

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE MEDICINA**

**CHRISTINE MIRANDA CORRÊA**

**PREVALÊNCIA E MULTIPLICIDADE DO  
PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) NA  
CÉRVICE UTERINA DE MULHERES  
INFECTADAS PELO VÍRUS DA  
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV),  
EM ESTUDO MULTICÊNTRICO**

**Belo Horizonte-MG**

**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**CHRISTINE MIRANDA CORRÊA**

**PREVALÊNCIA E MULTIPLICIDADE DO  
PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) NA  
CÉRVICE UTERINA DE MULHERES  
INFECTADAS PELO VÍRUS DA  
IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV),  
EM ESTUDO MULTICÊNTRICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Programa: Saúde da Mulher

Área de Concentração: Ginecologia

Orientador: Prof. Dr. Victor Hugo de Melo

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Faculdade de Medicina  
Belo Horizonte  
2007**

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

## **Reitor**

Ronaldo Tadêu Pena

## **Vice-Reitora**

Heloisa Maria Murgel Starling

## **Pró-Reitor de Pós-Graduação**

Jaime Arturo Ramirez

## **Pró-Reitor de Pesquisa**

Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

## **FACULDADE DE MEDICINA**

**Diretor:** Prof. Francisco José Penna

**Vice-Diretor:** Prof. Tarcizo Afonso Nunes

**Coordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof. Carlos Faria Santos Amaral

**Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação:** Prof. Dr. João Lúcio dos Santos Jr

## **DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA**

**Chefe:** Prof. João Gilberto de Castro e Silva

**Vice-chefe:** Roberto Lana Peixoto

## **CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA - ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA**

### **Colegiado**

Prof. João Lúcio dos Santos Júnior (Coordenador)

Prof. Marcos Mendonça (Subcoordenador)

Prof. Antônio Carlos Vieira Cabral

Prof. Aroldo Fernando Camargos

Prof. Henrique Vitor Leite

Prof. Victor Hugo de Melo

João Vaz da Silva (Rep. Discente)

A Deus,  
por estar sempre junto de mim.

Ao meu pai, Arlindo,  
luz no meu caminho, alicerce das minhas construções,  
quão nobres lições... meu eterno agradecimento.

A minha mãe, Maria Cândida,  
pelo amor, apoio e cumplicidade sem fim  
e por ser tão presente na minha vida.

Ao meu irmão, Felipe,  
pela amizade e por compreender minha ausência  
em alguns momentos da sua vida.

Aos meus avós,  
pelo conforto espiritual nos dias de cansaço e muito trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Victor Hugo de Melo, pelo incentivo e confiança no meu trabalho. Seu estímulo para que eu percorresse todos os caminhos necessários, com sabedoria e segurança, foi marcante na minha formação, não só na pós-graduação, mas como reflexo em tudo que tenho conquistado na minha vida profissional. Sua participação ativa em cada etapa da construção deste trabalho é percebida no cuidado com que cada página foi escrita. Ao meu orientador, meu eterno agradecimento.

Ao Dr. Frederico Amedée Peret, pelo marcante papel na minha formação na residência médica e por me colocar no caminho da pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Vicente Rozauro e a todos os professores do Serviço de Ginecologia da UFJF, pela contribuição na minha formação acadêmica e por acreditarem no meu trabalho.

À gerência e a todos os funcionários do CTR-DIP Orestes Diniz, pela receptividade, trabalho e colaboração.

À equipe do NUPAD, que tanto contribuiu para nosso trabalho, em especial Dora Mendez del Castilho e Nara de Oliveira Carvalho.

Aos meus colegas, Dr. Iwens Meira de Faria e Dr. Homero Caporalli de Oliveira, pela parceria no trabalho durante todo o período que passamos juntos no CTR-DIP Orestes Diniz.

À Dra. Angela Cristina Labanca de Araújo, pelo trabalho na construção do nosso banco de dados.

Às acadêmicas Cristiana Rodrigues e Tatiana Souza, pelas tarefas desempenhadas no nosso banco de dados.

À Dra. Juliana Barroso Zimmermann, pelo fornecimento de artigos e fotos, que enriqueceram este trabalho.

À professora Annamaria Ravara Vago, pela pronta ajuda na revisão de Pacientes e Métodos.

Ao engenheiro Jônatas José de Oliveira Melo, pela incontestável contribuição e orientação no processo de análise estatística.

Às pacientes e a todos que colaboraram, direta ou indiretamente, na elaboração desta dissertação.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais retorna ao seu tamanho original".

Albert Einsten



## RESUMO

**Objetivos:** determinar a prevalência do papilomavírus humano e identificar os seus genótipos em pacientes infectadas pelo HIV, de algumas cidades do estado de Minas Gerais; investigar nessas pacientes a multiplicidade de genótipos do papilomavírus humano e estabelecer possíveis associações que possam justificar a maior prevalência e multiplicidade do HPV nas mulheres infectadas pelo HIV.

**Pacientes e métodos:** foram avaliadas 288 pacientes atendidas no Ambulatório de Ginecologia do CTR-DIP Orestes Diniz da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, em convênio com a UFMG, e no sistema público de saúde das demais cidades mineiras: Betim, Barbacena, Conselheiro Lafaiete e Divinópolis. O período de estudo foi de agosto de 2003 a agosto de 2006. Todas as pacientes foram submetidas a questionário padrão durante atendimento ginecológico no ambulatório. Realizaram-se anamnese, exame ginecológico completo com coleta de material para detecção do HPV pela PCR, coleta de material para colpocitologia oncótica, colposcopia e biópsia dirigida, quando indicada. Os dados foram armazenados e analisados no programa Epi-Info, versão 3.3.2, de fevereiro de 2005. Para análise de dados também foi utilizado o programa EXCEL 2003 e para análise das variáveis categóricas foi empregado o teste do qui-quadrado. Foi considerado o valor de 5% ( $p < 0,05$ ) como limiar de significância estatística.

**Resultados:** a prevalência do HPV foi alta nas amostras de todas as cinco cidades de Minas Gerais (78,8%). Os genótipos mais prevalentes foram o HPV-6 (63,9%) e o HPV-16 (48,5%). A taxa de pacientes com HPV detectado, mas não genotipado, variou de 0% (Barbacena) a 11,1% (Belo Horizonte), exceto em Conselheiro Lafaiete, cuja taxa foi de 48%. A presença do HPV de alto risco (pacientes com pelo menos um tipo de HPV de alto risco) foi observada em 160 (70,5%) casos, do HPV de baixo risco em 162 (71,4%) e do HPV de alto e baixo risco concomitante em 125 (55,1%). A infecção por múltiplos genótipos do HPV manifestou-se em 64,8% das pacientes, com predomínio de dois tipos (23,8%) e três tipos (18,9%). Não houve associação significativa entre a prevalência do HPV e o uso de preservativo, número de parceiros sexuais, contagem de linfócitos T CD4 e quantificação da carga viral do HIV. Pacientes com carga viral mais alta ( $>25.631$  cópias/ml) tiveram mais prevalência (41,4%) de mais de três tipos de HPV.

**Conclusão:** a prevalência de HPV em mulheres infectadas pelo HIV é muito alta. A infecção por múltiplos genótipos foi o padrão predominante de infecção pelo HPV. A presença de HPV não está associada aos marcadores da progressão do HIV. A multiplicidade do HPV parece estar associada a níveis de carga viral do HIV mais altas.

Palavras-chave: Papilomavírus humano; vírus da imunodeficiência humana; reação em cadeia de polimerase; cérvix uterina; infecção múltipla.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CTR-DIP	Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTP	Desoxirribonucleotídeo trifosfato
DST	Doença sexualmente transmissível
ELISA	<i>Enzyme-linked immunoabsorbent assay</i>
FEBRASGO	Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
HAART	Terapia anti-retroviral potente
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papilomavírus humano
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
ISH	Hibridização <i>in situ</i>
LSIL	Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau
HSIL	Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
NUPAD	Núcleo de Pesquisa e Apoio em Diagnóstico
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
PCAP-BR	Pesquisa de Conhecimento, Atitudes e Práticas na População Brasileira
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RFLP	Polimorfismo de tamanho do fragmento gerado para enzimas de restrição
RNA	Ácido ribonucléico
rpm	Rotação por minuto

SIL	Lesão intra-epitelial escamosa
TARV	Tratamento anti-retroviral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
WHO/ISGYP	<i>World Health Organization and International Society of Gynecological Pathologists</i>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Figuras

FIGURA 1 - Kary Mullis, inventor da PCR, em foto de 1994 ( <i>Nobel Academy</i> ).....	20
FIGURA 2 - Etapas da reação em cadeia da polimerase: preparação do <i>mix</i> para a realização da reação.....	47
FIGURA 3 - Amostras sendo colocadas no termociclador onde ocorrerão as etapas da PCR: desnaturação, anelamento e extensão.....	50
FIGURA 4 - Montagem de gel de agarose.....	51
FIGURA 5 - Esquema ilustrativo das etapas da PCR.....	52

### Gráficos

GRÁFICO 1 - Detecção do DNA-HPV pela PCR, nas cinco cidades mineiras.....	68
GRÁFICO 2 - Prevalência do HPV de acordo com a quantificação da carga viral do HIV.....	74
GRÁFICO 3 - Prevalência do HPV de acordo com a contagem de linfócitos T CD4+.....	76
GRÁFICO 4 - Associação entre a multiplicidade do HPV e a média da quantificação da carga viral do HIV.....	83

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

### Quadros

QUADRO 1 - Interpretação dos resultados do procedimento da PCR.....	53
QUADRO 2 - Esquema de iniciadores utilizados pelo NUPAD.....	54

### Tabelas

TABELA 1 - Prevalência do HPV em mulheres portadoras do HIV na literatura.....	41
TABELA 2 - Número e percentual de pacientes avaliadas, com a respectiva cidade de origem.....	60
TABELA 3 - Distribuição da mediana das variáveis quantitativas nas cinco cidades de Minas Gerais.....	61
TABELA 4 - Características sociais e comportamentais das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	63
TABELA 5 - Características clínicas e laboratoriais das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	66
TABELA 6 - Freqüência e multiplicidade dos genótipos do HPV, pela PCR, nas pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	70
TABELA 7 - Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e o uso de preservativo, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	72
TABELA 8 - Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e o número de parceiros sexuais de portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	73
TABELA 9 - Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	74
TABELA 10 - Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a média da quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais .....	75

TABELA 11 - Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a contagem de linfócitos T CD4+ em mulheres portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	76
TABELA 12 - Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a média da contagem de linfócitos T CD4+ em mulheres portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	77
TABELA 13 - Associação entre multiplicidade do HPV e uso do preservativo pelas portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	79
TABELA 14 - Associação entre multiplicidade do HPV e número de parceiros sexuais de mulheres portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	80
TABELA 15 - Associação entre a multiplicidade do HPV e a quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	81
TABELA 16 - Associação entre a multiplicidade do HPV e a média da quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	82
TABELA 17 - Associação entre a multiplicidade do HPV e a contagem de linfócitos T CD4+, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	84
TABELA 18 - Associação entre a multiplicidade do HPV e a média da contagem de linfócitos T CD4+, nas cinco cidades de Minas Gerais..	85
TABELA 19 - Contagem de linfócitos T CD4+ das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	88
TABELA 20 - Prevalência do HPV em pacientes portadoras do HIV.....	90
TABELA 21 - Multiplicidade do HPV em pacientes portadoras do HIV.....	93
TABELA 22 - Idade (em anos) das pacientes infectadas pelo HIV ao entrarem no estudo, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	147
TABELA 23 - Idade (em anos) de início de atividade sexual das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais...	147
TABELA 24 - Número de parceiros sexuais das pacientes infectadas pelo HIV, ao entrarem no estudo, nas cinco cidades de Minas Gerais.....	148

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 O papilomavírus humano.....	18
2.1.1 Classificação do papilomavírus humano quanto ao potencial oncogênico..	18
2.1.2. Métodos de detecção do DNA-HPV.....	19
2.1.3 O papilomavírus humano e o câncer cervical.....	22
2.2 HIV/AIDS.....	23
2.2.1 Aspectos epidemiológicos.....	23
2.2.2 Transmissão do vírus.....	25
2.3 Co-infecção HPV/HIV.....	26
2.3.1 HIV e papilomavírus humano (HPV).....	27
2.3.2 HIV e neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC).....	30
2.4 A multiplicidade dos genótipos do HPV.....	31
2.4.1 Multiplicidade x persistência do HPV.....	33
2.4.2 Multiplicidade x imunidade.....	34
2.4.3 Multiplicidade x alteração citológica.....	35
2.4.4 Multiplicidade x lesões intra-epiteliais cervicais.....	36
3 OBJETIVOS.....	37
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	38
4.1 Considerações éticas.....	38
4.2 Pacientes.....	38
4.2.1 Critérios de inclusão.....	39
4.2.2 Critérios de exclusão.....	40
4.3 Cálculo amostral.....	40
4.4 Métodos.....	41
4.4.1 Exame físico.....	42
4.4.1.1 Coleta de material para detecção do HPV e seus genótipos.....	42
4.4.1.2 Coleta de material para citologia oncótica.....	43

4.4.1.3 Colposcopia.....	43
4.4.1.4 Biópsia dirigida do colo uterino.....	44
4.4.2 Exames laboratoriais.....	45
4.4.2.1 PCR (reação em cadeia de polimerase).....	45
4.4.2.2 Estudo histopatológico do colo uterino.....	55
4.4.2.3 A citometria de fluxo para a contagem de linfócitos T CD4.....	55
4.4.2.4 Método de quantificação da carga viral do HIV.....	56
4.4.3 Coleta dos dados.....	57
4.4.3.1 Presença ou ausência de HPV.....	57
4.4.3.2 Cortes na dosagem da carga viral.....	58
4.4.3.3 Cortes na contagem dos linfócitos T CD4.....	58
4.4.4 Método estatístico.....	59
4.4.5 Método bibliográfico.....	59
5 RESULTADOS.....	60
5.1 Características da amostra.....	61
5.2 Prevalência do HPV.....	67
5.3 Genotipagem: frequência e multiplicidade.....	69
5.4 Análises dos fatores de risco associados à prevalência do HPV.....	71
5.4.1 Uso de preservativo.....	71
5.4.2 Número de parceiros sexuais.....	72
5.4.3 Carga viral do HIV.....	73
5.4.4 Linfócitos T CD4+.....	75
5.5 Análise dos fatores de risco associados à multiplicidade do HPV.....	77
5.5.1 Uso de preservativo.....	78
5.5.2 Número de parceiros sexuais.....	79
5.5.3 Carga viral do HIV.....	80
5.5.4 Linfócitos T CD4+.....	83
6 DISCUSSÃO.....	86
6.1 Características da amostra.....	86
6.2 Prevalência do HPV.....	88
6.3 Multiplicidade do HPV.....	92



7 CONCLUSÕES.....	100
REFERÊNCIAS.....	101
ANEXOS E APÊNDICES.....	108

## 1 INTRODUÇÃO

---

A associação entre câncer cervical e vírus da imunodeficiência humana (HIV) é bem estabelecida na literatura. A prevalência de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) tem se mostrado mais alta entre mulheres infectadas pelo HIV (20 a 60%), quando comparadas com as não infectadas. A associação entre câncer cervical e papilomavírus humano (HPV) é claramente demonstrada<sup>1</sup>, mas a contribuição etiológica da co-infecção com o HIV na gênese do tumor cervical está em estudo. Dados atuais sugerem que a exposição à infecção pelo HIV pode aumentar a incidência da persistência do HPV e das lesões intra-epiteliais escamosas cervicais, provavelmente pela fraca resposta do sistema imune.

Indivíduos que praticam atividade sexual desprotegida têm risco combinado de se infectarem pelo HIV e HPV porque esses vírus têm forma de aquisição comum.

Recentemente, o desenvolvimento de métodos baseados em reação em cadeia de polimerase (PCR), que são mais sensíveis e capazes de identificar mais de 20 tipos específicos de HPV simultaneamente, tem permitido a investigação sistemática de infecções múltiplas.

A finalidade deste trabalho é determinar a prevalência das infecções pelo HPV em um grupo de mulheres infectadas pelo HIV em diferentes cidades do estado de Minas Gerais e investigar a presença de genótipos de HPV e sua multiplicidade, por meio do método mais sensível e específico.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

---

O câncer cervical é o segundo câncer mais comum em mulheres de todo o mundo e é o tipo principal entre elas na maioria dos países em desenvolvimento, onde 80% dos casos ocorrem. Estudos epidemiológicos indicam que a presença de certos tipos de HPV no colo uterino é a principal causa de câncer cervical invasivo e neoplasia intra-epitelial cervical<sup>2</sup>.

Em 1993, o papilomavírus humano (HPV) associado à neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau foi classificado como estágio B e o câncer cervical invasivo como condição definidora de síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), de acordo com o sistema de classificação do Centro de Controle e Prevenção de Doenças<sup>3</sup>.

Acredita-se que o HIV pode influenciar o prognóstico clínico da infecção por HPV, principalmente por reduzir a resposta imune sistêmica e local, embora interações vírus-vírus também possam interferir<sup>4</sup>.

### 2.1 O papilomavírus humano

#### 2.1.1 Classificação do papilomavírus humano quanto ao potencial oncogênico

Os tipos de HPV genitais têm sido subdivididos em baixo e alto risco, os últimos freqüentemente associados ao câncer cervical invasivo. O número de tipos de HPV de alto risco varia de 13 a 19 e apenas 11 (16, 18, 31,33, 35, 39, 45,

51, 52, 56 e 58) são consistentemente classificados como de alto risco. O tipo 16 é o mais freqüente nas lesões cervicais, independentemente da presença ou gravidade da neoplasia intra-epitelial cervical. O tipo 18 predomina nos adenocarcinomas<sup>5,6</sup>. São classificados como de baixo risco os tipos: 6, 11, 30, 40, 42, 43 e 44, que estão usualmente associados à lesão genital exofítica benigna e/ou lesão intra-epitelial de baixo grau (LSIL). Os tipos 6 e 11 estão presentes em 90 a 95% dos condilomas.

Por essas razões, são necessários critérios para classificar os tipos de HPV em grupos de baixo e alto riscos, os quais devem ser baseados em estudos epidemiológicos moleculares que forneçam risco estimado e evidência funcional do potencial oncogênico dos vários tipos diferentes de HPV<sup>2</sup>.

### 2.1.2 Métodos de detecção do DNA-HPV

A detecção direta do ácido desoxirribonucléico (DNA) do HPV constitui o método mais confiável para identificar o vírus. Os procedimentos moleculares disponíveis são os seguintes<sup>7</sup>:

- Hibridização com sondas (*Southern blot*, *Dot blot* e *Captura Híbrida*)

Todos esses métodos são baseados na análise do DNA celular total. A técnica denominada *Southern blot* foi o primeiro método adotado. Durante muitos anos foi considerado “padrão ouro” para a identificação do HPV, já que sua especificidade e sensibilidade são elevadas. A sensibilidade da técnica de *Dot blot*

é menor que a de *Southern blot*. Os testes disponíveis comercialmente (ViraPap e ViraType) são procedimentos de *Dot blot* modificados. Atualmente, os *kits* para captura híbrida I e II, produzidos pela Digene, demonstram boa acurácia, sendo os utilizados na prática clínica<sup>8</sup>.

- Teste de hibridização *in situ* (ISH)

Tem como objetivo investigar a presença do DNA de HPV incluído em núcleos das células infectadas, em um corte histológico *standard* fixado por parafina. Apesar de o ISH ser menos sensível do que o teste *Blot*, ele permite investigar amostras histológicas e realizar estudos retrospectivos. Assim, o ISH é técnica morfológica e molecular mista, que possibilita avaliação quantitativa, assim como a demonstração do vírus nas células neoplásicas ou normais. Por isso, poderia ser considerada a técnica de escolha para a detecção do DNA viral, mas seu elevado custo faz com que seja desaconselhada em grandes estudos.

- Reação em cadeia de polimerase (PCR)

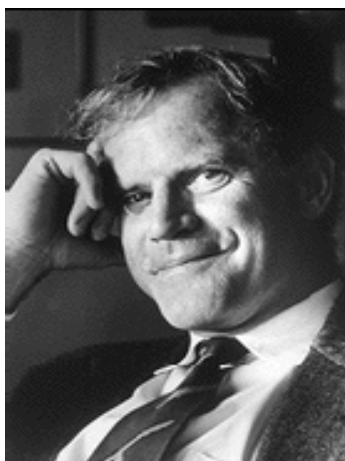


FIGURA 1 - Kary Mullis, inventor da PCR, em foto de 1994 (*Nobel Academy*).  
Fonte: [www.et.all.hpg.com.br](http://www.et.all.hpg.com.br) (acessado em dez/2006)

Esse método foi desenvolvido por Mullis, em 1987<sup>9</sup>. É técnica enzimática sofisticada possibilita a amplificação pelo menos um milhão de vezes de seqüências de DNA na amostra do exame. Pode ser aplicada em DNA extraído de tecido fresco ou fixado. Atualmente, é a mais sensível de que se dispõe. Pode ser processada rapidamente (2-3 horas), porém requer notável habilidade e deve ser realizada em laboratórios que disponham de meios especializados de contenção, a fim de prevenir-se a contaminação da amostra previamente amplificada. Tal contaminação pode levar a resultados falso-positivos. A tecnologia da reação em cadeia da polimerase também é bastante flexível, permitindo uma série de modificações que possibilitam seu emprego na análise de uma grande variedade de amostras.

Entre as principais técnicas resultantes de modificações da reação em cadeia da polimerase, pode-se citar o RT-PCR, *nested* PCR, *multiplex* PCR, PCR a partir de *primers* randômicos e PCR em tempo real. O **RT-PCR** utiliza a enzima transcriptase reversa para converter uma amostra de ácido ribonucléico (RNA) em cDNA antes da etapa de amplificação por PCR, permitindo o estudo de vírus de RNA e análises de expressão gênica. O ***nested* PCR** visa a aumentar a sensibilidade e especificidade do método. O segmento genômico é amplificado primeiro de forma abrangente e, depois, utilizando-se esse primeiro produto, é realizada a amplificação da real seqüência-alvo. Já a **PCR *multiplex*** é uma reação de amplificação desenhada para detectar múltiplas seqüências-alvo numa mesma amostra. A **PCR a partir de *primers* randômicos** utiliza seqüências curtas de oligonucleotídeos para amplificar regiões repetitivas do DNA genômico e é bastante empregada em estudos epidemiológicos. Finalmente, a **PCR em tempo real** permite que a amplificação e a detecção ocorram simultaneamente,

num sistema fechado, sendo necessário para isto um termociclador que possua sistema de monitoramento de emissão de fluorescência. Essa técnica é empregada tanto para quantificação de amostras como para testes de carga viral e monitoramento de doença residual mínima<sup>9</sup>.

### 2.1.3 O papilomavírus humano e o câncer cervical

No estudo do carcinoma cervical, o interesse pelo HPV cresceu desde que foi sugerida<sup>10</sup>, na década de 70, a associação entre o HPV e o câncer cervical. Vários estudos epidemiológicos, clínico-patológicos e moleculares se seguiram, confirmando o papel do HPV na patogênese do câncer cervical e em suas lesões precursoras.

Fatores de risco de câncer cervical incluem vários aspectos do comportamento sexual (como número de parceiros e idade da primeira relação sexual), tabagismo, uso de contraceptivos orais, presença e tipo do papilomavírus humano e outras doenças sexualmente transmissíveis<sup>11</sup>.

A existência de neoplasia cervical em mulheres com o vírus da imunodeficiência humana representa um dos mais sérios desafios no cuidado a pacientes imunossuprimidas. A associação entre lesões intra-epiteliais cervicais e a positividade para o HIV foi sugerida desde 1987<sup>12</sup>.

Tem sido demonstrado que quase todos os casos de câncer cervical são causados por um ou mais tipos de HPV oncogênicos (de alto risco), a maioria associada aos tipos 16 e 18<sup>13</sup>.

O câncer invasivo nas pacientes infectadas pelo HIV tem comportamento mais agressivo, responde mal às terapias preconizadas e, na recorrência, é de pior prognóstico<sup>14</sup>.

