em
Tempo Real (PCR-RT), no conteúdo cérvico-vaginal de
gestantes infectadas ou não pelo Vírus da
Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV-1).”*

RESPONSÁVEL CLÍNICO: Prof^ª. Dr^a Silvana Maria Quintana

CRM: 67715

Número USP: 1926147

Endereço: Av. Bandeirantes, 3900, 8º andar.

Telefone: (16) 3633-0216 / 3602-2804

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Declaro que em/...../..... fui convidada e concordei voluntariamente em participar, como paciente do projeto de pesquisa acima referido. Fui devidamente informada em detalhes pela médica responsável que:

1- O estudo implica em que eu me submeta a exames complementares e tratamentos devidamente planejados, conforme texto a seguir:

O objetivo desta pesquisa é avaliar qual o número de grávidas que possuem a infecção por um vírus, o Papiloma Vírus Humano (HPV). Este vírus pode ser adquirido através da relação sexual e pode ficar muito tempo no organismo sem se manifestar, ou seja, sem que a paciente apresente qualquer sinal ou sintoma. Será realizado exame ginecológico usando um aparelho especial que aumenta muitas vezes a imagem do colo do útero. No caso de detectarmos alguma anormalidade durante o exame, será realizada a retirada de um minúsculo pedaço do colo do seu útero e nós chamamos isto de biópsia. Este procedimento não causará qualquer prejuízo para você e para seu bebê e somente após este procedimento poderemos responder o que significa a área alterada no colo do útero. É importante que você saiba que mesmo as pacientes que não fazem parte do estudo realizam a biópsia quando o exame ginecológico está alterado para esclarecer as alterações detectadas. Este estudo vai ajudar a identificar as diferenças da infecção por este vírus, o HPV, entre mulheres grávidas que têm ou não infecção pelo HIV.

2- Você pode retirar seu consentimento a qualquer momento deixando de participar do projeto, sem que isso traga prejuízo à continuação do seu tratamento.

Nós garantimos que você continuará sendo tratada como as demais pacientes do Hospital das Clínicas.

3- Os pesquisadores garantem que responderão a qualquer pergunta ou farão esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa e com o tratamento a que você será submetida.

4- A pesquisa não será feita se houver, relacionados à mesma, riscos para você. Da mesma forma, caso algum risco proibitivo venha a se revelar no decurso do estudo, o pesquisador se compromete a alertá-la sobre o fato e a suspender, de imediato, a sua participação como paciente.

5- Os pesquisadores se comprometem a proporcionar a você informações atualizadas durante o estudo, ainda que estas possam afetar a sua vontade de continuar participando da pesquisa.

6- Os pesquisadores se comprometem a manter o sigilo da sua participação e de publicar os resultados da pesquisa para a comunidade médica e científica pertinente, sem que seja revelada sua identidade.

6- Você terá direito a ressarcimento financeiro caso haja gasto gerado exclusivamente pela sua participação como voluntária desta pesquisa.

7- Caso haja dano comprovadamente decorrente da pesquisa você terá direito à indenização.

OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

.....

.....

Tenho ciência do exposto acima e desejo participar da pesquisa da médica que subscreve o documento.

Ribeirão Preto,..... dede

Assinatura do paciente

ou de seu responsável

Profª. Drª Silvana Quintana

CRM 67715

TESTEMUNHAS NÃO LIGADAS À PESQUISA

1-.....

assinatura

.....

identificação

2-.....

assinatura

.....

identificação

ANEXO C - PROTOCOLO DE PESQUISA PARA COLETA DE DADOS CLÍNICOS.