## 2.2 Vírus da imunodeficiência humana e síndrome da imunodeficiência adquirida

### 2.2.1 Aspectos epidemiológicos

Estima-se que dos 433.067 casos notificados de AIDS até junho de 2006, 62,3% (269.910 casos) se concentravam na região Sudeste, 17,9% (77.639 casos) na região Sul, 11% (47.751) no Nordeste, 5,6% (24.086) no Centro-Oeste e 3,2% (13.681) no Norte. Segundo parâmetros da Organização Mundial de Saúde (OMS), o Brasil mantém sua posição entre os países com epidemia concentrada (quando o número de casos, novos ou antigos, em qualquer população de risco é maior que 5%, mas menor que 5% nas populações que não apresentam condutas de risco), com prevalência da infecção pelo HIV de 0,61% entre a população de 15 a 49 anos, sendo 0,42% entre as mulheres e 0,80% entre os homens<sup>15</sup>.

Entre os principais fatores de vulnerabilidade ao HIV, estão: a falta de conhecimento sobre as formas de transmissão e proteção; o uso inconsistente ou a falta de uso de preservativos; e a multiplicidade de parceiros sexuais. Dados da Pesquisa de Conhecimento, Atitudes e Práticas na População Brasileira (PCAP-BR) realizada em 2004 mostram que quase 91% da população brasileira com idade entre 15 e 54 anos citaram espontaneamente a relação sexual como forma



de transmissão do HIV e 94% referiram o uso de preservativo como forma de prevenção da infecção<sup>16</sup>.

Tendências da epidemia no Brasil durante os últimos anos<sup>17</sup>:

- a interiorização: ou seja, a expansão da AIDS em municípios com menos de 50 mil habitantes, com pouca capacidade de mobilização de recursos humanos e materiais;
- a feminização: fenômeno pelo qual o ritmo de contaminação na população feminina cresceu vertiginosamente e, em consequência, a transmissão do HIV de mãe para filho também se elevou;
- a pauperização: que atinge populações particularmente vulneráveis devido ao seu difícil acesso a informações, a serviços públicos e a práticas preventivas.

O país acumulou cerca de 183.000 óbitos devidos à AIDS de 1980 a 2005, sendo as taxas de mortalidade crescentes até meados da década de 90, estabilizando-se em cerca de 11 mil óbitos anuais desde 1998. Após a introdução da política de acesso universal ao tratamento anti-retroviral (TARV), que combina drogas com diferentes formas de ação (HAART), observou-se importante queda na mortalidade. A partir do ano 2000, essa taxa estabilizou-se em cerca de 6,4 óbitos por 100 mil habitantes, principalmente em São Paulo e no Distrito Federal<sup>18</sup>.

### 2.2.2 Transmissão do vírus

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o HIV é transmitido de três formas: sexual, parenteral e perinatal. Geralmente, todos os casos de transmissão de HIV podem ser atribuídos a essas categorias de exposição. O vírus não é transmitido por meio de contato casual (abraço, aperto de mãos), contato de superfície (vaso sanitário) ou picada de inseto<sup>19</sup>.

A transmissão nas relações sexuais é bidirecional, tanto nas relações heterossexuais como nas homossexuais. O risco de transmissão aumenta com a prática do intercuro anal, na presença de úlceras genitais e quando o estado de imunodeficiência do transmissor é mais avançado. A presença de doenças sexualmente transmissíveis, a ausência de circuncisão e relações sexuais durante o período menstrual também aumentam a possibilidade de transmissão do HIV<sup>20</sup>.

### 2.3 Co-infecção HPV/HIV

Vários estudos na literatura referenciam a forte associação existente entre a oncogênese e a progressão neoplásica relacionada ao HPV e ao sistema imunológico. Mulheres imunossuprimidas apresentam risco elevado de desenvolvimento de neoplasia intra-epitelial escamosa e câncer invasivo do trato genital inferior. O elo entre doenças relacionadas ao HPV e HIV é forte porque ambas as condições - infecções por HIV e HPV - são transmitidas sexualmente e suas populações de risco apresentam várias características demográficas em comum<sup>21</sup>.

Embora não haja dúvidas de que pacientes infectadas pelo HIV estejam sob risco aumentado de infecção pelo HPV associada à neoplasia anogenital, os mecanismos da interação HPV-HIV estão pouco esclarecidos<sup>22</sup>.

Enquanto há relação entre níveis baixos de linfócitos T CD4+ e aumento da incidência de neoplasia intra-epitelial de baixo e alto grau e neoplasia intra-epitelial anal, a relação entre imunossupressão e incidência de câncer anogenital é menos clara. Dados registrados sobre AIDS e câncer não mostram associação de níveis baixos de linfócitos T CD4+ (abaixo de 500 células/mm<sup>3</sup> ou até mesmo menor que 200 células/mm<sup>3</sup>) e câncer anal ou cervical em homens e mulheres diagnosticados com AIDS, como também não há aumento claro na incidência desses cânceres com o tempo após o diagnóstico da síndrome<sup>22</sup>.

Estudos epidemiológicos e experimentais têm descrito a estreita correlação entre a infecção pelo HIV e todas as demais doenças de transmissão sexual. Assim, o tratamento e diagnóstico precoces das infecções do trato reprodutivo constituem-se em arma importante no combate ao avanço da epidemia da infecção pelo HIV/AIDS<sup>17</sup>.

A seguir, serão abordados aspectos do vírus da imunodeficiência humana relacionados ao papilomavírus humano e às lesões intra-epiteliais escamosas cervicais, com enfoque nos estudos de prevalência.

### 2.3.1 Vírus da imunodeficiência humana (HIV) e papilomavírus humano (HPV)

A infecção pelo HPV é extremamente comum. Estudos relatam que 50% dos adultos sexualmente ativos têm sido infectados com um ou mais tipos de HPV, mas a maioria das infecções por esse vírus é transitória<sup>23</sup>.

Alguns autores têm afirmado que mulheres infectadas por HIV têm mais prevalência de HPV<sup>24-26</sup>, de múltiplos tipos de HPV<sup>27</sup> e prevalência mais elevada de subtipos oncogênicos<sup>24,28</sup> que mulheres não infectadas pelo HIV.

Indivíduos imunossuprimidos por infecção pelo HIV ou transplantados estão sob risco aumentado de infecção pelo HPV associado a câncer anogenital, comparados com os imunocompetentes da mesma idade<sup>22</sup>.

Em investigação que relacionou 344 portadoras do vírus da imunodeficiência humana e 325 mulheres não portadoras, nas quais foram utilizados colposcopia e teste do DNA do HPV, Sun *et al.* (1995)<sup>29</sup> verificaram significativa prevalência de infecção pelo HPV nas mulheres do primeiro grupo. Enquanto a taxa de infecção pelo papilomavírus humano foi de 60% entre as mulheres infectadas pelo HIV, a encontrada entre as integrantes do grupo-controle foi de 36%.

Um estudo desenvolvido na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)<sup>14</sup>, Belo Horizonte, em 2001, encontrou 38,1% pacientes com infecção simples (apenas um tipo de HPV). Os tipos mais prevalentes foram o 6 e o 16, ocorrendo em 48,9 e 36,7% dos casos, respectivamente. Quanto ao tipo de HPV, observou-se que os de alto risco foram mais prevalentes nas pacientes com número de células CD4+ abaixo de 499 do que os de baixo risco.

Em estudo desenvolvido na mesma Universidade, em 2002,<sup>30</sup> foi descrita prevalência de 80% de HPV na cérvix uterina de mulheres infectadas pelo HIV, sendo os tipos mais prevalentes o HPV-6 e o HPV-16.

O HPV também foi freqüente na amostra estudada por Melo *et al.* (2003)<sup>31</sup>, presente em 81,7% das portadoras do HIV que tiveram material da cérvix uterina examinado por PCR.

Em publicação mais recente (2005), relatou-se que, das pacientes infectadas pelo HIV, 73,2% apresentaram resultado positivo para o DNA-HPV, comparado a 23,8% entre as soronegativas. Houve tendência à infecção por múltiplos tipos de HPV nas portadoras de HIV, enquanto que a infecção simples predominou nas soronegativas<sup>32</sup>.

Avaliação feita em São Paulo demonstrou mais freqüência de anormalidades nas citologias oncóticas cervicais das mulheres soropositivas em relação às soronegativas para o HIV<sup>33,34</sup>

Levi *et al.* (2002)<sup>34</sup>, acompanhando 208 portadoras do HIV, registraram prevalência de 98% de HPV detectado pela PCR em mulheres infectadas pelo HIV; 14,3% delas apresentaram genótipos de HPV de baixo risco e 21,2% exibiram alto risco, enquanto 64,3% possuíam ambos os tipos de risco. Em publicação posterior (2004), os mesmos autores<sup>35</sup> relataram o genótipo 16 como sendo o tipo de HPV mais comum entre as pacientes infectadas pelo HIV, enquanto no grupo-controle (não HIV) o HPV 51 apareceu como o mais comum, seguido pelo HPV 16.

Gonçalves *et al.* (1999)<sup>36</sup> descreveram que os tipos HPV-16 e HPV-18 foram os mais prevalentes e que quase 20% dos tipos de HPV não foram

detectados. Tal achado pode ser explicado pela restrição do tamanho do fragmento baseado no polimorfismo do método de genotipagem utilizado.

O HPV-53, o HPV-58 e o HPV-61 foram referidos<sup>25</sup> como os tipos mais prevalentes em uma grande população americana infectada pelo HIV, na qual a distribuição dos genótipos de HPV em mulheres portadoras do HIV era diferente das mulheres não HIV.

Está bem documentado que mulheres infectadas pelo HIV têm mais prevalência de infecção pelo HPV<sup>34,37,38,39</sup> e de lesões intra-epiteliais escamosas cervicais (SIL)<sup>40</sup>. Nesse grupo de pacientes imunossuprimidas, essas lesões têm prognóstico pior e progressão mais rápida que em pacientes imunocompetentes<sup>41</sup>. As lesões são difíceis de serem tratadas, com taxa mais alta de recorrência, freqüentemente contendo o mesmo tipo de HPV prévio ao tratamento instituído<sup>40</sup>.

Em mulheres portadoras do HIV, a prevalência e a persistência da infecção pelo HIV aumentam com a queda da contagem de linfócitos T CD4 e elevação da carga viral<sup>25</sup> e alguns estudos mostram que tipos oncogênicos do HPV podem ser mais comuns com baixo CD4 e/ou carga viral alta<sup>24,42</sup>.

Resultados semelhantes foram descritos por Rachid e Schechter (2005)<sup>20</sup>. Esses autores relataram que a prevalência da infecção pelo HPV aumenta à medida que ocorre progressão do dano imunológico associado à infecção pelo HIV; e que a persistência da infecção pelo HPV é inversamente proporcional à contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e diretamente proporcional à carga viral do HIV.

### 2.3.2 Vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC)

Citologia cervical anormal é mais comum em mulheres infectadas pelo HIV e está associada à presença de infecção pelo HPV e grau de imunossupressão. Tanto a frequência quanto a gravidade de esfregaços cervicais e NIC documentado histologicamente aumentam com o declínio da contagem de linfócitos T CD4 e também estão relacionados com alta carga viral<sup>43</sup>. A incidência de citologia cervical alterada está aumentada em pacientes com baixa contagem de linfócitos T CD4<sup>44</sup>.

Levi *et al.* (2005)<sup>45</sup>, estudando pacientes soropositivas e negativas para o HIV, verificaram que a contagem de células de Langerhans foi de quatro por campo nas soronegativas e de 1,92 por campo nas soropositivas, o que retrata resposta imune local inadequada nessas pacientes ( $p=0,01$ ).

A HAART não tem sido consistentemente associada ao risco reduzido de anormalidades cervicais relacionadas ao HPV em mulheres infectadas pelo HIV<sup>46</sup>.

Foi possível comprovar que as pacientes portadoras do HIV infectadas pelo HPV têm 13,3 vezes mais chances de desenvolver NIC do que as não portadoras de HPV<sup>14</sup>.

Posteriormente, constatou-se que as pacientes com carga viral do HIV acima de 400 cópias/ml, quantificada antes da biópsia do colo uterino, apresentaram chances 3,2 vezes maiores de desencadear lesão intra-epitelial (SIL). A contagem de linfócitos T CD4+ não influenciou o aparecimento da SIL<sup>47</sup>.

## 2.4 A multiplicidade dos genótipos do HPV

Embora a infecção por múltiplos tipos de HPV tenha sido descrita no passado<sup>48</sup>, não parecia comum sua observação em amostras cervicais obtidas de pacientes imunocompetentes de muitos países. Infecções múltiplas foram encontradas em apenas 2,2% das participantes no início do estudo de coorte realizado em São Paulo, Brasil<sup>49</sup>.

A multiplicidade do HPV foi verificada em 2,6% das mulheres mexicanas do estado de Morelos, com citologias cervicais normais<sup>50</sup>.

A multiplicidade dos genótipos de HPV de alto risco é mais prevalente em mulheres jovens, sugerindo que o aumento da atividade sexual está relacionado com a transmissão sexual de múltiplos tipos de HPV de alto risco<sup>51</sup>.

Já se observou que a prevalência da infecção múltipla pelo HPV varia de acordo com o método de detecção. Demonstra-se que a infecção múltipla é comumente detectada quando se emprega PCR, sendo este método de alta especificidade e sensibilidade<sup>2,34,35</sup>.

Utilizando a PCR, tipos de HPV de alto risco foram detectados em mais da metade das lesões condilomatosas de indivíduos saudáveis e em 100% dos espécimes de indivíduos imunossuprimidos<sup>52</sup>. Esse estudo demonstrou que a maioria das lesões condilomatosas contém múltiplos tipos de HPV, incluindo tipos associados a lesões displásicas.

Em pacientes não infectadas pelo HIV, a prevalência de infecções múltiplas por HPV chega a ser alta em algumas populações estudadas, como demonstrado por Cuschieri *et al.* (2004)<sup>51</sup>, que encontraram 43,3% de positividade para mais de um genótipo do HPV. Em grupo semelhante de pacientes, a



prevalência do HPV variou de 20%, em Edinburgh e Paraguai, a 14,9%, na Colômbia<sup>51</sup>.

Em mulheres infectadas pelo HIV, tipos de DNA-HPV de alto risco são significativamente mais freqüentes que em soronegativas. Além disso, a co-infecção por múltiplos tipos de HPV é comum nas pacientes imunossuprimidas<sup>12,53</sup>.

Portadoras do HIV são geralmente infectadas por múltiplos genótipos do HPV, com relato na literatura de até 80%<sup>51</sup>. Os resultados do trabalho de Levi *et al.* (2002)<sup>34</sup> confirmam os achados da literatura, na qual 21,1% das pacientes possuíam um único tipo de HPV, enquanto 78,9% eram portadoras de múltiplos tipos.

Um estudo realizado em São Paulo, Brasil, verificou infecção por mais de dois tipos de HPV em 45% das pacientes acometidas pelo HIV<sup>35</sup>. Esta foi exatamente a mesma proporção encontrada em outra investigação em população de mulheres com HIV em Santos, São Paulo, confirmando a alta freqüência de infecções múltiplas pelo HPV em brasileiras portadoras do HIV<sup>36</sup>.

Em Belo Horizonte, Brasil, constatou-se predominância da infecção múltipla por HPV nas portadoras do HIV (50,0%)<sup>32</sup> quando comparadas com as soronegativas (33,3%), apesar da diferença encontrada não ter sido significativa ( $p>0,05$ ). A combinação mais freqüentemente encontrada foi a dos tipos 6, 11 e 16.

Palefsky *et al.* (1999)<sup>25</sup> observaram que 403 (23%) entre 1.778 mulheres americanas infectadas pelo HIV tinham dois ou mais tipos de HPV, com 3% apresentando seis ou mais tipos.

Em outras pesquisas, a multiplicidade da infecção pode ter sido subestimada devido ao uso de técnicas PCR-RFLP. Sun *et al.* (1997)<sup>26</sup> encontraram prevalência cumulativa de HPV de 56% em estudo longitudinal, mas com dificuldades relatadas em apenas 3% dos casos, o que atribuíram à infecção por múltiplos tipos de HPV. Ellerbrock *et al.* (2000)<sup>41</sup>, empregando a estratégia MY09/11 com posterior restrição enzimática (RFLP), observaram múltiplos tipos em apenas 31 (12%) pacientes da sua coorte infectadas pelo HIV, em Nova Iorque.

Pacientes infectadas pelo HIV com vida sexual ativa e aquisição contínua de novos tipos de HPV têm mais chances de serem portadoras de mais de um tipo de HPV do que as não HIV, visto que as últimas eliminam o HPV rapidamente após cada infecção<sup>54</sup>.

#### 2.4.1 Multiplicidade x persistência do HPV

A persistência do DNA-HPV explica a alta associação entre imunossupressão mediada por HIV e lesões intra-epiteliais escamosas cervicais<sup>55</sup>. Nesse estudo longitudinal, os autores registraram que a eliminação do HPV era menor em pacientes portadoras do HIV. Se há exposição à infecção contínua, o resultado é o acúmulo de genótipos de HPV diferentes e mais prevalência de mulheres infectadas por múltiplos tipos do HPV.

Em pacientes submetidas ao tratamento de lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau, 36,2% das infectadas pelo HIV desenvolveram recorrência da lesão, comparadas com 11,1% das não HIV. Adotando conduta

expectante, 53,6% das mulheres HIV positivo apresentaram progressão, 32,1% persistência e 14,3% regressão parcial ou total da lesão, enquanto nas pacientes HIV negativo essas porcentagens foram de 23,3; 33,3 e 43,4%, respectivamente<sup>12</sup>.

Verificou-se que a presença de múltiplos tipos de HPV e baixa contagem de linfócitos T CD4+ parece ocupar papel importante, mas independente, na persistência do HPV<sup>54</sup>.

Um estudo prospectivo utilizando PCR/ hibridização reversa<sup>56</sup> relatou que a persistência da infecção pelo HPV em mulheres brasileiras aumenta o risco de aquisição de outro tipo de HPV, enquanto a co-infecção com múltiplos genótipos não influencia na persistência do HPV, o mais importante fator na gênese das anormalidades cervicais.

#### 2.4.2 Multiplicidade x imunidade

Com o aumento nos níveis de DNA-HPV, há relação entre a queda dos níveis de linfócitos T CD4<sup>+</sup> e o aumento do número de tipos de HPV em espécimes cervicais e anais de mulheres e homens infectados pelo HIV<sup>22</sup>.

Nenhuma relação entre contagem de linfócitos T CD4 e presença do HPV pôde ser estabelecida<sup>35</sup>. Além disso, não houve correlação significativa entre o número de genótipos do HPV e a contagem de linfócitos T CD4 ou da carga viral do HIV.

A presença de múltiplos subgrupos de HPV pode refletir disfunção da resposta imune, que não é indicada pela contagem de linfócitos T CD4+ e que

vem ocorrendo ao longo do tempo. A resposta das citocinas no muco cervical está alterada em pacientes infectadas pelo HIV quando comparadas com as HIV negativo<sup>54</sup>.

#### 2.4.3 Multiplicidade x alteração citológica

Chang *et al.* (1997)<sup>57</sup> descreveram um número decrescente de tipos de HPV em pacientes com piora do diagnóstico citológico. Tal achado foi confirmado por outros estudos em que se observou que o número médio dos tipos de HPV não aumenta significativamente com a piora da classe citológica ou diminuição da contagem de linfócitos T CD4<sup>35,58,59</sup>.

Observou-se clara tendência no decréscimo do número de genótipos do HPV com a progressão da classificação de Papanicolau em estudo realizado em mulheres brasileiras. A prevalência de múltiplos tipos de HPV foi mais alta em pacientes com classe citológica I e II de Papanicolau, comparada com aquelas com classe III<sup>34</sup>.

O número médio de tipos de HPV foi similar em todas as categorias citológicas, enquanto associação entre piora do diagnóstico citológico e queda da contagem de linfócitos T CD4 foi claramente observada<sup>35</sup>.

Apesar da alta carga viral do HPV e do HIV, o número de pacientes infectadas com mais de três tipos de HPV com classe III de Papanicolau não foi significativamente diferente daquelas infectadas por um único tipo de HPV<sup>35</sup>.

#### 2.4.4 Multiplicidade x lesões intra-epiteliais cervicais

A detecção de infecções por múltiplos tipos de HPV tem sido proposta por um grupo de pesquisadores como um indicador de prognóstico para neoplasia intra-epitelial cervical em pacientes infectadas pelo HIV<sup>60</sup>.

Outros estudos não confirmam a associação entre multiplicidade de HPV e aumento da frequência de lesões intra-epiteliais cervicais<sup>35,61</sup>. Esses autores acreditam que a maioria das lesões intra-epiteliais cervicais é causada por um tipo de HPV, enquanto os outros tipos detectados atuam como fatores de menor importância e, possivelmente, não conferem risco adicional significativo de neoplasia.

A presença de múltiplos tipos de HPV torna impossível a atribuição de lesões prevalentes a um tipo particular de HPV<sup>35</sup>.

Acima de 50% das pacientes infectadas pelo HIV com neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau contêm um tipo de HPV ou mais, além do HPV-16<sup>51</sup>.

A infecção múltipla pelo HPV foi mais frequente entre as mulheres que apresentavam lesões de baixo grau e, à medida que aumentou a gravidade da lesão cervical, a infecção simples se tornou mais frequente<sup>57</sup>.

### 3 OBJETIVOS

---

- Determinar a prevalência do papilomavírus humano e identificar os seus genótipos em pacientes infectadas pelo HIV, de algumas cidades do estado de Minas Gerais.
- Investigar nessas pacientes a multiplicidade de genótipos do papilomavírus humano.
- Estabelecer possíveis associações relacionadas à progressão da infecção pelo HIV que possam justificar a maior prevalência e multiplicidade do HPV. nas mulheres infectadas pelo HIV.

## 4 PACIENTES E MÉTODOS

---

### 4.1 Considerações éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (ANEXO A), juntamente com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).

### 4.2 Pacientes

Foram estudadas 288 pacientes atendidas no Ambulatório de Ginecologia do CTR-DIP Orestes Diniz da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, em convênio com a UFMG, e pacientes atendidas no sistema público de saúde das demais cidades mineiras: Betim, Barbacena, Conselheiro Lafaiete e Divinópolis. O período de estudo foi de agosto de 2003 a agosto de 2006.

Todas as pacientes foram submetidas a questionário padrão durante atendimento ginecológico no ambulatório (APÊNDICE B).

Realizaram-se anamnese, exame ginecológico completo com coleta de material para detecção do HPV pela PCR, coleta de material para colpocitologia oncótica, colposcopia e biópsia dirigida, quando indicada.

#### 4.2.1 Critérios de inclusão

##### A) População alvo

- Mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV), rastreadas pelo *enzyme-linked immunoabsorbent assay* (ELISA) e confirmadas pela imunofluorescência indireta ou *western blot*, com ou sem AIDS.

##### B) População acessível

- Pacientes atendidas no ambulatório de ginecologia do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (CTR-DIP) Orestes Diniz da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, em convênio com a Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), em Belo Horizonte.
- Pacientes atendidas no ambulatório de ginecologia da Prefeitura Municipal das seguintes cidades do estado de Minas Gerais: Betim, Barbacena, Divinópolis e Conselheiro Lafaiete.



#### 4.2.2 Critérios de exclusão

- Pacientes que se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participar da pesquisa.
- Pacientes com impedimento para fornecer dados para o trabalho (barreira de linguagem, desorientação).
- Pacientes que tiveram suas amostras sem qualidade para a detecção do HPV através da reação em cadeia de polimerase (PCR).
- Pacientes histerectomizadas e gestantes.

#### 4.3 Cálculo amostral

Para calcular o tamanho da amostra do número de pacientes a serem observadas neste estudo, utilizou-se o *Stat Calc* do programa Epi-Info versão 3.3.2.

Foi estabelecido  $\alpha = 0,05$  (nível de significância estatística de 95%) e  $\beta = 0,20$ , conferindo ao estudo o poder estatístico de 80%.

Com base nos dados da literatura, a prevalência do HPV entre as pacientes portadoras do HIV é variável.

TABELA 1

Prevalência do HPV em mulheres portadoras do HIV na literatura

Zimmermann (2002) <sup>30</sup>	Levi <i>et al.</i> (2004) <sup>35</sup>	Campos <i>et al.</i> (2005) <sup>32</sup>	Luque <i>et al.</i> (2006) <sup>39</sup>
75-80%	87%	73,2%	52%

Optou-se por utilizar a prevalência de 50% para obter-se um tamanho amostral mínimo maior, o que garante mais precisão nos resultados dos testes estatísticos.

Foi também necessário, para o cálculo amostral, determinar a precisão desejada para as medidas de associação. Nesse aspecto, o tamanho amostral foi determinado em função de se obter uma razão de chances (*odds ratio*) tal que fosse estatisticamente significativa a partir de um valor de 2,05. Deste modo, o número mínimo de casos necessário para conferir o poder estatístico proposto, considerando-se esses parâmetros (prevalência e *odds-ratio*), seria de 278.

#### 4.4 Métodos

É um estudo transversal, com componentes analíticos e descritivos.

Para a sua execução, algumas etapas foram seguidas:

*Etapa 1* – Normatização de procedimentos em relação ao exame e coleta do material cervical das pacientes; instruções sobre o preenchimento do banco de dados; normas para diagnóstico e tratamento das lesões cervicais.

*Etapa 2* – Exame das pacientes e coleta do material para diagnóstico e tratamento. Constituição do banco de dados.

*Etapa 3* – Avaliação parcial dos resultados.

*Etapa 4* – Término da coleta do material.

*Etapa 5* – Digitação e análise dos dados.

*Etapa 6* – Apresentação, discussão dos resultados e conclusão.

#### 4.4.1 Exame físico

Todas as pacientes foram submetidas a exame ginecológico completo, com coleta de material para detecção do HPV e seus genótipos, coleta de material para citologia oncótica e colposcopia. As pacientes que apresentaram alterações colposcópicas foram submetidas à biópsia dirigida.

##### 4.4.1.1 Coleta de material para detecção do HPV e seus genótipos

Foi utilizada a PCR (reação em cadeia da polimerase) para detecção do HPV.

Após a colocação do espéculo vaginal, antes de coletar-se o material para citologia oncótica, com o auxílio de uma espátula de Ayre, fez-se um

raspado cauteloso do colo uterino. Quebrou-se essa espátula com o intuito de diminuir o seu comprimento, colocando-a em um tubo de ensaio contendo aproximadamente 2 ml de soro fisiológico 0,9%. O tubo foi rotulado com o nome completo da paciente, número de registro no serviço e data da coleta. A seguir, foi enviado ao Núcleo de Pesquisa e Apoio Diagnóstico (NUPAD) da Faculdade de Medicina da UFMG, acondicionado em caixa de isopor com gel refrigerado. Caso não fosse possível o envio imediato, o mesmo era armazenado em geladeira. Todo o material chegava ao laboratório em, no máximo, 24 horas. Foram utilizados *primers* específicos para os tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35 do papilomavírus humano.

#### 4.4.1.2 Coleta de material para citologia oncótica

A coleta de material para citologia oncótica foi realizada com espátula de Ayre e escova endocervical ("*cytobrush*"). Os laudos foram emitidos segundo a classificação de Bethesda (ANEXO C).

#### 4.4.1.3 Colposcopia

Foi utilizado o colposcópio da marca Vasconcelos, modelo padrão, com três aumentos.

Técnica: primeiro aplicava-se o ácido acético a 3% sobre o colo uterino, com o objetivo de pesquisar áreas acetobranças. Após essa primeira avaliação

colposcópica, o colo era corado com solução de Schiller e novamente observado ao colposcópico. Toda área iodo-negativa era estudada. O passo seguinte era a aplicação de solução de bissulfito de sódio a 5% para retirar o iodo. O ácido acético a 3% era reaplicado e novamente era realizado estudo colposcópico com o objetivo de identificar as imagens alteradas. A representação gráfica da lesão foi registrada no prontuário da paciente. Para a classificação colposcópica das lesões cervicais, adotou-se a nomenclatura proposta pelo Comitê da Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia (Roma, Itália, maio de 1990) (ANEXO B).

#### 4.4.1.4 Biópsia dirigida do colo uterino

A biópsia foi realizada sob visão colposcópica, utilizando-se a pinça Professor Medina ou similar. O material biopsiado foi fixado em formol a 10% e processado para estudo histopatológico na rotina dos Serviços de Biópsias do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG. Nas cidades do interior, o exame foi realizado pelo histopatologista local.

As pacientes portadoras de lesões cervicais de alto grau foram submetidas à cirurgia de alta frequência (CAF) para tratamento, com seguimento de três, seis e 12 meses. As recidivas que ocorreram foram novamente tratadas. O tratamento ocorreu em cada localidade ou em Belo Horizonte.

#### 4.4.2 Exames laboratoriais

##### 4.4.2.1 PCR (reação em cadeia de polimerase)

As amostras entregues ao NUPAD foram conservadas em geladeira a 4°C até seu processamento.

Inicialmente, procedeu-se à homogeneização do material da amostra e todas as amostras foram transferidas para tubos *Eppendorf*, para que se processasse a centrifugação por um minuto, a 14.000 rpm, para a formação de depósito no fundo do tubo (*pellet*). O sobrenadante foi desprezado e ao *pellet* foram adicionados 200µl de resina quelante (Chelex-100 a 20%). A mistura foi colocada em banho seco a 100 °C por 20 minutos e colocada em geladeira até a preparação do mix, para a qual foram empregados os seguintes reagentes:

*MIX* para a PCR com *primers* genéricos para o HPV (MY09 e MY11):

*Buffer* (1X) 50mM de KCl; 4mM de MgCl<sub>2</sub>; 10mM de Tris - HCl (pH 8,5)

dNTPs (dexoxirribonucleotídeos trifosfato) .....200 µM

Taq DNA polimerase .....2,5 UI

*Primers* 1 e 2 (2,5 µl de cada um).....5,0 µl (25 pmoles)

Água .....28,5 µl

Total .....40,0 µl

DNA.....10 µl

*MIX* para a *nested* PCR:

<i>Buffer</i> (1X) 50mM de KCl; 4mM de MgCl <sub>2</sub> ; 10mM de Tris - HCl (pH 8,5)	
dNTPs (dexoxirribonucleotídeos trifosfato) .....	200 µM
Taq DNA polimerase .....	2,5 UI
<i>Primers nested</i> 1 e 2 (1,0 µl de cada um).....	2,0 µl (10 pmoles)
Água .....	40,5 µl
Total .....	49,0 µl
Produto da 1º PCR .....	1 µl

*MIX* para a tipagem com *primers* alelo-específicos:

<i>Buffer</i> (1X) 50mM de KCl; 4mM de MgCl <sub>2</sub> ; 10mM de Tris - HCl (pH 8,5)	
dNTPs (dexoxirribonucleotídeos trifosfato) .....	200 µM
Taq DNA polimerase .....	2,5 UI
<i>Primers</i> tipo-específicos 1 e 2 (2,5 µl de cada um).....	5,0 µl (25 pmoles)
Água .....	33,5 µl
Total .....	45,0 µl
DNA .....	5 µl

Obs: O *buffer* usado na reação da PCR vem pronto para uso junto com a enzima.



FIGURA 2 - Etapas da reação em cadeia da polimerase: preparação do *mix* para a realização da reação.

Fonte: Souza (2000)<sup>62</sup>.

No *mix* da PCR com os *primers* genéricos para o HPV (geral), foram acrescentados 10  $\mu$ l do DNA extraído e no *mix* da *nested* PCR foi adicionado 1  $\mu$ l do produto da PCR realizada com os *primers* genéricos; no *mix* da PCR com os *primers* alelo-específicos foram acrescentados 5  $\mu$ l do DNA extraído, completando o volume final de 50  $\mu$ l e, após a adição do DNA, as amostras foram levadas ao termociclador por duas horas e 40 minutos, onde foi acionado o Programa de Amplificação, composto de três etapas:

- a. Desnaturação: o DNA de dupla-fita é separado em fitas únicas mediante brusca elevação da temperatura para 95°C.
- b. Anelamento: ocorre entre a cadeia original do DNA (agora já desnaturado) e a seqüência de nucleotídeos dos *primers*, que se ligarão à região inicial gênica a ser amplificada.



- c. Extensão: a extensão é desempenhada pela enzima *Taq* DNA polimerase, de modo que ambas as fitas de DNA são convertidas em quatro fitas. A PCR é concluída, geralmente, após 40 ciclos de reação.

Cada reação de PCR possui um Programa de Amplificação específico, onde o tempo e as temperaturas são variáveis. Os Programas de Amplificação usados no NUPAD são os seguintes:

**PCR – *Primer* geral, globina, tipos 16, 31 e 35**

94°C.....	1'	}	30x
90°C.....	30"		
54°C.....	2'		
72°C.....	1'		
72°C.....	10'		
4°C .....	16hs		

**PCR – *Primer* geral interno (*nested*)**

94°C.....	4'	}	40x
94°C.....	1'		
45°C.....	1'		
72°C.....	1' 30"		
72°C.....	10'		
4°C .....	16hs		

**PCR – Primer tipo 6**

94°C..... 1' }  
90°C.....30" }  
56°C.....2' } 30x  
72°C.....1' }  
72°C.....10'  
4°C .....16hs

**PCR – Primer tipo 11**

94°C..... 1' }  
90°C.....30" }  
61°C.....2' } 30x  
72°C.....1' }  
72°C.....10'  
4°C .....16hs

**PCR – Primer tipo 18**

94°C..... 1' }  
90°C.....30" }  
58°C.....2' } 30x  
72°C.....1' }  
72°C.....10'  
4°C .....16hs

PCR – *Primer tipo 33*

94°C..... 1'	}	30x
90°C.....30"		
50°C.....2'		
72°C.....1'		
72°C.....10'		
4°C .....16hs		



FIGURA 3 - Amostras sendo colocadas no termociclador onde ocorrerão as etapas da PCR: desnaturação, anelamento e extensão.

Fonte: Souza (2000)<sup>62</sup>.

Depois de amplificados no termociclador, os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio, a partir da comparação visual com os fragmentos de DNA constituintes de um padrão de peso molecular conhecido.

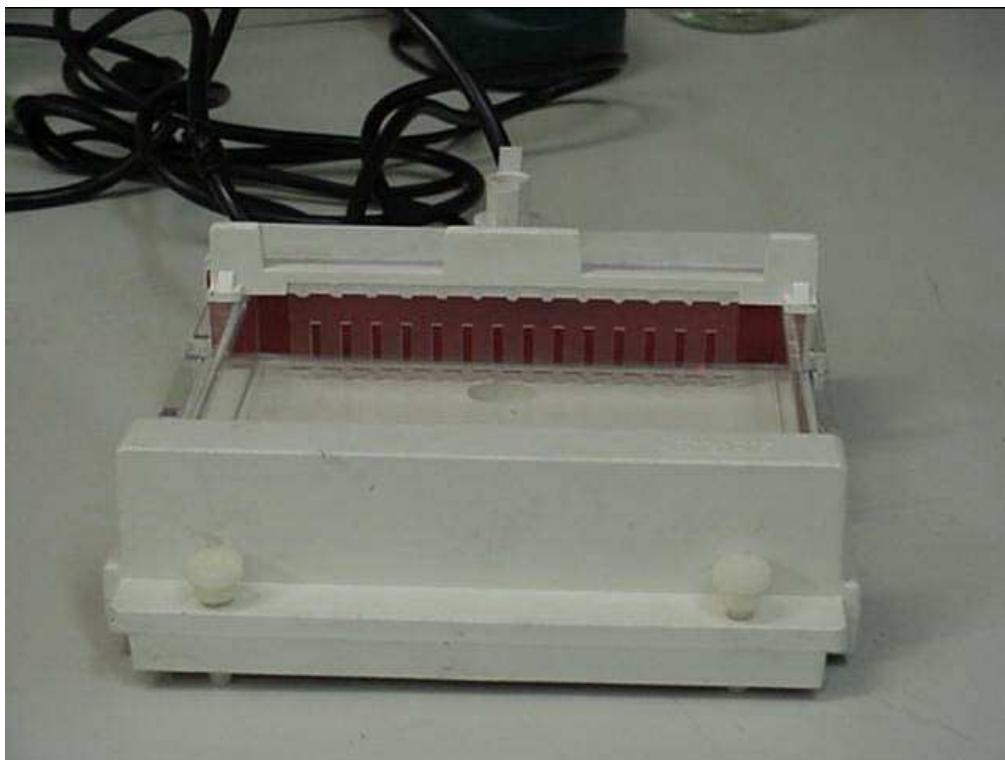


FIGURA 4 - Montagem de gel de agarose.

A agarose fundida é despejada nessa cuba de montagem, onde é deixada até a polimerização. Na foto pode-se ver o pente utilizado para a formação dos poços. Após o término da polimerização, o pente é retirado e em seu lugar ficam espaços cujo volume pode variar de 10 a 150  $\mu\text{L}$ , dependendo do volume de agarose e do sistema de montagem.

Para o controle da extração do DNA utilizou-se um par de *primers* que amplifica o gene da  $\beta$  globina humano. Essa amplificação atesta a integridade das amostras de DNA extraídas, ou seja, existe DNA adequado para a reação de PCR.

Para a pesquisa dos tipos de HPV presentes nas amostras (tipagem), foram utilizados dois procedimentos de PCR. Primeiramente, foi feito o *mix* de detecção para o diagnóstico qualitativo. Quando o resultado foi positivo, procedeu-se à tipagem. A reação de detecção foi realizada por meio de PCR com um par de *primers* genéricos, seguida da reação de *nested* PCR com um par de *primers* interno.

Após o anelamento desses iniciadores, um DNA polimerase termoestável utilizou as resultantes de 20 a 25 fitas duplas de base para conduzir 40 ciclos de PCR. Deste modo, foi possível realizar a tipagem a partir do DNA extraído, com iniciadores específicos para cada tipo de HPV.

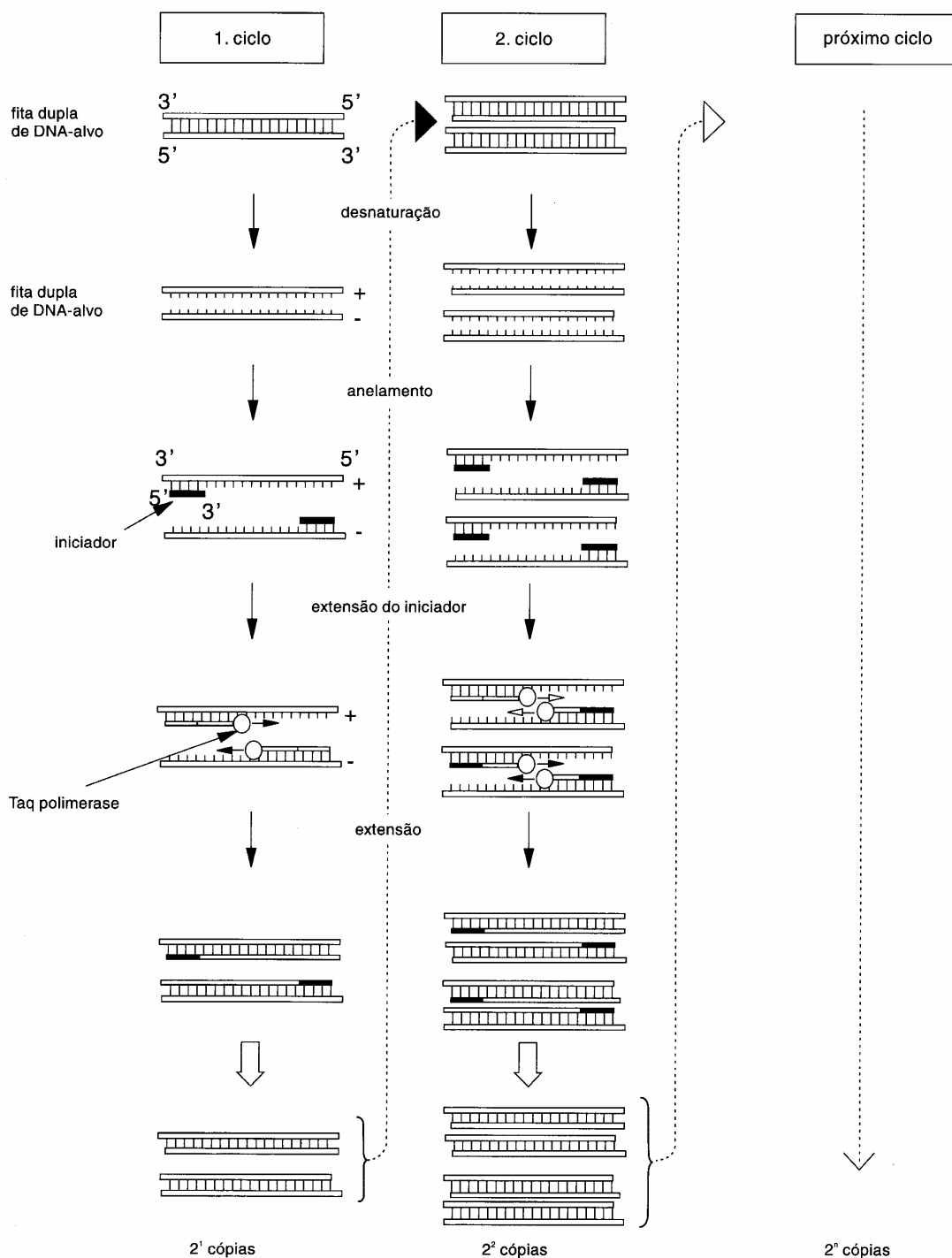


FIGURA 5 - Esquema ilustrativo das etapas da PCR.

As amostras de DNA sem qualidade suficiente foram excluídas e as amostras positivas foram tipadas para os tipos 6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35, sendo utilizado um par de *primers* específico para a tipagem de cada tipo de HPV. Para cada amostra foram realizadas sete reações (6, 11, 16, 18, 31, 33 e 35): uma para cada tipo a ser pesquisado.

#### QUADRO 1

Interpretação dos resultados do procedimento da PCR

<b>Globina</b>	<b>Geral</b>	<b>Consensus</b>	<b>Resultado</b>
Negativo	Negativo	Negativo	Amostra sem qualidade
Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

O HPV foi classificado de acordo com seu potencial oncogênico em baixo risco (6, 11) e alto risco (16, 18, 31, 33 e 35).

Importante ressaltar que, para evitar a contaminação do DNA estranho, foram utilizadas salas independentes para cada uma das seguintes etapas: extração do DNA, preparação do *mix*, procedimentos da PCR e eletroforese.

A interpretação dos resultados do procedimento da PCR foi descrita no QUADRO 1 e os iniciadores utilizados no NUPAD estão descritos no QUADRO 2.

## QUADRO 2

Esquema de iniciadores utilizados pelo NUPAD

Tipo	Nº	Seqüência de Nucleotídeo	Região	Fragmento (pb)
HPV 6	PI	5'-TAGGGGACGGTCCTCTATTC-3'	LCR	259
HPV 6	P2	5'-GCAACAGCCTCTGAGTCACA-3'	LCR	
HPV 11	PI	5'-GAATACATGCGCCATGTGGA-3'	L1	357
HPV 11	P2	5'-AGCAGACGTCCGTCCTCGAT-3'	L1	
HPV 16	PI	5'-TCAAAGCCACTGTGTCCTG-3'	E6	271
HPV 16	P2	5'-CGTGTTCCTTGATGATCTGCAA-3'	E6	
HPV 18	PI	5'-TGGTGTATAGAGACAGTATACCCCA-3'	E6	247
HPV 18	P2	5'-GCCTCTATAGTGCCCAGGTATGT-3'	E6	
HPV 31	PI	5'-TGAACCGAAAACGGTTGGTA-3'	E6	613
HPV 31	P2	5'-CTCATCTGAGCTGTCCGGTA-3'	E7	
HPV 33	PI	5'-AGTAGGGTGTAACCGAAAGC-3'	E6	411
HPV 33	P2	5'-CTTGAGGACACAAAGGTCTT-3'	E6	
HPV 35	PI	5'-GAATTACAGCGGAGTGAGGT-3'	E6	290
HPV 35	P2	5'-CACCGTCCACCGATGTTATG-3'	E6	
Consensus	PI	5'-CGTAAACGTMCCCTATTTTTTTT-3'	L1	244-256
Consensus	P2	5'-TACCCTAAATACTCTGTATTG-3'	L1	
Geral	PI	3'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-5'	L1	450
Geral	P2	5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'	L1	
β-globina	PI	5'-CTAGCAACCTCAAACAGACA-3'		204
β-globina	P2	5'-TGCCTATCAGAAACCCAAAGA-3'		

Fonte: Mannis *et al.* (1989)<sup>63</sup>, Arndt, Nottelmann e Neumann (1994)<sup>64</sup> e Duggan *et al.* (1994)<sup>65</sup>.

Atualmente, o *primer consensus* não está sendo utilizado no NUPAD, sendo substituído pelo *primer geral interno*. Seqüência do *primer geral interno* (usado na *nested PCR*):

P1 – TTT GTT ACT GTG GTA GAT AC

P2 – GAA AAA TAA ACT GTA AAT CA

#### 4.4.2.2 Estudo histopatológico do colo uterino

Foi realizado pelo serviço de biópsias do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da UFMG, com padronização do laudo. Nas cidades do interior, o exame foi feito pelo histopatologista local.

O material foi fixado em formol a 10% e processado para estudo histológico, sendo realizados cortes dos blocos de parafina com 5  $\mu$ m de espessura, os quais foram corados com hematoxilina-eosina.

Com base na literatura, a análise e descrição histológica, neste estudo, seguiram a orientação de Wright *et al.* (1994)<sup>66</sup>, baseada na classificação proposta por Richart (1973)<sup>67</sup> (ANEXOS C; D).

#### 4.4.2.3 A citometria de fluxo para a contagem de linfócitos T CD4

A contagem de linfócitos T CD4 foi realizada a partir da utilização de anticorpos monoclonais para uso comercial e da realização de citometria de fluxo (Becton Dickinson). O número absoluto dos linfócitos T CD4 foi calculado baseado na contagem total de linfócitos.

Foram aceitas as dosagens de linfócitos T CD4 realizadas pelo Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG ou Laboratório Central da PBH, cujos laudos constam no prontuário médico, porque esses laboratórios fazem parte da rede de CD4 do Ministério da Saúde e usam o *kit* e equipamento do mesmo fabricante.



Foi considerado na análise o menor valor da contagem de linfócitos T CD4 mais próximo da data da coleta para PCR nos seis meses que antecederam até seis meses após a data da coleta para PCR. A descrição da técnica está no ANEXO E.

#### 4.4.2.4 Método de quantificação da carga viral do HIV

Foram aceitos os laudos existentes em prontuário médico das dosagens da carga viral pelos testes:

- NASBA QR System® (Organon Teknika)

A técnica NASBA permite a amplificação isotérmica do RNA do HIV-1 de filamento simples, utilizando três enzimas: a transcriptase reversa do vírus da mieloblastose aviária, uma RNase H e a RNA polimerase do fago T7. Possibilita também a obtenção de  $10^6$  a  $10^9$  cópias em menos de uma hora. Seu limite de detecção passou de 400 para 80 cópias do RNA viral por ml de plasma, recebendo o *kit* o nome de NASBA *nuclisens HIV-1 Qt*. A variação interensaios do *kit* NASBA é comparável à da PCR Roche.

- Quantiplex HIV RNA 3.0, tecnologia bDNA (*branched chain deoxyribonucleic acid* – utiliza moléculas de DNA ramificadas) do fabricante Bayer com limite inferior de detecção de 50 cópias/ml e superior de, no máximo, 500.000 cópias/ml.

Os dois testes foram realizados no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular - DIP da Faculdade de Medicina da UFMG ou pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED) – Instituto Octávio Magalhães Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças – Laboratório de Virologia. Ambos fazem parte da rede nacional de quantificação da carga viral do HIV do Ministério da Saúde com as devidas padronizações de equipamento e *kit*.

Foi considerado na análise o valor da carga viral cujo laudo estivesse no prontuário da paciente, dosado pelo método NASBA, NASBA *nuclisens* ou bDNA, independentemente da sensibilidade de detecção do método. Utilizou-se a dosagem mais alta e mais próxima da data da coleta para PCR, no intervalo entre um ano antes até seis meses após a data da coleta para PCR. A descrição das técnicas está no ANEXO F.