AMBULATÓRIO DE MOLÉSTIAS INFECTO-CONTAGIOSAS EM OBSTETRÍCIA (AMIGO) - HCFMRPUSP

Data: _____ Examinador: _____ Orientador: _____

1) IDENTIFICAÇÃO:

Nome: _____ Registro: _____ Nascimento: _____

Endereço: _____ Fone: _____

Cor: branca preta amarela parda

Estado civil: casada solteira viúva desquitada amasiada

Escolaridade: analfabeta 1º grau incompleto 1º grau completo 2º grau completo 3º grau/técnico

Profissão: estudante doméstica do lar profissional sexo outra _____

2) ANTECEDENTES GINECOLÓGICOS E OBSTÉTRICOS:

Menarca: _____ Idade 1ª relação sexual: _____ Idade na 1ª gestação: _____

Gesta: ____ Para: ____ Aborto: ____ Nº partos vaginais: ____ Nº cesáreas: ____ Nº filhos vivos: _____

Nº total parceiros sexuais: ____ Nº parceiros sexuais último ano: _____

Prostituição: não sim

Orientação sexual: homossexual heterossexual bissexual

Passado DST: NÃO SIM sífilis gonorréia clamídia HPV
tricomonas hepatite B Hepatite C herpes HIV
outra: _____

DIP: NÃO SIM Cauterização: NÃO SIM Tatoo: NÃO SIM

3) Antecedentes pessoais:

Uso de drogas: NÃO SIM Qual: maconha cocaína heroína crack outra: _____

Via: fumo inalação EV outra: _____

Presidiária: NÃO SIM

Tabagismo: NÃO SIM <10 cigarros/dia 10-20/dia >20/dia

Alcoolismo: NÃO SIM cachaça cerveja uísque outros _____

Doenças sistêmicas: NÃO SIM HAS DM HIV Imunossupressão não HIV (LES, transplantadas, QT) outras: _____

Sorologias: *ELISA anti HIV:* negativa não realizada positiva <1ano 1-5a >5a

ELISA HBsAg: negativa não realizada positiva

ELISA anti HCV: negativa não realizada positiva

VDRL/RPR: negativo não realizado positivo

CD4 (data): _____ <200 200-350 350-500 >500

Carga Viral (data): _____ <1000 1000 - 10000 >10.000

Tratamento antiretroviral: NÃO SIM Qual : _____

4) Dados do parceiro

Passado DST: NÃO SIM sífilis gonorréia clamídia HPV
tricomonas hepatite B Hepatite C herpes HIV outra: _____

Orientação sexual: homossexual heterossexual bissexual heterossexual
hiperativo

Alcoolismo: NÃO SIM **Uso de drogas:** NÃO SIM **Tabagismo:** NÃO
SIM **Tatuagem:** NÃO SIM **Presidiário:** NÃO SIM

5) Documentação fotográfica: NÃO SIM

6) Paciente já tinha ouvido falar de HPV: NÃO SIM Revista jornal TV
médico amiga

7) Paciente sabia que HPV tinha relação com Câncer de colo: NÃO SIM

8) Paciente sabia transmissão sexual do HPV: NÃO SIM

9) Motivo da consulta: grávida não grávida
HIV+ citologia alterada colposcopia alterada biópsia condiloma vulvar
condiloma vaginal condiloma cervical condiloma perianal HPV NIC 1
NIC1-6m NIC1-12m

NIC2 NIC3 Pós-CAF-3m Pós-CAF-6m Pós-CAF-9m Pós-CAF-
12m Pós-CAF-18m

Pós-CAF-24m Pós-CAF >24m Pós-Laser vitimizada prurido
corrimento ectopia herpes outras _____

DUM: _____ **TA:** _____ **US:** data e **IG:** _____ **US**
corrigido: _____

10) Evolução da gravidez até consulta atual: NÃO SIM internação TPPT
ITU RUPREMA TTO de lesões condilomatosas outras: _____

11) Genitoscopia

colposcopia satisfatória – local JEC: -3 -2 -1 zero +1 +2 +3

colposcopia insatisfatória : JEC não visual atrofia inflamação colo não visualizado

Achados Normais: Ep. Estrat. Escamoso Ep. Cilíndrico ZTN-UG: -3 -2 -1 0

Achados Anormais: ZTA-UG: -3 -2 -1 zero +1 +2 +3

dentro ZT	fora ZT	MENORES	MAIORES
EAB fino	EAB grosseiro	OGA espessados	
mosaico regular	mosaico irregular		
pontilhado regular	pontilhado irregular		
iodo negativo	vasos atípicos		