#### 4.4.3 Coleta dos dados

Foram estabelecidos alguns critérios para a coleta dos dados: presença ou ausência de HPV, dosagem da carga viral do HIV e contagem de linfócitos T CD4.

##### 4.4.3.1 Presença ou ausência de HPV

Foi considerada portadora de HPV a paciente infectada pelo HIV que apresentou resultado da PCR positivo no material coletado da cérvix uterina.

As pacientes infectadas pelo HIV que tiveram resultado da PCR negativo foram consideradas não portadoras de HPV.

#### 4.4.3.2 Cortes na dosagem da carga viral

A partir de estudo realizado anteriormente em nosso serviço<sup>47</sup>, foram criados dois cortes para o valor da carga viral:

- $\leq 400$  cópias/ml;
- $> 400$  cópias/ml.

A seguir, dois novos cortes foram feitos baseados na média da quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.

#### 4.4.3.3 Cortes na contagem dos linfócitos T CD4

Baseado na classificação em AIDS e não-AIDS, pelo Centro para Controle de Doenças e Prevenção (CDC), de 1993<sup>3</sup>, foram criados dois cortes para cada categoria de linfócitos T CD4:

- $< 200$  células/mm<sup>3</sup>;
- $\geq 200$  células/mm<sup>3</sup>.

Dois novos cortes foram feitos baseados na média da contagem de linfócitos T CD4+ das mulheres portadoras do HIV, das cinco cidades de Minas Gerais.

#### 4.4.4 Método estatístico

Os dados foram armazenados e analisados no programa de computador Epi-Info, versão 3.3.2, de fevereiro de 2005. Para sua análise, também foi utilizado o programa EXCEL 2003, como auxiliar na conferência dos resultados, nas categorizações e nas seleções de subconjuntos de dados.

Em relação aos testes estatísticos, nas comparações nas quais a variável dependente fosse categórica (presença ou ausência do HPV) e as variáveis independentes também fossem categóricas, foi empregado o teste do qui-quadrado.

Foi considerado o valor de 5% ( $p < 0,05$ ) como limiar de significância estatística.

#### 4.4.5 Método bibliográfico

Para a redação do texto e referência bibliográfica deste estudo, foi consultado o Manual para normalização de publicações técnico-científicas<sup>68</sup>.

A revisão bibliográfica foi obtida no Medline, Lilacs e livros textos.

## 5 RESULTADOS

---

A análise dos dados das 288 pacientes portadoras do HIV atendidas no Ambulatório de Ginecologia do CTR-DIP Orestes Diniz da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, em convênio com a UFMG, e no sistema público de saúde de Betim, Barbacena, Conselheiro Lafaiete e Divinópolis permitiu a apresentação dos resultados a seguir.

Das 288 pacientes estudadas, cada uma das cidades contribuiu com as seguintes amostras:

TABELA 2  
Número e percentual de pacientes avaliadas,  
com a respectiva cidade de origem

<b>Cidades</b>	<b>Pacientes n (%)</b>
Belo Horizonte	152 (52,8)
Betim	36 (12,5)
Barbacena	20 (6,9)
Divinópolis	44 (15,3)
Cons. Lafaiete	36 (12,5)
<b>Total</b>	<b>288 (100)</b>

## 5.1 Características da amostra

Foram analisadas as características amostrais de cada cidade participante do estudo e as características de todas as 288 pacientes, pela análise das informações contidas em um banco de dados unificado.

As variáveis estudadas nessa etapa da análise foram idade (em anos) ao entrar no estudo, idade de início de atividade sexual, número de parceiros, estado civil, tipo de trabalho, tabagismo, uso de preservativo, forma de contágio e uso de drogas injetáveis.

A TAB. 3 mostra a distribuição das variáveis quantitativas (idade ao entrar no estudo, idade de início de atividade sexual, número de parceiros) em cada uma das cinco cidades e no total, analisadas a partir da mediana.

TABELA 3

Distribuição da mediana das variáveis quantitativas  
nas cinco cidades de Minas Gerais \*

VARIÁVEIS	BH	BETIM	BARBACENA	DIVINÓPOLIS	CONS. LAFAIETE	n	Todas as cidades
<b>Idade (em anos)</b>	35 (20-61)	37 (20-67)	40 (20-65)	34 (23-64)	37,5 (21-65)	<b>288</b>	<b>35 (20-67)</b>
<b>Idade (em anos) de início de atividade sexual</b>	17 (11-32)	17 (12-25)	17 (12-27)	17 (10-34)	17 (10-24)	<b>283</b>	<b>17 (10-34)</b>
<b>Número de parceiros</b>	3,0 (1-30)	3,0 (1-10)	2,5 (1-30)	3,0 (1-50)	3,0 (1-200)	<b>266</b>	<b>3,0 (1-200)</b>

\* Os números mostrados entre parênteses referem-se aos valores mínimo e máximo encontrados.

Optou-se por adotar a mediana para construção da TAB. 3, tendo em vista que o desvio-padrão para as variáveis “idade ao entrar no estudo” e “número de parceiros” foi alto em algumas cidades, sugerindo que a média não era a melhor opção para apresentação desses dados.

As tabelas com os valores da média, mediana e desvio-padrão podem ser conferidas no APÊNDICE C.

A TAB. 4 mostra as características sociais e comportamentais das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.

TABELA 4

Características sociais e comportamentais das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Características sociais e comportamentais	BH (n=152)		BETIM (n=36)		BARBACENA (n=20)		DIVINÓPOLIS (n=44)		C. LAFAIETE (n=36)		TODAS AS CIDADES (n=288)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Estado civil</b>												
Solteiras	49	32,2	10	27,8	7	35	12	27,3	7	19,4	85	29,5
Separadas	15	9,9	4	11,1	2	10	5	11,4	9	25	35	12,2
Viúvas	20	13,2	6	16,7	6	30	4	9,1	5	13,9	41	14,2
Casadas+ união estável	68	44,7	16	44,4	5	25	23	52,3	15	41,7	127	44,1
<b>Tipo de trabalho</b>												
Do lar	82	53,9	5	13,9	15	75	20	45,5	27	75	149	51,7
Fora do lar	68	44,7	18	50	4	20	22	50	8	22,2	120	41,7
Profissionais do sexo	0	0	2	5,6	1	5	2	4,5	1	2,8	6	2,1
Ignorado	2	1,3	11	30,6	0	0	0	0	0	0	13	4,5
<b>Tabagismo</b>												
Sim	40	26,3	10	27,8	10	50	16	36,4	14	38,9	90	31,3
Não	92	60,5	23	63,9	7	35	25	56,8	16	44,4	163	56,6
Ex-tabagista	20	13,2	3	8,3	3	15	3	6,8	6	16,7	35	12,2
<b>Uso de preservativo</b>												
Sim	60	39,5	13	36,1	7	35	22	50	21	58,3	123	42,7
Não	84	55,3	23	63,9	13	65	22	50	15	41,7	157	54,5
Ignorado	8	5,3	0	0	0	0	0	0	0	0	8	2,8
<b>Forma de contágio</b>												
Sexual	140	92,1	31	86,1	19	95,0	39	88,6	36	100,0	265	92
Sangue	0	0	1	2,8	0	0,0	1	2,3	0	0,0	2	0,7
Ignorado	12	7,9	4	11,1	1	5,0	4	9,1	0	0,0	21	7,3
<b>Uso drogas injetáveis</b>												
Sim	0	0	2	5,6	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	0,7
Não	152	100	33	91,7	19	95,0	43	97,7	35	97,2	282	97,9
Ex-usuária	0	0	1	2,8	1	5,0	1	2,3	1	2,8	4	1,4

HIV = vírus da imunodeficiência humana.



Ao unificarem-se as informações coletadas de todas as cinco cidades participantes do estudo, obteve-se amostra de 288 portadoras do HIV, cuja mediana de idade foi 35 anos, com início de atividade sexual média aos 17,8 anos. A promiscuidade sexual não foi fator que se destacou nesse grupo, tendo em vista que 44,1% das mulheres eram casadas ou com união estável, com mediana de parceiros sexuais durante a vida igual a três.

Da mesma forma, o tabagismo foi outra característica que também não se destacou entre essas mulheres, já que 56,6% referiram não ter esse hábito. O grupo de tabagistas e ex-tabagistas foi de 43,5%.

A maioria das pacientes desempenhava suas atividades profissionais no lar (51,7%), e apenas 2,1% eram profissionais do sexo. A transmissão sexual foi a via predominante (92%) para aquisição do vírus da imunodeficiência humana entre as 288 pacientes. Contudo, o uso do preservativo ainda não é prática comum adotada pelos parceiros dessas mulheres, tendo em vista que 54,5% delas mantinham relações sexuais desprotegidas.

Quanto ao uso de drogas injetáveis, identificaram-se apenas duas (0,7%) usuárias e quatro (1,4%) ex-usuárias entre as pacientes de todas as cinco cidades de Minas Gerais.

Na amostra de Conselheiro Lafaiete, uma paciente relatou ter tido 200 parceiros. Por esse motivo, a média do número de parceiros se mostrou tão elevada (10,4) quando comparada às demais cidades. O desvio-padrão foi de 34,2. Entretanto, a mediana manteve-se semelhante àquela encontrada no restante da amostra das outras cidades (3,0).

Na caracterização da amostra de Barbacena, o número de mulheres solteiras (35%) ultrapassou o número das casadas ou com união estável (25%). O número mais alto de viúvas (30%) foi encontrado nessa cidade.

Em Divinópolis, assim como em Betim, metade das mulheres (50%) trabalhava fora do lar, característica que não predominou nas outras cidades analisadas.

Na TAB. 5 são apresentadas as características clínicas e laboratoriais das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais.

TABELA 5

Características clínicas e laboratoriais das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Características clínicas e laboratoriais	BH (n=152)		BETIM (n=36)		BARBACENA (n=20)		DIVINÓPOLIS (n=44)		C. LAFAIETE (n=36)		TODAS AS CIDADES (n=288)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Classificação CDC</b>												
AIDS (A3+B3+C1+C2+C3)	74	48,7	17	47,2	13	65	21	47,7	19	52,8	144	50
NÃO AIDS (A1+A2+B1+B2)	75	49,3	19	52,8	5	25	20	45,5	17	47,2	136	47,2
Ignorado	3	2	0	0	2	10	3	6,8	0	0	8	2,8
<b>Uso de anti-retrovirais</b>												
Usa	101	66,4	22	61,1	14	70	32	72,7	26	72,2	195	67,7
Não usa	51	33,6	14	38,9	5	25	11	25	10	27,8	91	31,6
Ignorado	0	0	0	0	1	5	1	2,3	0	0	2	0,7
<b>Colposcopia</b>												
Normal	99	65,1	19	52,8	12	60	30	68,2	22	61,1	182	63,2
Alterada	50	32,9	16	44,4	8	40	14	31,8	13	36,1	101	35,1
Ignorada	3	2	1	2,8	0	0	0	0	1	2,8	5	1,7
<b>Linfócitos T CD4+</b>												
Média	479		479		365		388		457		455	
Mediana	423		500		392		313		404,5		408	
Desvio-Padrão	278		256		184		267		263		270	
<b>Carga Viral do HIV</b>												
Média	19.876		31.665		30.658		16.682		51.143		25.631	
Mediana	910		937		111		2.161		4.477		1100	
Desvio-Padrão	45.186		10.524		70.949		59.168		130.104		74.199	

HIV = vírus da imunodeficiência humana

Metade das mulheres (50%) tinha diagnóstico de AIDS ao entrar no estudo e 67,7% já faziam uso de anti-retrovirais. O exame colposcópico realizado na primeira consulta estava alterado em 35,1% das pacientes.

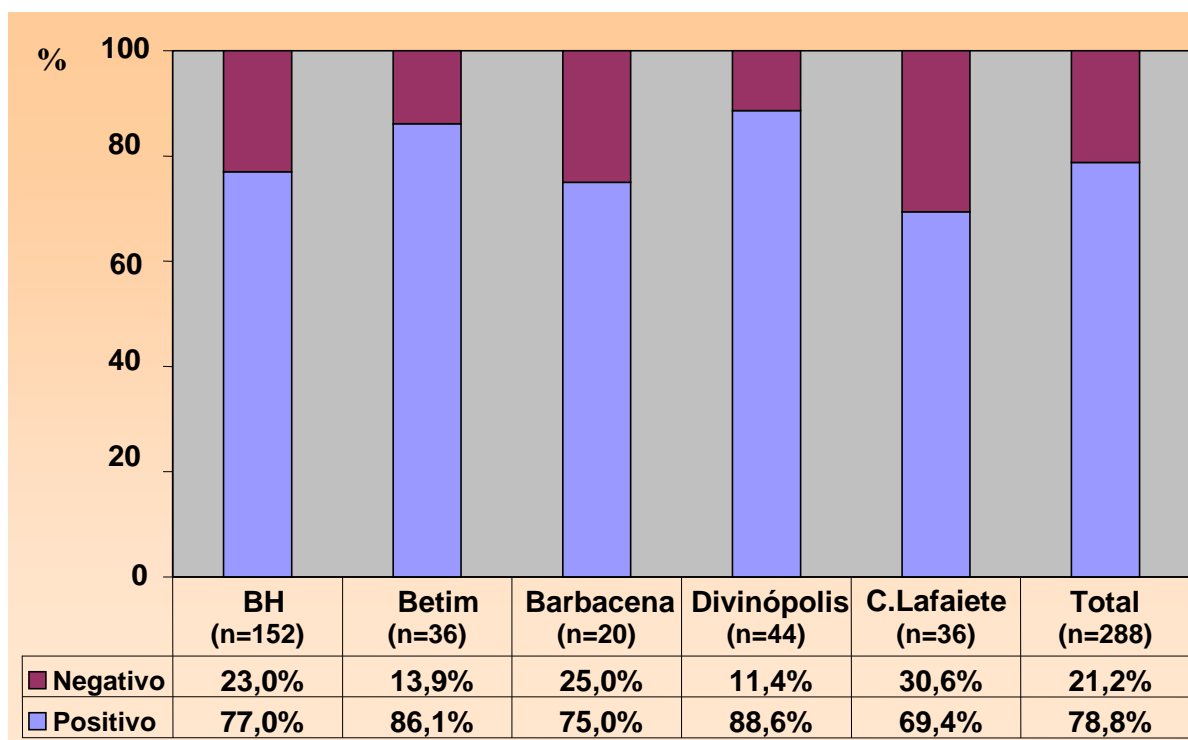
Nos resultados de exames laboratoriais, a média e a mediana de linfócitos CD4+ encontradas no presente estudo foram, respectivamente, 455 e 408 células/mm<sup>3</sup>; enquanto a média e a mediana da carga viral do HIV foram, respectivamente, 25.631 e 1100 cópias/ml.

Destaca-se o fato de que em Belo Horizonte e em Betim o número de mulheres ainda não diagnosticadas com AIDS pelo CDC superou as portadoras dessa doença, resultado não observado nas demais cidades.

A contagem de linfócitos TCD4 teve sua média mais baixa em Barbacena (365 células/mm<sup>3</sup>) e mais alta em Belo Horizonte e Betim (479 células/mm<sup>3</sup>). Quanto à quantificação da carga viral, a média mais alta foi a de Conselheiro Lafaiete (51.143 cópias/ml) e a mais baixa a de Divinópolis (16.682 cópias/ml).

## 5.2 Prevalência do HPV

A prevalência do HPV foi alta nas amostras de todas as cinco cidades de Minas Gerais (78,8%). O GRÁF. 1 apresenta a prevalência do HPV por cidades e geral.



Teste para avaliar heterogeneidade:  $\chi^2 = 6,07$  (4 graus de liberdade)  $p=0,1942$

GRÁFICO 1 - Detecção do DNA-HPV pela PCR, nas cinco cidades mineiras.

Visto que cada cidade não contribuiu com o mesmo número de casos para o estudo global, foi aplicado teste estatístico (qui-quadrado) para checar se a prevalência do HPV era homogênea entre os municípios. O resultado encontrado foi  $\chi^2 = 6,07$  (com 4 graus de liberdade), com  $p=0,1942$ ; ou seja, a diferença de prevalência entre as cidades não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

A presença do HPV de alto risco (pacientes com pelo menos um tipo de HPV de alto risco) foi observada em 160 (70,5%) casos, do HPV de baixo risco em 162 (71,4%) e do HPV de alto e baixo risco concomitante em 125 (55,1%).

### 5.3 Genotipagem: frequência e multiplicidade

A genotipagem do HPV foi realizada nas 288 amostras coletadas das pacientes participantes do estudo, utilizando a PCR, conforme relatado no capítulo 4 deste estudo.

Os genótipos mais prevalentes foram o HPV-6 (63,9%) e o HPV-16 (48,5%), conforme pode ser observado na TAB. 6.

No total das cidades, a taxa de pacientes com HPV detectado, mas não genotipado, variou de 0% (Barbacena) a 11,1% (Belo Horizonte), exceto em Conselheiro Lafaiete, cuja taxa foi de 48%.

A infecção por múltiplos genótipos do HPV esteve presente em 64,8% dos casos do total das cidades, com predomínio de dois tipos (23,8%) e três tipos (18,9%).

Quando considerada cada cidade separadamente, os tipos HPV-31 e HPV-33 foram os mais prevalentes em Barbacena (60% e 53,3%, respectivamente) e em Conselheiro Lafaiete (24%). A multiplicidade do HPV só não predominou nesta última cidade (20%).

A TAB. 6 exhibe a distribuição de frequência dos genótipos do HPV e sua multiplicidade em cada uma das cinco cidades de Minas Gerais e em todas as cidades unificadas.

TABELA 6

Freqüência e multiplicidade dos genótipos do HPV, pela PCR, nas pacientes infectadas pelo HIV, das cinco cidades de Minas Gerais

Freqüência e multiplicidade do HPV	BH (n=117)		BETIM (n=31)		BARBACENA (n=15)		DIVINÓPOLIS (n=39)		CONS. LAFAIETE (n=25)		TODAS AS CIDADES (n=227)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Não genotipados	13	11,1	3	9,7	0	0,0	2	5,1	12	48,0	30	13,2
Genotipados	104	88,9	28	90,3	15	100	37	94,9	13	52	197	86,8
HPV-6	82	70,1	23	74,2	8	53,3	31	79,5	1	4,0	145	63,9
HPV-11	39	33,3	10	32,3	6	40,0	14	35,9	2	8,0	71	31,3
HPV-16	60	51,3	17	54,8	5	33,3	26	66,7	2	8,0	110	48,5
HPV-18	7	6,0	2	6,5	1	6,7	2	5,1	1	4,0	13	5,7
HPV-31	10	8,5	2	6,5	9	60,0	4	10,3	6	24,0	31	13,7
HPV-33	25	21,4	6	19,4	8	53,3	11	28,2	6	24,0	56	24,7
HPV-35	48	41,0	15	48,4	6	40,0	17	43,6	3	12,0	89	39,2
Infecções simples	24	20,5	7	22,6	4	26,7	7	17,9	8	32,0	50	22,0
Infecções múltiplas	80	68,4	21	67,7	11	73,3	30	76,9	5	20,0	147	64,8
2 tipos	32	27,4	6	19,4	4	26,7	9	23,1	3	12,0	54	23,8
3 tipos	23	19,7	8	25,8	2	13,3	9	23,1	1	4,0	43	18,9
4 tipos	13	11,1	4	12,9	2	13,3	8	20,5	1	4,0	28	12,3
≥ 5 tipos	12	10,3	3	9,7	3	20,0	4	10,3	0	0,0	22	9,7

HPV = papilomavírus humano; PCR = reação em cadeia de polimerase; HIV = vírus da imunodeficiência humana.

#### 5.4 Análises dos fatores de risco associados à prevalência do HPV

Com o objetivo de testar possíveis associações que possam justificar a maior prevalência do HPV nas mulheres infectadas pelo HIV, foram construídas as tabelas a seguir e aplicados os testes estatísticos mais indicados para cada análise proposta.

##### 5.4.1 Uso de preservativo

A primeira associação pesquisada foi entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e o uso de preservativo, nas cinco cidades de Minas Gerais (TAB. 7). Embora o HPV tenha sido mais prevalente entre aquelas mulheres que adotavam o preservativo (54,1%), essa diferença não foi estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ).



TABELA 7

Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e o uso de preservativo, nas cinco cidades de Minas Gerais

Uso de preservativo	DNA - HPV		
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Não usa	83 (45,9)	23 (47,9)	106 (46,3)
Usa	98 (54,1)	25 (52,1)	123 (53,7)
<b>Total</b>	181 (100)	48 (100)	229 (100)

$p = 0,7991$   $\chi^2 = 0,06$  OR= 0,92 IC 95%= 0,46-1,83

HPV = papilomavírus humano; PCR = reação em cadeia de polimerase; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

#### 5.4.2 Número de parceiros sexuais

A TAB. 8 registra a associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e o número de parceiros sexuais em portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais. Foi utilizado como corte a “mediana” do número de parceiros, visto que representa melhor que a “média” os presentes resultados, já que esta última é influenciada por valores extremos que alteram o perfil da amostra deste trabalho (ANEXO G).

TABELA 8

Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e o número de parceiros sexuais de portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Número de parceiros sexuais	DNA - HPV		
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
≥ 3	129 (61,7)	36 (63,2)	165 (62,0)
< 3	80 (38,3)	21 (36,8)	101 (38,0)
<b>Total</b>	209 (100)	57 (100)	266 (100)

$p = 0,8431$   $\chi^2 = 0,04$  OR= 0,94 IC 95%= 0,49-1,80

HPV = papilomavírus humano; PCR = reação em cadeia de polimerase; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

De acordo com a TAB. 8, a prevalência do HPV é maior (61,7%) nas pacientes que tiveram três ou mais parceiros sexuais. Entretanto, esse achado não foi significativo, de acordo com a análise estatística realizada ( $p > 0,05$ ).

#### 5.4.3 Carga viral do HIV

O passo seguinte foi buscar alguma associação entre a infecção pelo HPV, detectado pela PCR, e a quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais. Percebeu-se que quanto maior a carga viral do HIV, maior foi a prevalência do HPV (GRÁF. 2), porém os resultados encontrados (TAB. 9) não foram estatisticamente significativos ( $p > 0,05$ ).

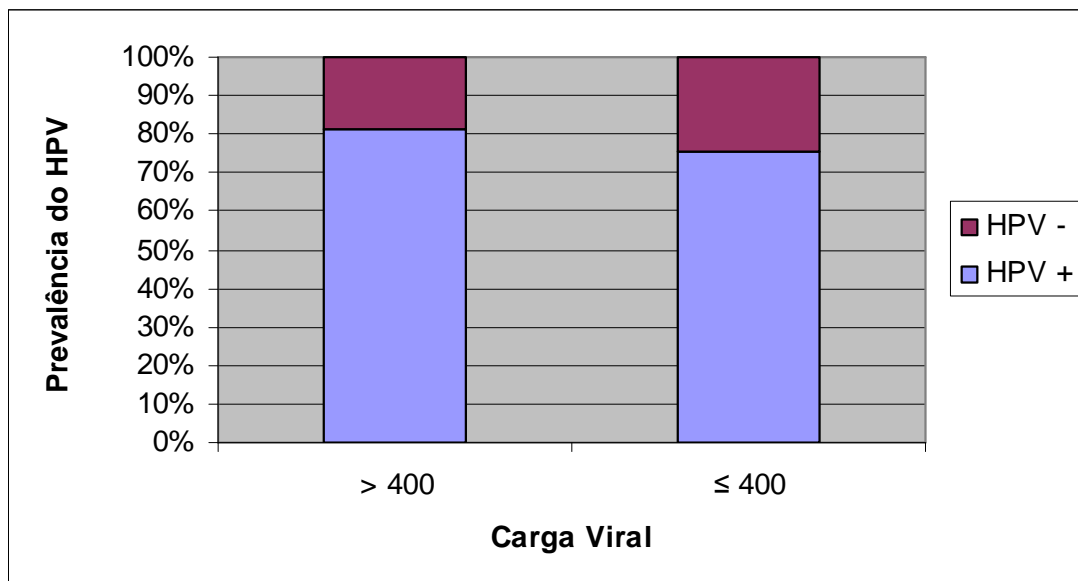


GRÁFICO 2 - Prevalência do HPV de acordo com a quantificação da carga viral do HIV.

TABELA 9

Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Carga Viral	DNA – HPV		
	Positivo	Negativo	Total
	n(%)	n(%)	n(%)
> 400	123 (81,5)	28 (18,5)	151 (100)
≤ 400	90 (75,6)	29 (24,4)	119 (100)

$p = 0,2441$   $\chi^2 = 1,36$  OR= 1,42 IC 95%= 0,76–2,65

HPV = papilomavírus humano; PCR = reação em cadeia de polimerase; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= odds ratio; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

Optou-se por utilizar a média da carga viral encontrada e testar se esse novo corte conduzia a alguma associação estatisticamente significativa (TAB. 10), porém também não foi possível tal afirmação ( $p > 0,05$ ).

TABELA 10

Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a média da quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Carga Viral	DNA – HPV		
	Positivo	Negativo	Total
	n(%)	n(%)	n(%)
> 25.631	37 (86)	6 (14)	43 (100)
≤ 25.631	176 (77,5)	51 (22,5)	227 (100)

$$p = 0,2097 \quad x^2 = 1,57 \quad OR = 1,79 \quad IC \ 95\% = 0,67-5,01$$

HPV = papilomavírus humano; PCR = reação em cadeia de polimerase; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $x^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

#### 5.4.4 Linfócitos T CD4+

Buscou-se encontrar alguma associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a contagem de linfócitos T CD4+ em mulheres portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais. Nas pacientes com baixa imunidade, ou seja, com linfócitos T CD4+ < 200 células/mm<sup>3</sup>, o HPV tendeu a ser mais prevalente (GRÁF. 3), mas os resultados encontrados não foram significativos ( $p > 0,05$ ) para permitir essa conclusão (TAB. 11).

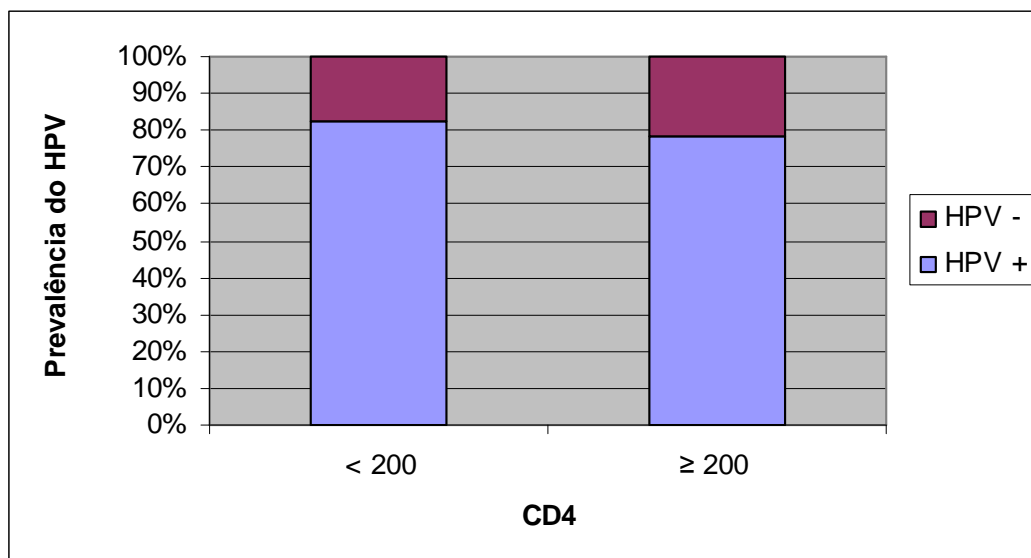


GRÁFICO 3 - Prevalência do HPV de acordo com a contagem de linfócitos T CD4+.

TABELA 11

Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a contagem de linfócitos T CD4+ em mulheres portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

CD4	DNA – HPV		
	Positivo	Negativo	Total
	n(%)	n(%)	n(%)
< 200	37 (82,2)	8 (17,8)	45 (100)
≥ 200	177 (78,3)	49 (21,7)	226 (100)

$p = 0,5574$   $\chi^2 = 0,34$  OR=1,28 IC95%= 0,53–3,20

HPV = papilomavírus humano; PCR = reação em cadeia de polimerase; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= odds ratio; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

Na TAB. 12, foi empregado o mesmo raciocínio de corte da carga viral e fez-se novo corte para a contagem de linfócitos T CD4+ utilizando a média encontrada na amostra (455 cél/mm<sup>3</sup>). Verificou-se que a prevalência do HPV é maior em mulheres com linfócitos T CD4+ menor que a média do grupo (79,1%), mas a diferença também não foi significativa ( $p > 0,05$ ).

TABELA 12

Associação entre a infecção pelo HPV detectado pela PCR e a média da contagem de linfócitos T CD4+ em mulheres portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

CD4	DNA – HPV		
	Positivo	Negativo	Total
	n(%)	n(%)	n(%)
< 455	117 (79,1)	31 (20,9)	148 (100)
≥ 455	97 (78,9)	26 (21,1)	123 (100)

$p = 0,9692$   $\chi^2 = 0,00$  OR=1,01 IC95%= 0,54–1,89

HPV = papilomavírus humano; PCR = reação em cadeia de polimerase; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

### 5.5 Análise dos fatores de risco associados à multiplicidade do HPV

A etapa seguinte consistiu em testar se havia alguma associação que pudesse justificar a multiplicidade do HPV nas mulheres infectadas pelo HIV. Optou-se por analisar esse aspecto (multiplicidade) a partir da variável “número

de tipos de HPV detectados”, utilizando-se a média (três) para fazer o corte entre os grupos de interesse, excluindo-se da análise as pacientes HPV negativo.

O teste estatístico aplicado nas tabelas que se seguem foi o qui-quadrado.

Foram pesquisadas possíveis associações entre multiplicidade do HPV e uso do preservativo (TAB. 13), número de parceiros sexuais (TAB. 14), carga viral do HIV (TAB. 15; 16) e contagem de linfócitos TCD4+ (TAB. 17; 18).

#### 5.5.1 Uso de preservativo

Mais da metade das pacientes (51,2%) que apresentaram mais de três tipos de HPV não usava preservativo, enquanto a maior parte (53,4%) das que tinham número menor ou igual a três tipos usava barreira de proteção (TAB. 13). Porém, o “p” não foi significativo ( $p > 0,05$ ).

TABELA 13

Associação entre multiplicidade do HPV e uso do preservativo pelas portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Preservativo	DNA - HPV		
	> 3 tipos	≤ 3 tipos	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
Não usa	21 (51,2)	54 (46,6)	75 (47,8)
Usa	20 (48,8)	62 (53,4)	82 (52,2)
<b>Total</b>	41 (100)	116 (100)	157 (100)

$p = 0,6070$   $\chi^2 = 0,26$  OR= 0,83 IC 95%= 0,38-1,80

HPV = papilomavírus humano; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

### 5.5.2 Número de parceiros sexuais

Esse fator de risco foi analisado utilizando-se a mediana do número de parceiros sexuais para fazer o corte entre os grupos de interesse, excluindo-se da análise as pacientes que desconheciam esse dado.



TABELA 14

Associação entre multiplicidade do HPV e número de parceiros sexuais de mulheres portadoras do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

N° Parceiros	DNA - HPV		
	> 3 tipos	≤ 3 tipos	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
≥ 3	30 (26,1)	85 (73,9)	115 (100)
< 3	16 (24,2)	50 (75,8)	66 (100)
<b>Total</b>	46 (25,4)	135 (74,6)	181 (100)

$p = 0,7838$   $\chi^2 = 0,08$  OR= 0,91 IC 95%= 0,42-1,93

HPV = papilomavírus humano; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

De acordo com a TAB. 14, verifica-se que houve predomínio (73,9% e 75,8%) de pacientes com número menor ou igual a três tipos de HPV nos dois grupos estudados ( $\geq 3$  e  $< 3$  parceiros, respectivamente). Esse resultado não foi estatisticamente significativo ( $p > 0,05$ ).

### 5.5.3 Carga viral do HIV

Embora tenha sido percebida uma tendência do grupo de pacientes com menos multiplicidade do HPV (número de tipos  $\leq$  três) a estar associado à carga viral mais baixa ( $\leq 400$  cópias/ml), não foi encontrada significância estatística ( $p > 0,05$ ) para permitir essa afirmação (TAB. 15).

TABELA 15

Associação entre a multiplicidade do HPV e a quantificação da carga viral do HIV,  
nas cinco cidades de Minas Gerais

Carga Viral	DNA - HPV		
	> 3 tipos	≤ 3 tipos	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
>400	29 (27,9)	75 (72,1)	104 (100)
≤ 400	17 (21,0)	64 (79,0)	81 (100)
<b>Total</b>	46 (24,9)	139 (75,1)	185 (100)

$p = 0,2816$   $\chi^2 = 1,16$  OR= 0,69 IC 95%= 0,33-1,44

HPV = papilomavírus humano; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

No entanto, ao fazer o corte da carga viral baseado na média da carga viral encontrada neste estudo (TAB. 16), destaca-se que pacientes com carga viral mais alta (>25.631 cópias/ml) tiveram maior prevalência de mais de três tipos de HPV quando comparadas com o grupo de carga viral mais baixa (≤ 25.631 cópias/ml), ou seja, 41,4% x 21,8%, respectivamente. Essa diferença foi significativa ( $p < 0,05$ ).

TABELA 16

Associação entre a multiplicidade do HPV e a média da quantificação da carga viral do HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Carga Viral	DNA - HPV		
	> 3 tipos	≤ 3 tipos	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
>25.631	12 (41,4)	17 (58,6)	29 (100)
≤ 25.631	34 (21,8)	122 (78,2)	156 (100)
<b>Total</b>	46 (24,9)	139 (75,1)	185 (100)

$p = 0,0250$   $\chi^2 = 5,02$  OR= 0,39 IC 95%= 0,16-0,98

HPV = papilomavírus humano; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

O GRÁF. 4, com os resultados apresentados na TAB. 16, permite a visualização de que no grupo de pacientes com número de tipos de HPV menor ou igual a três predominou a menor carga viral ( $\leq 25.631$  cópias/ml), enquanto no grupo com mais de três tipos de HPV predominou a carga viral mais alta ( $>25.631$  cópias/ml).

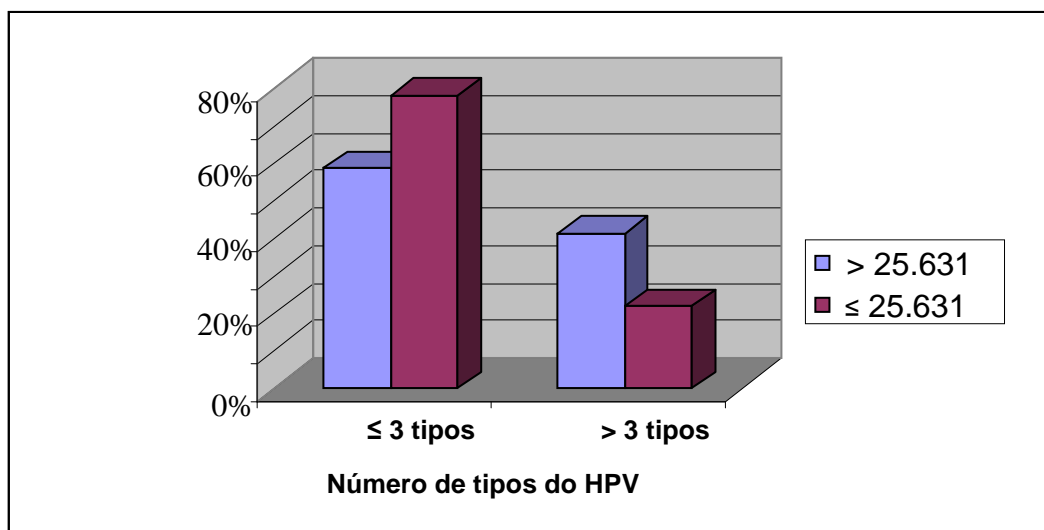


GRÁFICO 4 - Associação entre a multiplicidade do HPV e a média da quantificação da carga viral do HIV.

#### 5.5.4 Linfócitos T CD4+

Foram feitos dois cortes na contagem de linfócitos T CD4+ : o primeiro em 200 células/mm<sup>3</sup> (TAB. 17); e o segundo baseado na média da contagem de linfócitos T CD4+ da presente amostra, que é de 455 células/mm<sup>3</sup> (TAB. 18).

Nas TAB. 17 e 18, o número de tipos de HPV menor ou igual a três foi característica marcante nos grupos estudados.

TABELA 17

Associação entre a multiplicidade do HPV e a contagem de linfócitos T CD4+,  
nas cinco cidades de Minas Gerais

CD4	DNA - HPV		Total
	> 3 tipos	≤ 3 tipos	
	n (%)	n (%)	n (%)
< 200	9 (27,3)	24 (72,7)	33 (100)
≥ 200	37 (24,5)	114 (75,5)	151 (100)
<b>Total</b>	46 (25,0)	138 (75,0)	184 (100)

$p = 0,7393$   $\chi^2 = 0,11$  OR= 0,87 IC 95%= 0,34-2,22

HPV = papilomavírus humano; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado; OR= *odds ratio*; IC 95%= intervalo de confiança 95%.

O corte na contagem de linfócitos TCD4+ empregado na TAB. 18 baseou-se na média encontrada no presente estudo (455cél/mm<sup>3</sup>).

TABELA 18

Associação entre a multiplicidade do HPV e a média da contagem de linfócitos T CD4+, nas cinco cidades de Minas Gerais

CD4	DNA – HPV		
	> 3 tipos	≤ 3 tipos	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
< 455	29 (29,3)	70 (70,7)	99 (100)
≥ 455	17 (20,0)	68 (80,0)	85 (100)
<b>Total</b>	46 (25,0)	138 (75,0)	184 (100)

$p = 0,1467$   $\chi^2 = 2,11$  OR= 0,60 IC 95%= 0,29-1,26

HPV = papilomavírus humano; HIV = vírus da imunodeficiência humana;  $\chi^2$  = teste do qui-quadrado.

Houve tendência do grupo de pacientes com menor imunidade (CD4+ <200 células/mm<sup>3</sup> e CD4+ <455 células/mm<sup>3</sup>) a apresentar porcentagem mais alta de número de tipos de HPV maior que três (27,3% e 29,3% x 24,5% e 20%, respectivamente), quando comparado com o grupo de pacientes com mais imunidade (CD4+ ≥ 200 células/mm<sup>3</sup> e CD4+ ≥ 455 células/mm<sup>3</sup>). Contudo, esta amostra não permite confirmar essa tendência, visto que o valor de “p” encontrado não foi significativo ( $p > 0,05$ ).

## 6 DISCUSSÃO

---

Este é o primeiro estudo multicêntrico realizado no estado de Minas Gerais sobre a prevalência do HPV e sua multiplicidade em mulheres portadoras do HIV.

Com uma amostra de 288 pacientes infectadas pelo HIV provenientes de cinco cidades mineiras (Belo Horizonte, Betim, Barbacena, Divinópolis e Conselheiro Lafaiete), encontrou-se alta prevalência (78,8%) do HPV, o que foi confirmado por outros autores<sup>30,32,39,45</sup>.

### 6.1 Características da amostra

Em relação à idade das pacientes, o presente resultado (35 anos) foi similar ao encontrado em estudo realizado em São Paulo<sup>34</sup>. O que se percebe é que, no Brasil, as infecções pelo HPV e HIV são mais comuns em mulheres em idade reprodutiva.

Embora a mediana da idade de início da vida sexual tenha sido 17 anos, destaca-se o fato de algumas dessas mulheres terem iniciado sua atividade sexual aos 10 anos de idade. Isso demonstra quão precoce pode ser a exposição às doenças sexualmente transmissíveis, entre elas, o HPV e o HIV.

Nas características sociais e comportamentais, Barbacena foi o município que se destacou por apresentar altos números (30%) de viúvas quando comparada com as demais cidades (9,1% a 16,7%). Além disso, verificou-se ali a

mais alta taxa de coito desprotegido (65% não usam preservativo), o mais alto número de tabagistas (50%), a mais alta taxa de ex-usuárias de drogas injetáveis (5%), a mais alta porcentagem de casos de AIDS (65%) e a mais baixa média de linfócitos T CD4+ (365 células/mm<sup>3</sup>).

A transmissão sexual foi a via predominante (92%) para a aquisição do vírus da imunodeficiência humana, tendo em vista que o uso do preservativo ainda não é prática comum: apenas 42,7% delas o utilizam durante suas relações sexuais. Taxa semelhante foi encontrada<sup>12</sup>, ou seja, 40% das 75 pacientes infectadas pelo HIV usavam preservativo e 44% das 75 integrantes do grupo-controle, HIV negativo, não usavam. A taxa de transmissão heterossexual do HIV neste estudo foi de 52%. Dados da literatura<sup>54</sup> revelam 334 adolescentes (13-18 anos) de 13 cidades americanas com taxa de 34,8% de coito desprotegido entre as HIV positivo (n=222) e 51,9% entre as HIV negativo (n=112).

Ao analisar as características clínicas e laboratoriais, observou-se que metade das mulheres tinha diagnóstico de AIDS, pelo CDC, ao entrarem no estudo e mais da metade (67,7%) já fazia uso de anti-retrovirais. Esse achado demonstra o estado imunitário comprometido das pacientes em geral. Destaca-se o fato de que em Belo Horizonte e em Betim o número de mulheres ainda não diagnosticadas com AIDS, pelo CDC, superou as portadoras dessa síndrome. Nessas duas últimas cidades foram encontradas as médias mais altas de linfócitos TCD4+ deste estudo multicêntrico (479 células/mm<sup>3</sup>), conforme a TAB. 19.



TABELA 19

Contagem de linfócitos T CD4+ das pacientes infectadas pelo HIV, nas cinco cidades de Minas Gerais

Linfócitos T CD4+	BH n=152	BETIM n=36	BARBACENA n=20	DIVINÓPOLIS n=44	CONS. LAFAIETE n=36	TODAS n=288
Média	479	479	365	388	457	455

A média geral encontrada de linfócitos T CD4+ foi de 455 células/mm<sup>3</sup>. Essas médias não refletem a história imunológica das pacientes; o fato de mais da metade das pacientes terem diagnóstico de AIDS e um número mais alto (67,7%) usar terapia anti-retroviral significa que elas já apresentaram contagem de linfócitos TCD4+ muito mais baixo que o atual. O presente estudo não avaliou o CD4 mais baixo dessas pacientes, o que já está sendo feito em outra pesquisa que teve início posteriormente a esta, em nosso serviço.

## 6.2 Prevalência do HPV

O teste molecular da PCR é, atualmente, padrão ouro para a detecção do DNA-HPV. Consiste na técnica mundialmente mais utilizada para detectar os diversos genótipos do HPV.

Estudo de metanálise<sup>53</sup> abrangendo os continentes da América do Norte, África, Ásia, Europa e Américas do Sul e Central avaliou a prevalência dos tipos de HPV em grande número de mulheres infectadas pelo HIV (5578

pacientes). Pertenciam às Américas do Sul e Central (Brasil e México) 435 pacientes (7,8%), tendo sido o estudo brasileiro realizado na Universidade de São Paulo (USP), em Ribeirão Preto (SP)<sup>33</sup>. Essa pesquisa demonstrou que a proporção de pacientes HIV positivo com HPV-16 aumentou com o aumento da gravidade das lesões cervicais. Entretanto, a prevalência do HPV-16 foi baixa nessas mulheres.

Ao contrário, estudos realizados no Brasil<sup>35,36</sup> e na Índia<sup>38</sup> encontraram o HPV-16 como sendo o mais prevalente entre as mulheres infectadas pelo HIV. Os presentes resultados confirmam esses achados, apontando como genótipos mais prevalentes o HPV-6 (63,9%) e o HPV-16 (48,5%) nesse grupo de mulheres.

Mais pesquisas foram desenvolvidas visando a investigar a prevalência do HPV entre mulheres portadoras do HIV<sup>30,39</sup>. Outros autores buscaram estabelecer a prevalência do HPV não só nas mulheres infectadas pelo HIV, como também nas mulheres HIV negativo<sup>32,35</sup>. As diferentes taxas de prevalência dos genótipos do HPV em mulheres infectadas pelo HIV de alguns desses trabalhos podem ser observadas na TAB. 20.

TABELA 20

Prevalência do HPV e seus genótipos em pacientes portadoras do HIV

HPV	Zimmermann (2002) <sup>30</sup>	Levi <i>et al.</i> (2004) <sup>35</sup>	Campos <i>et al.</i> (2005) <sup>32</sup>	Luque <i>et al.</i> (2006) <sup>39</sup>	Este estudo (2007)
HPV +	75-80%	87%	73,2%	52%	78,8%
HPV -	-	13%	26,8%	48%	21,2%
6	47,1%	16,1%	3,3%	2,6%	63,9
11	19,5%	15,7%	13,3%	1,7%	31,3
16	47%	30,9%	10%	12,0%	48,5
18	4,6%	15,2%	3,3%	5,2%	5,7
31	4,6%	7,1%	-	7,0%	13,7
33	13,8%	2,2%	3,3%	9,2%	24,7
35	8,0%	5,8%	6,6%	0%	39,2
<b>TOTAL</b>	<b>87</b>	<b>255</b>	<b>41</b>	<b>229</b>	<b>288</b>

Embora alguns pesquisadores<sup>32,35</sup> incluam pacientes HIV positivo e HIV negativo, os dados apresentados na TAB. 20 referem-se apenas às portadoras do HIV.

Gonçalves *et al.* (1999)<sup>36</sup> encontraram cerca de 20% de casos de HPV não genotipado. A taxa global do presente estudo, de pacientes com HPV detectado, mas não genotipado, foi de 13,2%. Entretanto, taxa bem mais alta foi observada em Conselheiro Lafaiete (48%). Este dado reforça a diferença na prevalência dos genótipos do HPV de acordo com a localização geográfica em que cada estudo é realizado. A não genotipagem indica a presença do HPV sem, contudo, ter sido possível identificar o genótipo. Isto ocorreu porque não se pesquisaram todos os genótipos conhecidos do HPV. Outros autores usaram

maior número de *primers*, permitindo, assim, que mais tipos de HPV fossem detectados. Testaram-se 30<sup>54</sup> e 43<sup>69</sup> tipos de HPV.

Atualmente, está sendo realizado em nosso serviço o seqüenciamento do vírus do HPV, o que está permitindo ampliar o diagnóstico. O seqüenciamento amplia as possibilidades de tipagem do vírus, pois possibilita a detecção de quase todos os tipos. Apresenta como fator limitante o fato de que se a amostra analisada tiver múltiplos tipos de HPV, as seqüências se apresentam de forma superposta, dificultando a avaliação, o que pode subestimar a prevalência das infecções múltiplas<sup>70</sup>. Entretanto, é importante destacar que, no presente estudo, foi utilizada a PCR tradicional (ou seja, com o *primer* geral específico para cada tipo de HPV), o que permitiu a avaliação da multiplicidade. O seqüenciamento foi adicionado recentemente e a PCR, com os *primers* originais, continua sendo realizada, mesmo com o seqüenciamento.

Alguns autores<sup>37,71</sup> observaram que a prevalência do HPV entre portadoras do HIV aumenta com a queda do estado imunológico. Estudo de coorte (n=2058 pacientes HIV-positivo)<sup>71</sup> demonstrou essa relação entre prevalência do HPV e imunidade ao relatar que cada tipo de HPV analisado esteve positivamente associado à baixa contagem de linfócitos TCD4+, exceto o HPV-16, que foi o tipo mais comum entre as pacientes com melhor imunidade em todas as visitas.

Os resultados desta casuística não permitem estabelecer qualquer associação estatisticamente significativa entre a prevalência do HPV e alguns fatores de risco, como coito desprotegido, número de parceiros sexuais, carga viral do HIV e contagem de linfócitos T CD4+. É importante lembrar que este estudo é transversal e não permite avaliar o estado imunológico e a carga viral

dessas pacientes no decorrer do tempo. O seguimento de mulheres HIV positivo com PCR para o HPV da cérvix uterina, em conjunto com a avaliação da contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral, poderia permitir melhor avaliação da associação entre a infecção pelo HPV e a imunossupressão nessas pacientes.