Teste de Schiller: negativo (iodo positivo) positivo (iodo negativo) iodo malhado não realizado

Achados vários: condiloma erosão atrofia leucoplasias inflamação pólipos
outros: _____

Achados sugestivos invasão: vasos atípicos erosão tecido cerebróide
outros: _____

Vaginoscopia: sem lesão lesão clínica lesão subclínica

parede lateral D	parede lateral E	parede anterior	parede posterior
fundo saco posterior	fundo saco anterior	fundo saco lateral D	fundo lateral E
1/3 superior	1/3 médio	1/3 inferior	

Vulvoscopia: sem lesão lesão clínica lesão subclínica

monte de vênus	grande lábio D	grande lábio E	pequeno lábio D
pequeno lábio E	sulco interlabial D	sulco interlabial E	intróito vaginal
carúnculas	períneo	clitóris	uretra
região inguinal D	região inguinal E	região perianal	sulco interglúteo
1/3 superior	1/3 médio	1/3 inferior	

Hipótese diagnóstica colposcópica: ACN ACA Menores ACA MAIORES

Achados vários Achados sugestivos invasão Lesão vaginal baixo grau Lesão vaginal alto grau Lesão vulvar baixo grau lesão vulvar alto grau Condilomatose genital

Biópsia: NÃO SIM lábio anterior colo lábio posterior colo vagina vulva

Índice colposcópico de Reid**Margem da lesão:**

- zero: condiloma/contorno micropapilar geográfico lesões satélites bordos indefinidos bordos serrilhados ou
- 1 ponto: bordos tênues, regulares ou retos bordos bem definidos
- 2 pontos: "peeling" margens internas

Cor da lesão:

- zero: brilhante, branco neve branco tênue, translúcido
- 1 ponto: branco intermediário
- 2 pontos: acinzentado escuro (cinza esbranquiçado, superfície brilhante) branco opaco/acetorreação persistente

Vasos:

- zero se: mosaico fino, regular pontilhado fino, regular capilares finos
- 1 ponto se: vasos não visualizados
- 2 pontos se: mosaico grosseiro pontilhado grosseiro vasos atípicos

Subtotal: M,C,V= _____**Coloração pelo iodo:**

- zero se: iodo positivo iodo negativo área com alteração menor (≤ 3) iodo negativo fora ZT
- 1 ponto se: iodo malhado, tigróide parcial, casco de tartaruga
- 2 pontos se: iodo negativo de lesão maior (≥ 3 p)

Classificação total: LIEBG (___)**LIEAG (___)****12) Citologia tríplice:** NÃO SIM fora HC HC

satisfatória satisfatória mas limitada insatisfatória BD inflamatória
 cândida vaginose tricomonas cocos HPV ASCUS AGUS NIC 1 NIC 2
 NIC 3 NIVA 1 NIVA 2 NIVA 3
 Ca Microinvasor Ca invasor Adenocarcinoma

13) AP: NÃO SIM fora HC HC

CCI HPV Condiloma NIC 1 NIC 2 NIC 3 NIVA 1 NIVA 2 NIVA 3
 NIV 1 NIV 2 NIV 3 NIA 1 NIA 2 NIA 3 Ca Microinvasor Ca invasor
 Adenocarcinoma

14) PCR: NÃO SIM negativa positiva alto grau baixo grau**15) Tratamento:** expectante excisional destrutivo: vaporização LASER EC Bisturi
frio ATA 80% Podofilotoxina (Wartec 0,5%) Imiquimod (Aldara)**16) Intercorrências pós-tratamento:** NÃO SIM infecção local sangramento
recidiva lesões**17) Cicatrização:** adequada inadequada hipocromia fibrose úlcera outras**18) Sorologias:** NÃO SIM negativa positiva Qual(is): _____**19) CD4 e CV:** NÃO SIM Data e resultado: _____

**ANEXO D - PROTOCOLO ASSISTENCIAL DO SEMIGO PARA O
ACOMPANHAMENTO PRÉ-NATAL DE GESTANTES PORTADORAS DO HIV.**

Rotina Laboratorial na Assistência Pré-natal

Setor de Moléstias Infecto-Contagiosas em

Ginecologia e Obstetrícia (SEMIGO)

• Exames laboratoriais preconizados como básicos na assistência pré-natal:

Na primeira consulta

- Tipagem sanguínea e fator Rh;
- Coombs indireto;
- Hemograma completo;
- Exames sorológicos para toxoplasmose, rubéola, HIV, hepatites B e C, VDRL;
- Teste oral de tolerância à glicose (TTGO) com 75 gramas;
- Urina tipo I e urocultura;
- Parasitológico de fezes;
- Citologia cérvico-vaginal oncótica;
- Ecografia obstétrica de 1º trimestre.

Seguimento

- Repetir TTGO75 entre 24-28 semanas;
- Repetir exames sorológicos negativos a cada três meses;
- Repetir ecografia obstétrica entre 24-28 semanas e após 36ª semana.

• Exames laboratoriais específicos para a gestante portadora do HIV:

- Complementar diagnóstico da infecção pelo HIV;
- Hemograma a cada dois meses;
- Contagem de células CD₄/CD₈ a cada três meses;
- Carga viral a cada três meses;
- Provas de função hepática a cada dois meses;
- Uréia e creatinina a cada dois meses;
- Lipidograma;
- Genitoscopia;
- Cultura para *Streptococcus agalactiae* (meio de Todd-Hewitt).

ANEXO E - CLASSIFICAÇÃO CITOLÓGICA DE BETHESDA.

Sistema de Bethesda – 2001

- **Adequação da amostra**

- Satisfatória para avaliação
- Insatisfatória para avaliação

- **Categorização geral**

- Negativo para neoplasia intra-epitelial ou malignidade
- Anormalidade celular epitelial
- Outros

- **Interpretação / Resultado**

Negativo para Lesão Intra-epitelial ou Malignidade

- Organismos (*Trichomonas vaginalis*, fungos, sugestivo de vaginose bacteriana, *Actinomyces*, compatível com herpes simplex).
- Outros achados não neoplásicos (Alterações celulares reativas associadas com: inflamação, radiação, DIU).
- Atrofia

Anormalidades Celulares Epiteliais

Células Escamosas

- Células escamosas atípicas (ASC)
 - de significado indeterminado (ASC-US)
 - não pode excluir malignidade (ASC-H)
- Lesão intra-epitelial de baixo grau (LIEBG)
- Lesão intra-epitelial de alto grau (LIEAG)
- Carcinoma cervical escamoso

Células Glandulares

- Células glandulares atípicas (AGC)
- Células glandulares atípicas favorecendo neoplasia
- Carcinoma endocervical in situ
- Adenocarcinoma

Outros

- Células endometriais em mulher com ≥ 40 anos.

- **Sugestões e Notas**

ANEXO F – CLASSIFICAÇÃO COLPOSCÓPICA INTERNACIONAL.

Classificação Colposcópica da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia Barcelona 2002

I. Achados Colposcópicos Normais

- Epitélio Escamoso Original
- Epitélio Colunar
- Zona de Transformação

II. Achados Colposcópicos Anormais

Alterações Menores

- Epitélio acetobranco plano
- Mosaico fino
- Pontilhado fino
- Iodo parcialmente positivo

Alterações maiores

- Epitélio acetobranco denso
- Mosaico grosseiro
- Pontilhado grosseiro
- Iodo negativo
- Vasos atípicos

III. Alterações colposcópicas sugestivas de câncer invasivo

IV. Colposcopia Insatisfatória

- JEC / Cérvix não visível	- Inflamação severa
- Atrofia severa	- Trauma

V. Miscelânea

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

Adaptado de WALKER et al., 2002.