### 6.3 Multiplicidade do HPV

Um dos grandes achados em mulheres infectadas pelo HIV é a alta proporção de múltiplos tipos de HPV<sup>22,35,39,53</sup>. A infecção por múltiplos genótipos do HPV esteve presente, neste estudo, em 64,8% dos casos, com predomínio de dois tipos (23,8%) e três tipos (18,9%).

Embora a multiplicidade do HPV não tenha sido característica marcante observada na cidade de Conselheiro Lafaiete (20%), este resultado pode ser atribuído ao fato da alta taxa de HPV não genotipado naquele município (48%), o que pode ter sido fator limitante para estabelecer a existência de múltiplos tipos de HPV em uma mesma paciente. Os genótipos do HPV mais prevalentes, em Conselheiro Lafaiete, provavelmente não são os dos *primers* disponíveis para testagem em nosso serviço.

Em estudo desenvolvido em São Paulo, Brasil<sup>36</sup>, descreveram-se os tipos 16 e 18 como sendo os mais prevalentes, as infecções múltiplas foram constatadas em 45% das portadoras do HIV e a taxa de HPV não genotipado foi próxima (20%) da encontrada no presente estudo (13,2%).

Visto que a multiplicidade do HPV é comum entre as pacientes infectadas pelo HIV em diversas pesquisas, a TAB. 21 mostra as diferentes taxas de multiplicidade do HPV de alguns autores:

TABELA 21

Multiplicidade do HPV em pacientes portadoras do HIV

MULTIPLICIDADE	Palefsky <i>et al.</i> (1999) <sup>25</sup> (n=1778)	Gonçalves <i>et al.</i> (1999) <sup>36</sup> (n=141)	Levi <i>et al.</i> (2004) <sup>35</sup> (n=255)	Campos <i>et al.</i> (2005) <sup>32</sup> (n=41)	Luque <i>et al.</i> (2006) <sup>39</sup> (n=229)	Este estudo (2007) (n=288)
Infecções múltiplas (2 ou mais tipos)	36%	45%	45%	50%	52%	64,8%
2 tipos	15%	Não disponível	18%	Não disponível	Não disponível	23,8%
3 tipos	Não disponível	Não disponível	16%	Não disponível	Não disponível	18,9%
4 tipos	Não disponível	Não disponível	14%	Não disponível	Não disponível	12,3%
≥ 5 tipos	Não disponível	Não disponível	15%	Não disponível	Não disponível	9,7%

Foram consideradas infecções múltiplas aquelas com mais de um tipo de HPV. As diferenças entre as taxas apresentadas na TAB. 21 podem ser explicadas por diferentes tipos de métodos de genotipagem empregados. Apenas os trabalhos de Levi *et al.* (2004)<sup>35</sup> e o presente avaliaram as taxas de prevalência de 2, 3, 4 e 5 tipos ou mais de HPV entre os os autores citados. Palefsky *et al.* (1999)<sup>25</sup> analisaram a multiplicidade do HPV agrupando em dois tipos (15%), três a cinco tipos (15%), seis a 10 tipos (5%) e >10 tipos (<1%).

Mostrou-se mais prevalência de múltiplos tipos de HPV em adolescentes portadoras do HIV (n=222), quando comparadas com as HIV

negativo (n=112)<sup>54</sup>. A infecção múltipla por tipos de HPV de alto risco foi freqüente, com 40,7% das adolescentes HIV positivo apresentando mais de um tipo de HPV de alto risco comparado com taxa de 22% entre as adolescentes HIV negativo (p=0,0026). Entre os múltiplos genótipos, a freqüência geral de pacientes que apresentaram pelo menos um tipo de HPV de alto risco foi de 70,5% (160 casos), de HPV de baixo risco foi de 71,4% (162 casos) e de HPV de alto e baixo risco concomitante foi de 55,1% (125 casos).

Os achados desta pesquisa diferem de outros<sup>51</sup> que estudaram amostras cervicais de 3.444 pacientes pela técnica de PCR, detectando o HPV em 705 amostras (20%). A infecção múltipla com pelo menos um tipo de HPV de alto risco foi encontrada em 23,3% (164/705) dos casos, de HPV de baixo risco em 0,8% (6/705) e do HPV de alto e baixo risco concomitante em 19,3% (136/705). Essa diferença em relação aos resultados aqui encontrados pode ser atribuída à não realização de sorologia para o HIV no estudo de Cuschieri *et al.*<sup>51</sup>, o que poderia justificar a baixa prevalência do HPV e sua multiplicidade em relação a este estudo.

Alguns autores<sup>72,73</sup> descrevem que a presença de múltiplos tipos de HPV em pacientes infectadas pelo HIV é explicada pelo reaparecimento dos tipos de HPV que estavam latentes mais a aquisição de novos tipos. Uma teoria alternativa é a de que as infecções por múltiplos tipos de HPV possam ter algum benefício para a sobrevivência do HPV<sup>22</sup>. Isto ocorreria porque se a perda do controle imunológico permite a replicação de múltiplos vírus, então é esperado que a persistência do vírus também ocorra em níveis detectáveis.

A pergunta por que pacientes portadoras do HIV são infectadas por múltiplos tipos de HPV merece investigação futura. Tenta-se<sup>35</sup> explicar essa

associação pela possibilidade de mais exposição dessas mulheres a relações sexuais desprotegidas e à falha do sistema imunológico, de forma a permitir a replicação de mais tipos de HPV (perda da imunidade tipo-específica para HPV). Publicação sobre imunossupressão e co-infecção<sup>22</sup> defende a idéia de que múltiplos tipos de HPV em pacientes mais imunossuprimidas é consistente com mais exposição sexual ou perda do controle imunológico. Isso levaria à replicação viral suficiente para permitir a detecção dos genótipos do HPV por testes de PCR. Entretanto, essas são hipóteses ainda não foram comprovadas.

A resposta imunológica é muito complexa e não deve ser avaliada apenas pela contagem de linfócitos T CD4+. As células de Langerhans, que representam o mecanismo imunológico cervical local, exercem papel fundamental como células apresentadoras de antígenos estranhos aos linfócitos T-CD4+. O estudo desenvolvido por Zimmermann *et al.* (2006)<sup>74</sup> não mostrou associação entre a contagem de linfócitos T CD4+ e a gravidade da lesão intra-epitelial do colo uterino, diagnosticada pelo exame histopatológico. Deste modo, foi sugerido que a progressão da infecção pelo vírus do HPV pode estar associada às alterações das células de Langerhans.

Acredita-se que se a baixa imunidade pode favorecer a multiplicação de tipos de HPV que estavam latentes e acelerar a replicação dos que foram recentemente adquiridos, a multiplicidade observada nas pacientes portadoras do HIV pode ser explicada como consequência desse processo. Além disso, o desaparecimento da infecção previsto como parte da história natural do HPV pode ser dificultado pela queda da imunidade do hospedeiro, o que favorece a existência da infecção múltipla.



A constatação de múltiplos tipos de HPV em alta porcentagem sugere que muitas pacientes adquirem tipos adicionais de HPV no momento da infecção pelos tipos mais prevalentes, como o HPV-16 e HPV-18. Tipos de HPV adicionais de alto e baixo risco podem ficar retidos em quantidade pequena em pacientes saudáveis, mas podem começar a replicar nas imunodeprimidas<sup>52</sup>.

Não houve correlação significativa entre o número de múltiplos genótipos do HPV e a contagem de linfócitos TCD4+ ou a presença de lesões cervicais, de acordo com resultados publicados<sup>35</sup>. Ao estudar uma amostra de 255 mulheres infectadas pelo HIV, esses autores encontraram prevalência do HPV igual a 87%, com 45% de infecção múltipla com mais de dois tipos de HPV.

Esses resultados são diferentes de outros<sup>25</sup>, que verificaram número mais alto de pacientes HPV DNA positivo e frequência também mais alta de múltiplos genótipos do HPV entre pacientes com linfócitos TCD4+ < 200 células/mm<sup>3</sup>. Esse estudo envolveu 2.058 mulheres infectadas pelo HIV e 568 mulheres HIV negativo, com fatores de risco de infecção pelo HIV (hemotransfusão, drogas injetáveis, relação sexual com parceiro HIV positivo).

Em relação à multiplicidade do HPV e à queda da imunidade, nota-se uma tendência, na presente investigação, do grupo de pacientes com menor imunidade (CD4+ < 200 células/mm<sup>3</sup>) a apresentar porcentagem mais alta de número de tipos de HPV maior que três, quando comparado com o grupo de pacientes com mais imunidade (CD4+ ≥ 200 células/mm<sup>3</sup>). Contudo, os resultados não permitiram confirmar essa tendência, visto que não houve significância estatística ( $p > 0,05$ ). Acredita-se que o tamanho amostral seja o fator limitante para explicar por que este trabalho encontrou resultados diferentes de outros autores<sup>22</sup>.

Uma avaliação de 275 pacientes portadoras do HIV encontrou prevalência do HPV em 48,7% delas<sup>37</sup>. Nesse grupo, as infecções pelo HPV de baixo risco, de alto risco e a infecção múltipla estiveram associadas à contagem de linfócitos TCD4+ <200 células/mm<sup>3</sup> (p<0,05). Diferentemente dos presentes achados, nenhuma associação foi estabelecida quanto à quantificação da carga viral.

Esta pesquisa não confirma a hipótese de que a multiplicidade do HPV está relacionada com o grau de imunidade do hospedeiro, visto que não se observou associação significativa entre a contagem de linfócitos TCD4+ e o número de genótipos do HPV. Entretanto, a multiplicidade do HPV esteve associada a níveis mais altos de carga viral do HIV.

A diferença dos resultados entre os últimos estudos citados e este se deve ao número reduzido de *primers* disponíveis para testagem dos tipos de HPV em nosso serviço e ao tamanho de nossa amostra. O cálculo amostral foi baseado na prevalência e não na multiplicidade do HPV. Para testar associações seria necessário ampliar esta amostra.

Sintetizando os estudos mencionados, percebe-se que as mulheres portadoras do HIV têm mais prevalência na cérvix uterina do DNA-HPV, de HPV com alto risco oncogênico e infecção múltipla pelo HPV, sendo que essas variáveis não estão, necessariamente, associadas a todos os fatores de progressão da doença.

Comparando os resultados com os de outros autores<sup>22,35,37,53,54</sup>, verificou-se que a infecção múltipla foi característica marcante nas pacientes portadoras do HIV.

Estudos prospectivos são necessários para determinar a influência que as infecções por múltiplos tipos de HPV exercem na história natural das lesões do colo uterino, especialmente em pacientes infectadas pelo HIV.

Visto que muitas mulheres apresentam infecção pelo HPV que desaparece espontaneamente, a multiplicidade do HPV poderia explicar parcialmente a persistência das lesões cervicais. A contagem de linfócitos TCD4+ e a quantificação da carga viral são marcadores de progressão da AIDS que merecem continuar sendo estudados para determinar-se até que ponto podem influenciar na história natural das lesões cervicais induzidas pelo HPV.

Será que a genotipagem é mesmo necessária em larga escala, como tem sido sugerido por alguns autores<sup>13,70</sup>? E a vacina lançada recentemente para prevenir a infecção pelo HPV e o câncer cérvico-uterino<sup>75,76,77</sup>? Determinar a prevalência dos genótipos do HPV e sua multiplicidade em cada população constitui etapa preliminar e fundamental para se proporem estratégias de prevenção e monitoramento mais adequadas à realidade da nossa população e dos serviços de saúde? Pode ser que, em curto ou longo prazo, a introdução da vacina em larga escala confirme a importância desse tipo de estudo para avaliar o impacto desse procedimento em diferentes grupos populacionais. Mas, por enquanto, são hipóteses a serem testadas e avaliadas em grupos populacionais menores ou nos países ricos, tendo em vista o alto custo da genotipagem e da vacinação em larga escala.

Pelo que se percebeu, a genotipagem é essencial para a determinação dos tipos de HPV mais prevalentes. Como contribuição individual, a genotipagem permite a classificação das pacientes com HPV em grupos de alto e baixo risco para o desenvolvimento de câncer cervical; como contribuição coletiva, permite o

planejamento para introdução de estratégias de prevenção voltados para os tipos de HPV mais freqüentes em cada população.

Sugerimos que a genotipagem seja proposta para mulheres portadoras do HIV, seja como forma de estabelecer o prognóstico das lesões cervicais nessas mulheres, seja como forma de detecção de novos tipos virais do HPV.

Este estudo confirma a alta prevalência do HPV e sua multiplicidade na cérvix uterina de mulheres infectadas pelo HIV. Além disso, contribui para demonstrar a importância do estudo de cada população para planejamento adequado de programas de prevenção e sugere a necessidade de que estudos futuros sejam desenvolvidos para esclarecer o papel do HIV na maior prevalência e multiplicidade do HPV.

## 7 CONCLUSÕES

---

- A prevalência de HPV em mulheres infectadas pelo HIV é muito alta. Os genótipos mais prevalentes foram o HPV-6 e o HPV-16. Em Barbacena e em Conselheiro Lafaiete predominaram os genótipos HPV-31 e HPV-33.
- A infecção por múltiplos genótipos foi o padrão predominante de infecção pelo HPV, com predomínio de dois e três tipos.
- Não houve associação significativa entre a prevalência do HPV e o uso de preservativo, o número de parceiros sexuais, a contagem de linfócitos T CD4 e a quantificação da carga viral do HIV. A multiplicidade do HPV parece estar associada a níveis mais altos de carga viral do HIV.

## REFERÊNCIAS

---

1. Bosch FX. *et al.* The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*, Hagerstow, 2002; 55:244-265.
2. Muñoz N. *et al.* For the International agency for research on cancer multicenter cervical. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*, Boston, 2003; 348:518-27.
3. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recomm Rep*, Atlanta, 1993; 41(RR-17):1-19.
4. Mistro AD. *et al.* Antiretroviral therapy and the clinical evolution of human papillomavirus-Associated genital lesions in HIV positive women. *Clin Infect Dis*, Milão, 2004; 38:737-42.
5. Reid R. Biology and colposcopic features of Human Papillomavirus-associated cervical disease. *Obstet Gynecol North Am*, New York, 1993; 20(1):123-51.
6. Wieland U.; Pfister H. Papilomavírus em patologia humana: epidemiologia, patogênese e papel oncogênico. *In*: GROSS, G.; BARRASSO, R. editores. Infecções por papilomavírus humano: Atlas clínico de HPV. 1ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1999; p.1-18.
7. De Palo G.; Chanen W.; Dexeus S. Patologia e tratamento do trato genital inferior. Rio de Janeiro: Medsi, 2002; p.44.
8. Goodman A. Screening for human papillomavirus infections of the lower genital tract. *Rev Gynaec Pract*, Paris, 2002; 2:99-101.
9. Molina AL.; Tobo PR. Série - Biologia molecular. Atualização. Parte 2 - Uso das técnicas de biologia molecular para diagnóstico. Einstein, São Paulo, 2004; 2,2:140-42, 2004.
10. zur Hausen H. Viruses in human cancers. *Science*, Washington, 1991; 25:1167-73.
11. Ervin A. *et al.* Pappillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am J Obstet Gynecol*, Saint Louis, 2000; 182:257-264.
12. Nappi L. *et al.* Cervical squamous intraepithelial lesions of low-grade in HIV-infected women: recurrence, persistence, and progression, in treated and

- untreated women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, Amsterdam, 2005; 121:226-232.
13. Lang A.; Wikström I.; Wilander E. Significance of HPV testes on women with cervical smears showing ASCUS. Acta Obstet Gynecol Scand, Copenhagen, 2005; 84:1001-1005.
  14. Souza NST.; Melo VH; Castro LPF. Diagnóstico da infecção pelo HPV em lesões do colo do útero em mulheres HIV+: acuidade da histopatologia. RBGO, Ribeirão Preto, 2001; 23:355-361.
  15. Brasil. Ministério da Saúde. AIDS no Brasil [on line] novembro 2005a. Disponível na internet: <http://www.aids.gov.br>. Acesso em dezembro de 2006.
  16. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa nacional por amostra de domicílios - PNAD 2004 [on line] novembro 2005. Disponível na internet: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em novembro de 2006.
  17. FEBRASGO. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO). Manual de Orientação. DST/AIDS. São Paulo; 2004.
  18. Brasil. Ministério da Saúde. AIDS no Brasil. Boletim Epidemiológico, 2005b. Disponível na internet: <http://www.aids.gov.br>. Acesso em novembro de 2006.
  19. Anderson JR. A Guide to the clinical care of women with HIV. USA. 2001 edition, p.1-510.
  20. Rachid M.; Schechter M. Manual de HIV/AIDS. 8ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2005; p.1-224.
  21. Pinto AP.; Tulio S.; Cruz OR. Co-fatores do HPV na oncogênese cervical. Rev Assoc Med Bras, São Paulo, 2002; 48(1): 73-8.
  22. Palefsky JM.; Holly EA. Immunosuppression and co-infection. J Natl Cancer Inst Monogr, San Francisco, 2003; 31:41-6.
  23. Ho GH. *et al.* Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. N Engl J Med, Boston, 1998; 338:423-8.
  24. Minkoff H. *et al.* A longitudinal study of HPV carriage in HIV infected and HIV uninfected women. Am J Obstet Gynecol, Saint Louis, 1998; 178:982-6.
  25. Palefsky JM. *et al.* Cervicovaginal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-1 (HIV)-positive and high-risk HIV-negative women. J Natl Cancer Inst, San Francisco, 1999; 91:226-36.
  26. Sun XW. *et al.* Human papillomavirus infection in women infected with the human immunodeficiency virus. N Engl J Med, Boston, 1997; 337:1343-9.

27. Brown DR. *et al.* Detection of multiple human papillomavirus types in condylomata acuminata from immunosuppressed patients. *J Infect Dis*, Washington, 1994; 170: 759-65.
28. Uberti-Fopa C. *et al.* Evaluation of the detection of human papillomavirus genotypes in cervical specimens by hybrid capture as screening for precancerous lesions in HIV-positive women. *J Med Virol*, Netherland, 1998; 56:133-7.
29. Sun XW. *et al.* Human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive women. *Obstet Gynecol*, New York, 1995, 85:680-6.
30. Zimmermann JB. Prevalência dos genótipos do papilomavírus humano (HPV) na cérvix uterina de pacientes infectadas com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e sua associação com o grau das lesões do colo uterino. Faculdade de Medicina da UFMG. Belo Horizonte. (Dissertação de Mestrado em Ginecologia e Obstetrícia), 2002; 122p.
31. Melo VH. *et al.* Problemas ginecológicos mais frequentes em mulheres soropositivas para o HIV. *RBGO*, Ribeirão Preto, 2003; 25,9:661-666.
32. Campos RR. *et al.* Prevalência do papilomavírus humano e seus genótipos em mulheres portadoras e não-portadoras do vírus da imunodeficiência humana. *RBGO*, Ribeirão Preto, 2005; 27,5:248-56.
33. Gonçalves MA. *et al.* Anogenital warts contributing to the risk of squamous intraepithelial lesions among HIV-positive women of São Paulo, Brazil. *Int J STD AIDS*, San Francisco, 2003; 14(5):309-13.
34. Levi JE. *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*, Washington, 2002; 40:3341-5.
35. Levi JE. *et al.* Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. *Gynecologic Oncology*, Louisiana, 2004; 92:225-231.
36. Gonçalves MA. *et al.* Relationship between human papillomavirus (HPV) genotyping and genital neoplasia in HIV-positive patients of Santos City. *Int J STD AIDS*, San Francisco, 1999; 10:803-7.
37. Chaturvedi A.K. *et al.* Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from three clinical settings. *J Med Virol*, Netherland, 2005; 75:105–113.
38. Joshi SN. *et al.* Cervical squamous intra-epithelial changes and human papillomavirus infection in women infected with human immunodeficiency virus in pune. *J Med Virol*, Netherland, 2005; 76:470-475.



39. Luque AE. *et al.* Prevalence of human papillomavirus genotypes and related abnormalities of cervical cytological results among HIV-1–Infected Women in Rochester, New York. *J Infect Dis*, Washington, 2006; 194:428-34.
40. Spitzer M. Lower genital tract intraepithelial neoplasia in HIV-infected women: guidelines for evaluation and management. 1999; *Obstet Gynecol Surv*, New York, 54:131-7.
41. Ellerbrock TV. *et al.* Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV infected women. *JAMA*, Chicago, 2000; 283:1031-7.
42. Luque AE.; Demeter LM.; Reichman RC. Association of human papillomavirus infection and disease with magnitude of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA plasma level among women with HIV-1 infection. *J Infect Dis*, Washington, 1999; 179:1405-9.
43. Shah KV. *et al.* Prolonged persistence of genital human papillomavirus infections in HIV-infected women. *Int Conf AIDS*, Vancouver, July 7-12, 1996; 11:345 (Abst Tu.C.2466).
44. Delmas MC. *et al.* Cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women: prevalence, incidence, and regression. *AIDS*, Paris, 2000; 14:1775-84.
45. Levi G. *et al.* Relationship between HIV viral load and Langerhans cells of the cervical epithelium. *J Obstet Gynaecol Res*, Commonw, 2005; 31.2:178-184.
46. Mofenson LM. *et al.* Treating opportunistic infections among HIV-infected children: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep*, Atlanta, 2004 Dec; 3;53(RR-14):1-92.
47. Araújo ACL. *et al.* Associação entre a carga viral e os linfócitos T CD4+ com as lesões intra-epiteliais do colo uterino em mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana. *RBGO*, Ribeirão Preto, 2005; 27(3):106-11.
48. Nuovo GJ. *et al.* Occurrence of multiple types of human papillomavirus in genital tract lesions. *Am J Pathol*, Bethesda, 1991; 138:53-8.
49. Franco EL. *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*, Washington, 1999; 180:1415-23.
50. Lazcano-Ponce E. *et al.* Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer*, Limerick, 2001; 91:412-20.
51. Cuschieri KS. *et al.* Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J Clin Pathol*, Hagerstow, 2004; 57:68-72.

52. Brown DR. *et al.* Detection of Multiple Human Papillomavirus Types in Condylomata Acuminata Lesions from Otherwise Healthy and Immunosuppressed Patients. *J Clin Microbiol*, Washington, 1999; 37:3316-3322.
53. Clifford GM. *et al.* Human papillomavirus types among women infected with HIV: a meta-analysis for the HPV and HIV Study Group. *AIDS*, Paris, 2006; 20:2337-2344.
54. Moscicki AB. *et al.* Persistence of Human Papillomavirus Infection in HIV-Infected and -Uninfected Adolescent Girls: Risk Factors and Differences, by Phylogenetic Type. *J Infect Dis*, Washington, 2004; 190:37-45.
55. Ahdieh L. *et al.* Cervical neoplasia and repeated positivity of human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus-seropositive and -seronegative women. *Am J Epidemiol*, Cary, 2000; 151:1148-57.
56. Rousseau MC. *et al.* Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. *J Infect Dis*, Washington, 2001; 184:1508-17.
57. Chang DY. *et al.* Prevalence of single and multiple infection with human papillomaviruses in various grades of cervical neoplasia. *J Med Microbiol*, 1997; 46:54-60.
58. An HJ. *et al.* Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method. *Cancer*, New York, 2003; 97:1672-80.
59. Herrero R. *et al.* Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst*, San Francisco, 2000; 92:464-74.
60. Weiland U. *et al.* Genital infections with multiple HPV types are frequent, are more associated with SIL and are more prevalent in HIV positive patients. Abstracts of the 20<sup>th</sup> International Papillomavirus Conference, Paris, France, 75p. 2002.
61. Fife KH. *et al.* Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. *J Med Virol*, Netherland, 2001; 64:550-9.
62. Souza NST. Estudo comparativo entre a histopatologia e a reação em cadeia de polimerase (PCR) para o diagnóstico do papilomavírus humano (HPV) em lesões de colo uterino de mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Faculdade de Medicina da UFMG 2000. 184p. (Dissertação Mestrado em Ginecologia).
63. Manos M M, Ting Y, Wright D K, *et al.* The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomavirus. *Cancer Cells* 1989; 88: 209-214.