ANEXO G – COMPOSIÇÃO DE REAGENTES.

Extração do DNA

- **Tampão para lise de eritrócitos (Lise I):** Tris/HCl 0,01M pH 7,6; Sacarose 0,32M; $MgCl_2$ 5,0mM; Triton X-100 1%.
- **Tampão para lise de leucócitos (Lise II):** Tris/HCl 0,01M pH 8,5; KCl 50mM; $MgCl_2$ 2,5mM; NP-40 0,45%; Tween 20 0,45%.
- **Proteinase K:** 10mg/ml em água.

Reação de PCR

- **dNTP 20mM:** Solução estoque de 100mM (Fermentas *International* Inc, Canadá) diluída para uma concentração de 20 mM de cada dNTP.
- **Tampão da reação para o HPV 16:** Tris/HCl 1M pH 8,8; $(NH_4)_2SO_4$ 1M; $MgCl_2$ 1M, Dietiltreitol 1M; Triton X-100 10%; BSA (*bovine serum albumin*) 100mg/ml.

Gel e Eletroforese

- **Solução estoque de acrilamida (30%):** 29g de acrilamida e 1g de bis-acrilamida diluídas em um volume final de 100ml de água.
- **Glicerol:** $C_3H_5(OH)_3$
- **Tampão TBE 10X:** Tris/HCl 0,89M pH 8,0; EDTA 0,08M; Ácido Bórico 0,89M.
- **Persulfato de potássio:** Solução saturada em água.
- **TEMED:** N, N, N',N', tetrametiletenodiamina.
- **Corante:** TBE 1X; Xileno cianol 0,25%; Azul de Bromofenol 0,25%; EDTA 0,1M pH 8,0; Ficoll 15%.

Coloração

- **Solução Fixadora:** Álcool Etílico 50ml; Ácido Acético 2ml; água deionizada q.s.p. 300mL.
- **Nitrato de Prata:** Solução a 0,1% em água destilada.
- **Formaldeído a 37%**
- **Solução Reveladora:** NaOH 4,5g; água deionizada q.s.p. 200 mL.

ANEXO H – INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS NOS GÉIS DE POLIACRILAMIDA.

Eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% dos produtos de amplificação do DNA genômico para detecção e tipificação do DNA do HPV.

3a - Gel dos produtos da amplificação para o GP5+/6+ (150 pb). **3b** - Gel dos produtos da amplificação para o HPV16 (± 100 pb). **CP**: Caso positivo; **CI**: Controle interno; **A1 e A2**: Amostras positivas para o HPV (3a) e para o HPV16 (3b). **M**: Marcador de 100 pb.

ANEXO I – CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO AMOSTRAL.

1) Caracterização das variáveis quantitativas da população amostral.

Variáveis	X	s
Idade	25,4	6,2
Idade gestacional	32,7	5,2
Nº de gestações	2,9	1,9
Paridade	1,6	1,8
Menarca	12,7	1,9
Idade do 1º coito	16,1	2,7
Idade na 1ª gestação	19,42	4,0

X – média; s – desvio padrão.

2) Caracterização das variáveis qualitativas na população amostral.

Variáveis	Amostra	
	n	%
Total	97	100
Situação conjugal		
Estável	69	71,1
Não-estável	28	28,9
Cor		
Branca	31	32,0
Parda	50	51,5
Negra	16	16,5
Número de parceiros		
1 - 5	80	82,5
6 -10	8	8,2
>10	9	9,3
Passado de DST	19	19,6
História de DST no parceiro	21	21,6
Tatuagem	26	26,8
Uso de drogas ilícitas	19	19,6
Uso de álcool	8	8,2
Tabagismo	28	28,9

**ANEXO J – FREQUÊNCIAS DOS TIPOS DE PROFILAXIA ANTENATAL
UTILIZADOS PARA AS GESTANTES PORTADORAS DO HIV.**

AZT – Zidovudina; 3TC – Lamivudina; NFV – Nelfinavir.