64. Arndt O, Nottelmann K, and Neumann O. G. Das invert papilom and seine assoziation mit dem humanen papillomavirus (HPV). *HNO* 1994; 42: 670-676.
65. Duggan M A, Inoue M, McGregor S E, et al. A paired comparison of dot blot hybridization and PCR amplification for HPV testing for cervical scrapes interpreted as CIN 1. *European Journal of Gynaecological Oncology* 1994; 15 (3): 178-87.
66. Wright TC, Ellerbrock TV, Chiasson ME. *et al.* New York cervical Disease Study. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with immunodeficiency virus: Prevalence, risk, factors, and validity of Papanicolaou smears. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 591-7.
67. Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia: a review. *In: Sommers SC, editor. Pathology annual. Appleton-Century-Crofts, East Norwalk; 1973;.p.301-28.*
68. França JL. *et al.* Manual para normalização de publicações técnico-científicas. Belo Horizonte: ed. UFMG, 7ed, 2004, 241p.
69. Harris TG, Burk RD, Palefsky JM. *et al.* Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions associated with HIV serostatus, CD4 cell counts, and human papillomavirus test results. *JAMA*, 2005; 293:1471-1476.
70. Molijn A, Kleter B, Quint W. *et al.* Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*, 2005; 32S:S43-S51.
71. Strickler HD, Palefsky JM, Shah KV. *et al.* Human Papillomavirus Type 16 and Immune Status in Human Immunodeficiency Virus-Seropositive Women. *J Natl Cancer Inst*, 2003; 95(14):1062-1071.
72. Jin G, Hoesley C, Croom-Rivers A. *et al.* High prevalence of novel HPV genotypes in women with AIDS: is HPV commensal viral microflora of the genital mucosa? 19th International HPV Conference, 2001 Sept 1-7; Florianopolis (Brazil).
73. Broker TR, Jin G, Croom-Rivers A. *et al.* Viral latency - the papillomavirus model. *Dev Biol (Basel)* 2001;106:443-51.
74. Zimmermann JB, Melo VH, Castro LPF. *et al.* Associação entre a contagem de linfócitos T CD4+ e a gravidade da neoplasia intra-epitelial cervical diagnosticada pela histopatologia em mulheres infectadas pelo HIV. *RBGO*, 2006; 28(6):345-51.
75. Franco EL, Harper DM. Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control. *Vaccine*, 2005; 23:2388-2394.
76. Villa LL. *et al.* Prophylactic quadrivalent Human Papillomavirus (Types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-

- blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol*, 2005;6:271-78.
77. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM. *et al.* Sustained efficacy up to 4,5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18 : follow-up from a randomised control trial. *The Lancet*, 2006; Volume 367, Issue 9518, Pages 1247-1255
78. De Palo G. *Colposcopia e patologia do trato genital inferior*. 2ª. Edição. Rio de Janeiro: Medsi, 1996; p.491.
79. Wright TC, Kurman RJ, Ferenczy A. Precancerous lesions of the cervix. In: Kurman RJ, editor. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. 5th ed. Baltimore: Springer-Verlag; 2002.p.253-324.
80. Ministério da Saúde / Coordenação Nacional de DST e AIDS. *Manual de Contagem de linfócitos T CD4<sup>+</sup>*. Brasília, 1999.
81. Bayer. *bDNA HIV-1 RNA 3.0 Assay*. 2000.

*Site:*

[www.et.all.hpg.com.br](http://www.et.all.hpg.com.br)

## ANEXOS E APÊNDICES

---

### ANEXO A – Parecer ético



Universidade Federal de Minas Gerais  
Comitê de ética em pesquisa da UFMG - COEP

**Parecer n.º 085/02**

**Interessado: Prof. Victor Hugo de Melo**  
**Depto de Ginecologia e Obstetrícia - FM/UFMG**

**Voto:**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou no dia 19 de junho de 2002 o projeto de pesquisa intitulado « **Programa multicêntrico para controle e prevenção das lesões cervicais de alto grau e do câncer cérvico-uterino em mulheres portadoras do HIV** » com a recomendação de que o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido seja sintetizado de forma mais simples, evitando dificultar o entendimento dos sujeitos da pesquisa. O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.



**Prof. Dr. Dirceu Bartolomeu Greco**  
**Presidente do COEP/UFMG**

**ANEXO B - Classificação colposcópica internacional aprovada pela Federação Internacional de Patologia Cervical e Colposcopia (IFCPC), Roma, 1990**

<b>A) Achados colposcópicos normais</b>	<b>D) Colposcopia insatisfatória</b>
Epitélio pavimentoso original Epitélio cilíndrico Zona de transformação normal	Junção escamocolunar não-visualizada Inflamação grave ou atrofia grave Colo não-visualizável
<p><b>B) Achados colposcópicos anormais</b></p> <p>1) Dentro da zona de transformação</p> <p>Epitélio branco*</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Plano</li> <li>• Micropapilar ou microconvoluto</li> </ul> <p>Pontilhado*</p> <p>Mosaico*</p> <p>Leucoplasia*</p> <p>Área iodonegativa</p> <p>Vasos atípicos*</p> <p>2) Fora da zona de transformação (ectocérvice, vagina)</p> <p>Epitélio branco*</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Plano</li> <li>• Micropapilar ou microconvoluto</li> </ul> <p>Pontilhado*</p> <p>Mosaico*</p> <p>Leucoplasia*</p> <p>Área iodonegativa</p> <p>Vasos atípicos*</p>	<p><b>E) Miscelânea</b></p> <p>Micropapilas não acetorreadoras</p> <p>Condiloma exofítico</p> <p>Inflamação</p> <p>Atrofia</p> <p>Ulceração</p> <p>Outros</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>(*) Especificar o grau</p> <p>Grau 1</p> <p>Epitélio acetobranco fino</p> <p>Mosaico regular</p> <p>Pontilhado regular</p> <p>Leucoplasia fina</p> <p>Vasos atípicos</p> <p>Grau 2</p> <p>Epitélio acetobranco espessado</p> <p>Mosaico irregular</p> </div>
<p><b>C) Suspeita de carcinoma invasor</b></p>	

**ANEXO C - Terminologia para a descrição histopatológica das lesões precursoras do câncer cervical, segundo a orientação de WRIGHT *et al.* (1994), baseada na classificação proposta por RICHART (1973)**

WHO/ISGYP* classificação	Terminologia do Sistema de Bethesda
Displasia leve (NIC 1)	Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (SIL de baixo grau = LSIL)
Displasia moderada (NIC 2)	Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (SIL de alto grau = HSIL)
Displasia grave/Carcinoma <i>in situ</i> (NIC 3)	

\*World Health Organization and International Society of Gynecological Pathologists.

Fonte: Wright, Kurman e Ferenczy (2002, p. 256)<sup>79</sup>.

**ANEXO D - Descrição histopatológica baseada na classificação de RICHART (1973)**

<b>Grau da neoplasia intra-epitelial cervical (NIC)</b>	<b>Características da histopatologia</b>
NIC 1	Lesões que apresentam o terço basal do epitélio acometido por células com distúrbio de polarização e maturação.
NIC 2	Lesões que apresentam dois terços basais do epitélio acometido por células com pleomorfismo moderado, aumento da relação núcleo/citoplasma e cromatina granular.
NIC 3	Lesões que apresentam mais de dois terços do epitélio acometido por células com pleomorfismo acentuado, cromatina granulosa e nucleomegalia acentuada. Neste grupo são incluídas as lesões que acometem todo o epitélio, porém, sem sinais de invasão.

Fonte: Wright, Kurman, Ferenczy (2002)<sup>79</sup>.



## **ANEXO E - TÉCNICA DE CITOMETRIA DE FLUXO PARA A CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4**

O aparelho, citômetro de fluxo, utilizado neste estudo para a contagem dos linfócitos T CD4 foi o FACSCount® que segundo o fabricante, trata-se de um contador de células de dimensões compactas, computadorizado (BECTON DICKINSON, 1995).

O sistema FACSCount® fornece o número absoluto de linfócitos T auxiliares (CD3/CD4) e de linfócitos T supressores/citotóxicos (CD3/CD8) a partir de emissão de luz, utilizando dois ou mais complexos combinados “anticorpo-substância fluorescente” (fluorocromos) (BECTON DICKINSON, 1995).

Em cada tubo de amostra, existe um número conhecido de partículas de referência conjugadas com substâncias fluorescentes. Como o aparelho lê a intensidade de fluorescência tanto das partículas de referência quanto das células, conhecendo a quantidade de partículas, ele pode calcular o número de células. As células e as partículas de referência são separadas com base na fluorescência e depois contadas (BECTON DICKINSON, 1995).

Segundo o fabricante, BECTON DICKINSON (1995), a amostra de cada paciente deve ser preparada, devendo-se executar os seguintes passos:

- 1) O par de reagentes CD3/CD4 e CD3/CD8 deve ser rotulado, escrevendo em cada um deles o número do paciente;
- 2) O par de tubos de reação é agitado em um aparelho chamado vórtex;
- 3) Estes tubos de reação são abertos em um outro aparelho chamado “Coring-Station”, colocados em uma estante de trabalho e protegidos contra a luz;
- 4) A amostra de sangue do paciente é homogeneizada, invertendo o tubo delicadamente e adicionado 50 µl em cada um dos tubos de reagentes CD3/CD4 e CD3/CD8;
- 5) Novamente os tubos são agitados no vórtex e após incubados por 60 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz na estante de trabalho;
- 6) Adiciona-se 50 µl de solução fixadora nos tubos e de novo são agitados no vórtex;
- 7) É feita a corrida para a leitura da amostra no FACSCount® dentro de no máximo 2 horas após a preparação.

Quando a leitura da amostra do paciente é finalizada, o resultado do teste é impresso com as contagens absolutas de células CD4 e CD8 e a relação CD4/CD8, CD4/CD3 e CD8/CD3.

Para a emissão do laudo, é opcional calcular o valor percentual dos linfócitos T CD4 e T CD8 em relação à contagem total de linfócitos.

O cálculo do valor percentual dos linfócitos T CD4 e T CD8 em relação à contagem total de linfócitos é feito por meio das seguintes fórmulas:

**FÓRMULA 1** – Cálculo do valor percentual dos linfócitos T CD4

$$\% \text{ de linfócitos T CD4} = \frac{\text{Número absoluto de linfócitos T CD4} \times 100}{\text{Número de linfócitos totais}}$$

**FÓRMULA 2** – Cálculo do valor percentual dos linfócitos T CD8

$$\% \text{ de linfócitos T CD8} = \frac{\text{Número absoluto de linfócitos T CD8} \times 100}{\text{Número de linfócitos totais}}$$

**O número absoluto de linfócitos T CD4 e CD8 é fornecido pelo FACSCount®.**

Para a obtenção do número de linfócitos totais, é preciso realizar um hemograma com a mesma amostra de sangue analisada no citômetro ou com outra amostra colhida no mesmo momento e fazer o cálculo por meio da seguinte fórmula:

**FÓRMULA 3** – Para o cálculo do número absoluto de linfócitos totais

$$\text{N}^\circ \text{ absoluto de linfócitos totais} = \frac{\text{N}^\circ \text{ leucócitos totais} \times \% \text{ linfócitos totais}}{100}$$

## ANEXO F - TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO DA CARGA VIRAL DO HIV-1

### A- Teste NASBA HIV-1 RNA QT

A quantificação pelo teste de NASBA HIV-1 RNA QT baseia-se na amplificação do RNA de HIV-1 da amostra, juntamente com padrões internos (VAN GEMEN *et al.*, 1994). A quantidade de RNA amplificado é medida por meio da eletroquimioluminescência (BLACKBURN *et al.*, 1991).

Segundo o fabricante (ORGANON TEKNIKA, 1997), a metodologia NASBA QR é um ensaio de amplificação de ácido nucléico para a determinação qualitativa e quantitativa de RNA, desde o isolamento até a detecção do RNA amplificado. O *software* do leitor NASBA QR calcula automaticamente o número de cópias de RNA de HIV-1 do tipo selvagem no volume de plasma ou soro. Os resultados apresentados pelo software no intervalo de 100 – 400 cópias de RNA devem ser interpretados como menos de 400 cópias (neste caso, a sensibilidade de detecção do teste é de 400 cópias). Com a evolução do software a sensibilidade de detecção passou para 80 cópias.

A sensibilidade de detecção deste teste pode chegar ao limite mais baixo de 40 HIV-RNA cópias/ml, sendo que isto é determinado pela informação contida no computador e transmitida para o processador (RICHMAN *et al.*, 1999).

O teste é composto de quatro estágios distintos:

#### 1º ESTÁGIO: Liberação do ácido nucléico

À amostra, acrescenta-se o tampão de lise que contém tiocianato de guanidina e Triton X-100. As partículas virais e células presentes na amostra são desintegradas e as Rnases e Dnases presentes na amostra são inativadas. O ácido nucléico é liberado (FIGURA 1A).

#### 2º ESTÁGIO: Isolamento do ácido nucléico

Sob alta concentração de sal, todos os ácidos nucléicos no tampão de lise, incluindo os três RNA sintéticos adicionados necessário para o teste (utilizados como controle interno), ligam-se às partículas de sílica. Estas

partículas, agindo como fase sólida, são lavadas várias vezes. Finalmente, os ácidos nucleicos são eluídos da fase sólida (FIG. 1A).

### 3º ESTÁGIO: Amplificação do ácido nucleico

O RNA de HIV-1 do tipo selvagem, presente no ácido nucleico eluído, é co-amplificado com o RNA obtido do plasma do paciente. A amplificação baseia-se na extensão dos *primers*. O RNA da amostra e os controles adicionado servem como molde para a extensão do *primer 1* (contendo o sítio de reconhecimento da T7 RNA polimerase) pela transcriptase reversa do vírus da mieloblastose aviária (AMV-RT). A extensão é seguida pela degradação da fita de RNA pela RNase H, síntese da segunda fita de DNA pela extensão do *primer 2* pela AMV-RT e síntese de RNA pela T7 RNA polimerase. Com a síntese de RNA, o sistema entra na fase de amplificação isotérmica, resultando no acúmulo de RNA amplificados (FIGURAS 2A e 3A).

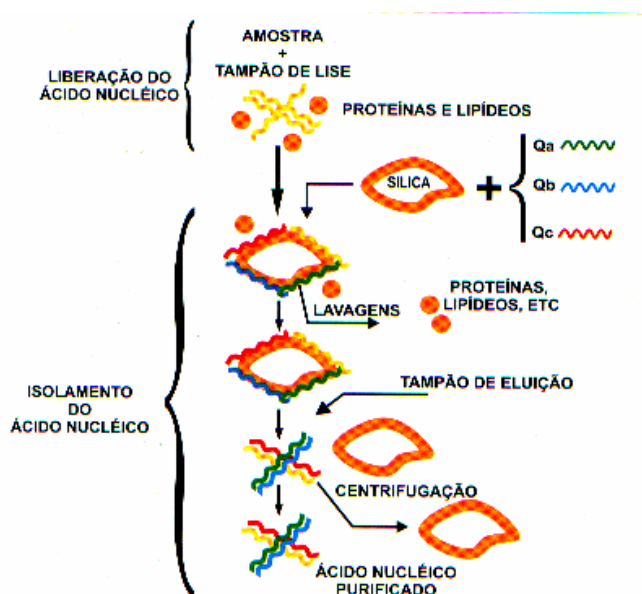


FIGURA 1A – Representação da fase de liberação e isolamento do ácido nucleico.

Fonte: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS (1999, p.21)<sup>80</sup>.

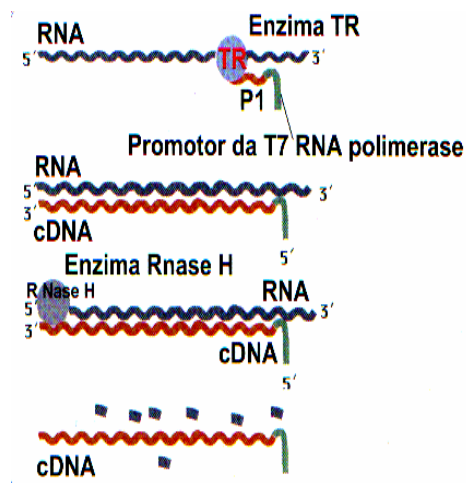


FIGURA 2A – Representação da síntese da primeira fita de Cdna.

Fonte: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS (1999, p.22)<sup>80</sup>.

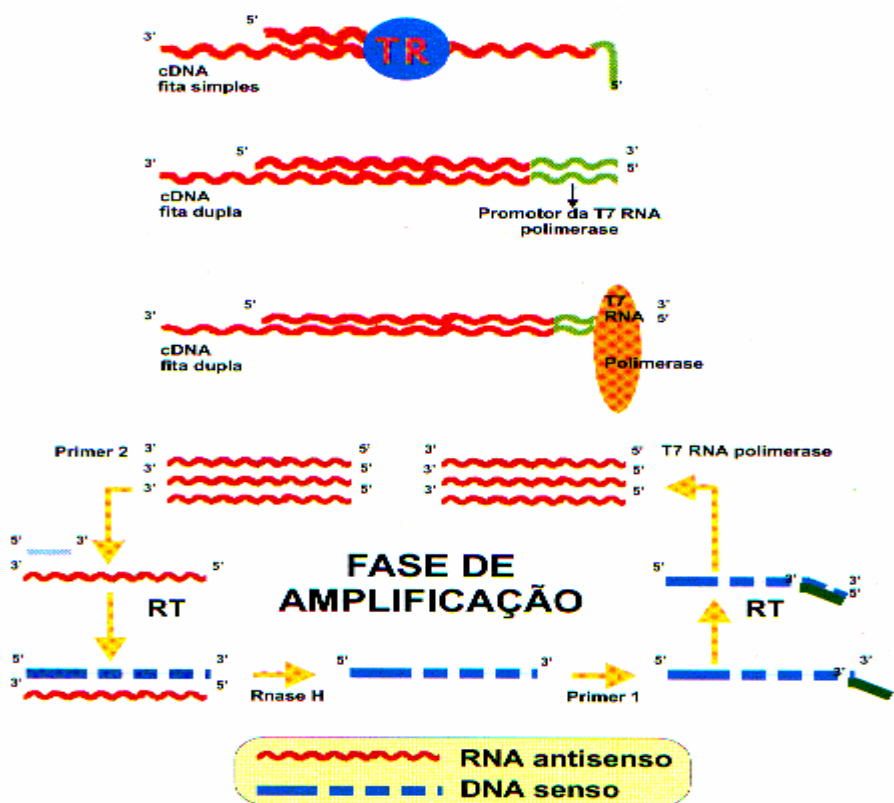


FIGURA 3A – Representação da síntese da segunda fita de DNA e ciclo da amplificação isotérmica.

Fonte: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS (1999, p.23)<sup>80</sup>.

#### 4° ESTÁGIO: Detecção do ácido nucléico

A detecção do RNA de HIV-1 em uma amostra baseia-se no princípio de eletroquimioluminescência (ECL). A detecção do RNA na amostra é feita por uma reação sanduíche entre micropérolas magnéticas marcadas com estreptoavidina, ligadas à biotina-oligo e uma sonda marcada com rutênio, as pérolas magnéticas carregando o complexo amplificado-hibridizado/sonda são capturados na superfície de um eletrodo por meio de um ímã. A tensão aplicada a este eletrodo dispara a reação de eletroquimioluminescência. A luz emitida pelas sondas marcadas com rutênio é proporcional à quantidade de amostra amplificada. O cálculo baseado nas quantidades relativas das amostras amplificadas revela a quantidade original de RNA de HIV-1 do tipo selvagem na amostra (FIGURA 4A).

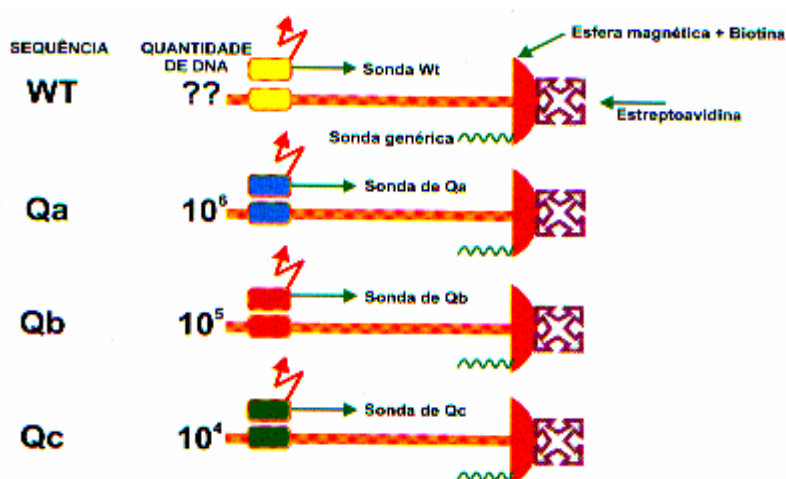


FIGURA 4A – Hibridização da amostra amplificada com sondas específicas e genéricas.

Fonte: Manual do Ministério da Saúde/CN-DST/AIDS (1999, p.24)<sup>80</sup>.

#### B- Teste Quantiplex HIV-1 RNA 3.0 (Bdna)

Segundo o fabricante (BAYER, 2000)<sup>81</sup>, a tecnologia do Bdna, é um ensaio de hibridização solução-sanduíche de ácidos nucléicos usando moléculas de DNA ramificadas (Bdna), amplificando o sinal de um alvo de RNA. O que é lido

pelo *software* do *System 340* é o nível de sinal emitido pela reação, gerando todas as análises de dados. Os resultados são gerados em cópias/ml ou IU/ml.

O limite de detecção para este teste foi definido como a concentração na qual 95% dos resultados são positivos (ERICE *et al.*, 2000).

A amostra é tratada com reagente de lise e o material nucléico do vírus liberado é então hibridado em solução usando dois conjuntos de sondas oligonucleotídeas.

Uma das sondas serve como sonda de captura (localizada na superfície dos poços da placa) que hibrida especificamente com o RNA do HIV e faz com que o RNA do HIV fique ligada à placa.

A segunda sonda serve como sonda que se liga ao RNA do HIV preso na placa e também serve para hibridar com um outro conjunto de sondas: pré-amplificadora e amplificadora (bDNA), a essa última se atribui a função de aumentar o nível de sinal da hibridização.

As moléculas de Bdna atuam como amplificadoras por se ligar com uma sonda marcada com fosfatase alcalina. Desta maneira, o sinal gerado pelo complexo HIV RNA-sonda é amplificado para detecção e quantificação do RNA viral.

Finalmente, a adição de um substrato quimioluminescente reage com a última sonda e o sinal emitido é lido em um luminômetro. A unidade relativa de luz (RLU) gerada é proporcionalmente correlacionada com a quantidade de RNA do HIV na amostra.

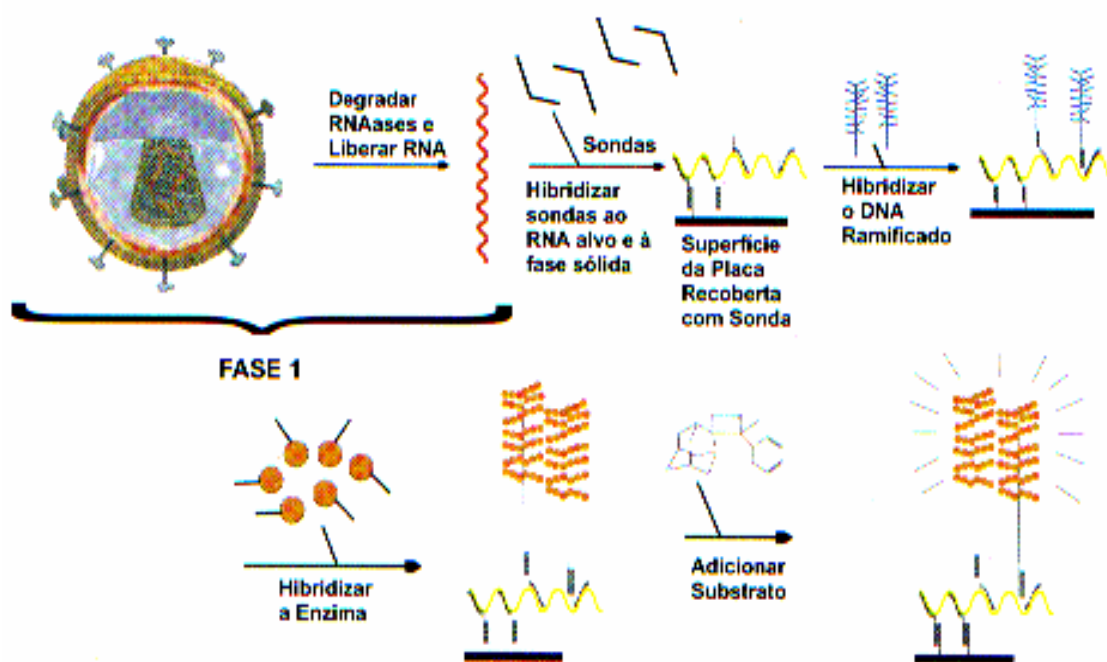


FIGURA 5A – Diagrama esquemático das etapas do teste de quantificação da carga viral do HIV pela técnica Bdna.

Fonte: Bayer (2000)<sup>81</sup>.

O valor da carga viral do HIV em logaritmo pelos dois métodos descritos é calculado pela expressão  $\log_{10}$  do valor em cópias/ml.



**ANEXO G - PROGRAMA MULTICÊNTRICO PARA CONTROLE E PREVENÇÃO  
DO CÂNCER CÉRVICO-UTERINO EM MINAS GERAIS**

**CENTRO DE TREINAMENTO E REFERÊNCIAS EM DOENÇAS INFECCIOSAS  
E PARASITÁRIAS ORESTES DINIZ**

**BELO HORIZONTE  
2004**

**MANUAL DE INSTRUÇÃO PARA COLETA, REVISÃO E CODIFICAÇÃO DOS  
DADOS**

**GRUPO DE PESQUISA: A MULHER E O HIV  
COORDENADOR: VICTOR HUGO DE MELO**

**PROGRAMA MULTICÊNTRICO PARA CONTROLE E PREVENÇÃO DAS  
LESÕES INTRA-EPITELIAIS CERVICAIS E DO CÂNCER CÉRVICO-UTERINO  
EM MULHERES PORTADORAS DO HIV NO ESTADO DE MINAS GERAIS,  
SEDE EM BELO HORIZONTE, 2003**

**1- ORDEM (ORDEM)**

A forma como as pacientes serão ordenadas no banco de dados.

**Tipo de variável: numérica**

**2- NOME DA PACIENTE (NOME)**

Constará no banco de dados o nome completo da paciente, devendo ser padronizada a forma de digitação: todo em letras maiúsculas e sem qualquer tipo de acento.

Tipo de variável: texto

**3- REGISTRO (RG)**

É o número do prontuário da paciente.

**Tipo de variável: numérica**

**4- DATA DE NASCIMENTO (Dt\_Nasc)**

Tipo de variável: data (dd/mm/aaaa)

**5- DATA DA ENTREVISTA (Dt\_Entre)**

**Corresponde a data da primeira consulta da paciente.**

Tipo de variável: data (dd/mm/aaaa)

## **6- IDADE**

**(IDADE)**

**Entrarão neste estudo mulheres com idade mínima de 16 anos completos à época da data da entrevista.**

Esta variável não precisará ser digitada, bastando apenas apertar a tecla ENTER duas vezes.

Tipo de variável: numérica

## **7- ESTADO CIVIL (CIVIL)**

Deverá constar o estado civil da paciente no momento da primeira consulta.

Codificação:

- 1.....solteira
- 2.....viúva
- 3.....união estável
- 4.....casada
- 5.....separada
- 6.....outros

Tipo de variável: texto

## **8- MOTIVO DA CONSULTA (MOTIVO1 e MOTIVO2)**

A paciente poderá ter no momento da primeira consulta 1, 2 ou mais queixas principais. Deverá constar na variável MOTIVO1 a principal queixa e no MOTIVO2 a segunda principal queixa da paciente.

*Quando a paciente apresentar apenas uma única queixa na consulta, esta deverá ser colocada no MOTIVO1 e no MOTIVO2 deverá ser colocado o código **88** (=Não se Aplica).*

**VARIÁVEIS:**

### **MOTIVO1**

Codificação:

- 1.....exame de rotina
- 2.....corrimento vaginal
- 3.....sangramento irregular
- 4.....dor pélvica
- 5.....amenorréia
- 6.....prurido
- 7.....lesão vulvar e/ou vaginal
- 8.....massa pélvica
- 9.....outras**

### **MOTIVO2**

Codificação:

- 1.....exame de rotina

- 2.....corrimento vaginal
- 3.....sangramento irregular
- 4.....dor pélvica
- 5.....amenorréia
- 6.....prurido
- 7.....lesão vulvar e/ou vaginal
- 8.....massa pélvica
- 9 .....outras**
- 88.....NA**

Tipo de variável: texto

### **9- USO DE ANTI-RETROVIRAIS (ARV)**

Considere o uso ou não de anti-retrovirais no momento da consulta, independente do número e do tipo de medicamentos em uso.

Poderão entrar neste estudo pacientes em uso ou não de anti-retrovirais.

#### Codificação:

- 1.....usa anti-retrovirais
- 2.....não usa anti-retrovirais
- 3.....aguardando resultado de exame
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

### **10- TEMPO DE USO DE ANTI-RETROVIRAIS (TMED)**

Todo o tempo de uso da medicação anti-retroviral deverá ser digitado em **MESES**, independente da adesão ao uso da medicação.

**Caso na variável ARV tenha usado o código 2, 3 ou 9, nesta variável TMED deverá ser colocado o código 9999. Se IGNORADO o tempo de uso de ARV use o código 9991.**

Tipo de variável: numérica

### **11- FORMA DE CONTÁGIO (CONTÁGIO)**

É a forma como a paciente se contaminou com o HIV.

#### Codificação:

- 1.....sexual
- 2.....sangue
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

### **12- CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4 (CD4)**

Serão consideradas as dosagens cujos laudos constarem no prontuário e que tenham sido analisadas pelo método de citometria de fluxo.

Será registrado (digitado) o valor da contagem de linfócitos T CD4 **mais baixo** no intervalo 6 meses antes até 6 meses após a data da coleta da PCR.

**Nos casos em que se estiver AGUARDANDO RESULTADO do exame utilizar o código 6666.**

**Nos casos que não existirem valores utilizaremos o código 9999 (IGNORADO).**

**VARIÁVEL:**

**CD4**

Tipo de variável: numérica

### **13- CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD8 (CD8)**

Serão consideradas as dosagens cujos laudos constarem no prontuário e que tenham sido analisadas pelo método de citometria de fluxo.

Será registrado (digitado) o **valor** da contagem de linfócitos T CD8 na data correspondente a contagem de linfócitos T CD4.

**Nos casos em que se estiver AGUARDANDO RESULTADO do exame utilizar o código 6666.**

**Nos casos que não existirem valores utilizaremos o código 9999 (IGNORADO).**

**VARIÁVEIS:**

**CD8**

Tipo de variável: numérica

### **14- DATA DA CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 E T CD8 (Dt\_CD)**

**Corresponde à data da menor dosagem de linfócitos T CD4 até o dia da primeira consulta. Deverá ser registrado a data da COLETA.**

Quando a variável **CD4 e CD8** for “6666”, a variável **Dt\_CD** será codificada com a **data da coleta**. Caso a paciente não saiba a data da coleta codificar com **09/09/1909**.

Quando a variável **CD4 e CD8** for “9999”, a variável **Dt\_CD** será codificada com **09/09/1909**.

Geralmente temos os resultados simultâneos de CD4 e CD8. No entanto, se uma das variáveis **CD4 ou CD8** for “9999”, a variável **Dt\_CD** deverá ser preenchida com a data da variável **CD4 ou CD8** que constar no laudo do laboratório.

**Tipo de variável: data da coleta (dd/mm/aaaa)**

### **15- DOENÇA INDICADORA DE AIDS – CATEGORIA C (CATC)**

Codificação:

1.....sim

2.....não

9.....ignorado

Tipo de variável: texto  
**Classificação da infecção pelo HIV – CDC, 1992**

<b>Categorias Clínicas</b>			
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>Categorias Laboratoriais/ Linfócitos T CD4</b>	<b>Assintomático, Linfadenopatia Generalizada Persistente ou Infecção Aguda</b>	<b>Sintomático, não- A, não-C</b>	<b>Condições Indicadoras de AIDS</b>
(1) > 500/mm <sup>3</sup>	A1	B1	C1
(2) 200 a 499/mm <sup>3</sup>	A2	B2	C2
(3) < 200/mm <sup>3</sup>	A3	B3	C3

1. Contagem de CD4 < 200/ mm<sup>3</sup> é definidora de AIDS, independente de manifestações clínicas .

2. Categoria clínica B: condições devem ser atribuídas ao HIV ou ter seu curso modificado pela infecção pelo HIV (por exemplo, candidíase oral ou vaginal, dermatite seborreica etc.)

3. Categoria clínica C: condições definidoras de AIDS de acordo com a definição do CDC de 1987, acrescidas de câncer cervical invasivo, pneumonia bacteriana recorrente (+ de dois episódios em um ano) e tuberculose pulmonar.

Fonte: Rachid e Schechter (2005, p. 215)<sup>21</sup>.

### **16- QUAL DOENÇA INDICADORA – CATEGORIA C (QUALC)**

Se a paciente tem pelo menos uma doença indicadora, registrar uma delas conforme a codificação abaixo. Caso ela não tenha o código será **88 (NA)**.

São doenças indicadoras de casos de AIDS em adultos, segundo a classificação do CDC.

#### Codificação:

- 1.....Candidíase de esôfago, traquéia, bronquios ou pulmões
- 2.....Câncer cervical invasivo
- 3.....CMV em qualquer órgão exceto fígado, baço, linfonodos, olhos
- 4.....TBC pulmonar e extrapulmonar
- 5.....Pneumonia por *Pneumocystis carinii*
- 6.....Toxoplasmose de um órgão interno
- 7.....Coccidiodomicose extrapulmonar
- 8.....Criptococose extrapulmonar
- 9.....Criptosporidiose com diarreia > 1 mês
- 10.....Herpes simples com úlcera mucocutânea com > 1 mês ou bronquite, pneumonite, esofagite
- 11.....Histoplasmose extrapulmonar
- 12.....Demência associada ao HIV: disfunção cognitiva incapacitante e/ou outras disfunções interferindo no trabalho ou nas atividades cotidianas

- 13.....Síndrome consuptiva associada ao HIV: perda ponderal involuntária >10% do peso corporal + diarréia crônica (>=2 episódios de fezes amolecidas por dia durante >=30 dias) ou fraqueza crônica e febre de origem obscura documentada por >= 30 dias
- 14.....Isosporíase com diarréia >1 mês
- 15.....Sarcoma de Kaposi (SK) em paciente com menos de 60 anos (ou com mais de 60 anos)
- 16.....Mycobacterium avium disseminado
- 17.....Pneumonia bacteriana recorrente (>= 2 episódios em 12 meses)
- 18.....Leucoencefalopatia multifocal progressiva
- 19.....Septicemia recorrente por Salmonella (não tifóide)
- 88.....NA**
- 99.....Ignorado**

Tipo de variável: texto

### 17- CATEGORIA B (CATB)

Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

### 18- QUAL DOENÇA DA CATEGORIA B (QUALB)

Se a paciente tem pelo menos uma doença da categoria B, registrar uma delas conforme a codificação abaixo. Caso ela não tenha o código será **88 (NA)**.

São condições que devem ser atribuídas ao HIV ou ter seu curso modificado pela infecção pelo HIV. Estas são condições não incluídas na Categoria C, porém atribuídas à infecção pelo HIV ou indicativas de deficiência imune celular ou consideradas como tendo um curso clínico/tratamento complicado pela infecção pelo HIV:

Codificação:

- 1.....Candidíase de orofaringe recorrente, persistente ou com baixa resposta terapêutica
- 2.....Candidíase vulvovaginal persistente, freqüente ou respondendo mal ao tratamento
- 3.....Displasia cervical moderada a grave / Ca *in situ*
- 4.....Sintomas constitucionais como febre (38,5° C)
- 5.....Diarréia por mais de 1 mês
- 6.....Leucoplasia pilosa oral
- 7.....Herpes Zooster envolvendo dois episódios ou mais de um dermatomo
- 8.....Púrpura trombocitopênica idiopática (PTI)
- 9.....Listeriose

10.....Doença inflamatória pélvica (DIP), especialmente quando complicada por abscesso tubo-ovariano

11.....Neuropatia periférica

**88.....NA**

**99.....Ignorado**

Tipo de variável: texto

## 19- CATEGORIA A (CATA)

### Codificação:

1.....sim

2.....não

9.....ignorado

Tipo de variável: texto

## 20- CLASSIFICAÇÃO DO CDC (CDC)

Todas as pacientes nas categorias A3,B3 e C1 a C3 têm AIDS, com base na presença de uma doença definidora de AIDS e/ou contagem de células T CD4 < 200 células/mm<sup>3</sup>.

### Codificação:

1.....A1

2.....A2

3.....A3

4.....B1

5.....B2

6.....B3

7.....C1

8.....C2

9.....C3

**99.....Ignorado**

Tipo de variável: texto

## 21- DATA DA CLASSIFICAÇÃO DO CDC (Dt\_CDC)

É a data correspondente a **menor** dosagem de linfócitos T CD4 de toda a vida da paciente. Lembrar que a paciente pode aumentar o número de células CD4 com o uso de ARV. No entanto, se ela atingiu, por exemplo, a classificação 3 (CD4 abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup>) mesmo que a contagem de células CD4 aumente para 400 células/mm<sup>3</sup> ela permanecerá na categoria 3.

Quando a variável **CDC** for “99”, a variável **Dt\_CDC** será codificada com **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da coleta do menor valor de células CD4 (dd/mm/aaaa)

**22- CARGA VIRAL DO HIV (CV)**

Será considerado o valor da carga viral cujo laudo esteja no prontuário da paciente, dosado pelo método NASBA, NUCLISENS ou bDNA, independentemente da sensibilidade de detecção do método.

Codificação:

- Valores **<80 cópias/ml ou abaixo do limite de detecção** (NUCLISENS) será codificado com o número **1 (INDETECTAVEL)**.
- Valores **<50 cópias/ml ou abaixo do limite de detecção** (bDNA) será codificado com o número **1 (INDETECTAVEL)**.
- Valores **<400 cópias/ml ou abaixo do limite de detecção** (quando o método de quantificação da carga viral do HIV for pelo NUCLISENS – critério antigo) será codificado com o número **1 (INDETECTAVEL)**.
- Nos casos em que o resultado da carga viral estiver acima dos valores indetectáveis deve ser registrado o valor numérico encontrado.

*Quando ocorrer de não existir valores também utilizaremos o código **IGNORADO=9**.*

Tipo de variável: numérica

**VARIÁVEL:**

CV: a dosagem mais alta e mais próxima da data da coleta para PCR (no intervalo entre 1 ano antes até 6 meses após a data da coleta para PCR).

**23-METODO DA CARGA VIRAL DO HIV (METODO)**

Serão os métodos de quantificação da carga viral do HIV utilizados com seus respectivos valores de sensibilidade de detecção.

**VARIÁVEL:**

METODO: corresponde à CV

Codificação:

- 1.....Nuclisens <80
- 2.....NASBA <400
- 3.....bDNA <50
- 9.....Ignorado

Tipo de variável: texto

**24- DATA DA CARGA VIRAL (Dt\_CV)**

**Corresponde a data da dosagem da carga viral.**

Quando a variável **CV** for “9”, a variável **Dt\_CV** será codificada com **09/09/1909**.

**Tipo de variável: data da coleta (dd/mm/aaaa)**

Dt\_CV: corresponde à CV



**25- MENARCA (MENARCA)**

A idade da primeira menstruação deverá ser digitada em **ANOS** completos.  
Se **IGNORADO** use o código **99**.

Tipo de variável: numérica

**26- COITARCA (COITARCA)**

A idade da primeira relação sexual ser digitada em **ANOS** completos.  
Se **IGNORADO** use o código **99**.

Tipo de variável: numérica

**27- NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS DURANTE A VIDA (NPARC)**

O número de parceiros sexuais deverá ser digitado no espaço correspondente.  
Se **IGNORADO** use o código **999**.

Tipo de variável: numérica

**28- TABAGISMO (FUMO)**

Considerar as pacientes com apenas 01 mês de cessado o uso do cigarro como tabagista (1=sim na codificação).

Considerar a paciente que está iniciando o uso do cigarro a menos de 01 mês como não tabagista (2= não na codificação).

Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 3.....ex-tabagista
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**29- TEMPO DE TABAGISMO (TFUMO)**

Digitar o tempo de uso do cigarro em **MESES**, quando a variável **FUMO=1**, se **IGNORADO=1**

Quando a variável **FUMO=2** ou **3** ou **9**, usar o código **1**.

Tipo de variável: numérica

**30- TEMPO DE EX-TABAGISMO (TEXFUMO)**

Digitar o tempo que a paciente parou de fumar em **MESES**, quando a variável **FUMO=3**, se **IGNORADO=1**.

Quando a variável **FUMO=1** ou **2** ou **9**, usar o código **1**.

Tipo de variável: numérica

**31- USO DE DROGAS INJETÁVEIS (INJETA)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 3.....já usou
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**32- TIPO DE TRABALHO (TRABALH)**Codificação:

- 1.....do lar (independente de ser empregada ou empregadora)
- 2.....fora do lar
- 3.....profissionais do sexo
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**33- TEMPO DE ESCOLARIDADE (ESCOLA)**

O tempo de escolaridade deverá ser digitado em **ANOS** completos.

Quando nunca tiver freqüentado a escola ou tiver freqüentado menos de 01 ano usar o código **99**.

Tipo de variável: numérica

**34- CONTRACEPÇÃO ATUAL (CONTRAC)**Codificação:

- 1.....condom
- 2.....ACO
- 3.....DIU
- 4.....diafragma
- 5.....injetável
- 6.....STB
- 7.....vasectomia
- 8.....método natural
- 9.....nenhum
- 10.....condom + outro método
- 11.....sem atividade sexual
- 88.....NA**
- 99.....ignorado**

Tipo de variável: texto

### 35- HISTÓRIA OBSTÉTRICA

#### VARIÁVEIS:

**GESTA (G)**  
**PARA (P)**  
**ABORTO (A)**

Tipo de variável: numérica (3 variáveis cada uma com 2 dígitos)

### 36- VULVOSCOPIA

Considera-se qualquer alteração no exame da vulva a ectoscopia ou a vulvosopia, segundo a classificação de Coppleson e Pixley (1992).

#### VARIÁVEIS:

**VULVA1 (VULVA1)**

**Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vulva.**

#### Codificação:

- 1.....normal (papilas ou filamentos constitucionais / lentigo simples / melanose)
- 2.....eritema
- 3.....herpes genital
- 4.....acetobranqueamento inespecífico: atrito/infecção
- 5.....condiloma acuminado / HPV na forma clínica
- 6.....cistos
- 7.....nevus
- 8.....alteração da cor (branca, acetobranca, marron ou outra pigmentação)
- 9.....alteração vascular (pontilhado, mosaico, vasos atípicos)
- 10.....hiperceratótica (= leucoplasia)
- 77.....outras alterações**
- 99.....ignorado**

Tipo de variável: texto

**VULVA2 (VULVA2)**

**Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vulva.**

#### Codificação:

- 1.....normal (papilas ou filamentos constitucionais / lentigo simples / melanose)
- 2.....eritema

- 3.....herpes genital
- 4.....acetobranqueamento inespecífico: atrito/infecção
- 5.....condiloma acuminado / HPV na forma clínica
- 6.....cistos
- 7.....nevus
- 8.....alteração da cor (branca, acetobranca, marron ou outra pigmentação)
- 9.....alteração vascular (pontilhado, mosaico, vasos atípicos)
- 10.....hiperceratótica (= leucoplasia)
- 77.....outras alterações**
- 88.....NA**

Tipo de variável: texto

### **37- BIÓPSIA DE VULVA (BVULVA)**

Colocar aqui o resultado histopatológico caso tenha sido realizado a biópsia de vulva.

#### Codificação:

- 1.....normal
  - 2.....líquen escleroso
  - 3.....hiperplasia escamosa pura
  - 4.....alterações epiteliais mistas
  - 5.....VIN I
  - 6.....VIN II
  - 7.....VIN III
  - 8.....Doença de Paget
  - 9.....Melanoma *in situ*
  - 10.....Neoplasias invasoras
  - 11.....Tumores benignos
  - 12.....Condiloma acuminado/HPV
  - 51.....VIN I + HPV
  - 61.....VIN II + HPV
  - 71.....VIN III + HPV
  - 77.....Outras alterações**
  - 66.....aguardando resultado**
  - 88.....biópsia não realizada**
- } Alt. epiteliais não neoplásicas
- } Neoplasia intra-epitelial escamosa
- } Neoplasia intra-epitelial não pavimentosa

*Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.*

Tipo de variável: texto

### **38- DATA DA BIÓPSIA DE VULVA (Dt\_Vulva)**

É a data da realização da biópsia de vulva tanto da BVULVA1 quanto da BVULVA2.

Quando a variável **BVULVA** for “66”, a variável **Dt\_Vulva** será codificada com a data da realização da biópsia.

Quando a variável **BVULVA** for “88”, a variável **Dt\_Vulva** será codificada com **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

### **39- VAGINOSCOPIA (VAGINA)**

Considera-se qualquer alteração no exame da vagina a ectoscopia (ex: condiloma acuminado) ou vaginoscopia.

#### **VARIÁVEIS:**

#### **VAGINA1 (VAG1)**

**Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vagina.**

#### Codificação:

- 1.....normal
- 2.....superfície acetobranca plana
- 3.....superfície acetobranca com micropapilas
- 4.....lesão com bordos nítidos
- 5.....pontilhado fino
- 6.....mosaico
- 7.....leucoplasia
- 8.....colpite micropapilar difusa e focal
- 9.....condiloma acuminado/HPV
- 77.....outras alterações**
- 99.....ignorado**

**Tipo de variável: texto**

#### **VAGINA2 (VAG2)**

**Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vagina.**

#### Codificação:

- 1.....superfície acetobranca plana
- 2.....superfície acetobranca com micropapilas
- 3.....lesão com bordos nítidos
- 4.....pontilhado fino
- 5.....mosaico
- 6.....leucoplasia
- 7.....colpite micropapilar difusa e focal
- 8.....condiloma acuminado/HPV
- 77.....outras alterações**
- 88.....NA**

**40- BIÓPSIA DE VAGINA (BVAG)**

Colocar aqui o resultado histopatológico caso tenha sido realizado a biópsia de vagina.

Codificação:

- 1.....normal
- 2.....adenose
- 3.....VAIN I
- 4.....VAIN II
- 5.....VAIN III
- 6.....Tumores malignos (carcinoma espinocelular invasivo, adenocarcinoma de células claras, tumores do seio endodérmico, sarcoma botrióide, leiomiossarcoma, melanoma maligno)
- 7.....HPV/ Condiloma acuminado
- 37.....VAIN I + HPV
- 47.....VAIN II + HPV
- 57.....VAIN III + HPV
- 66.....aguardando resultado**
- 88.....biópsia não realizada**

*Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.*

Tipo de variável: texto

**41- DATA DA BIÓPSIA DE VAGINA (Dt\_Vag)**

**É a data da realização da biópsia da vagina.**

Quando a variável **BVAG** for “66”, a variável **Dt\_Vag** será a data da realização da biópsia.

Quando a variável **BVAG** for “88”, a variável **Dt\_Vag** será **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

**42- COLPOSCOPIA DO COLO (COLO)**

Define se a avaliação colposcópica foi normal ou alterada.

Codificação:

- 1.....normal
- 2.....alterada
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**43- TIPO DE ALTERAÇÃO COLPOSCÓPICA NO COLO UTERINO (ACOLO)**

Se a variável **COLO** for “1” a variável **ACOLO** poderá ser “1” ou “8”.

Se a variável **COLO** for “9” a variável **ACOLO** será 9 (=IGNORADO)

**VARIÁVEIS:**

**ACOLO                      (ACOLO)**

**Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada à colposcopia.**

Codificação:

1.....**características colposcópicas sugestivas de alterações metaplásicas** (superfície lisa com vasos de calibre uniforme – alterações acetobranças moderadas – iodo negativo ou parcialmente positivo)

2.....**alterações menores** (superfície lisa com uma borda externa irregular – alteração acetobrança leve, que aparece tardiamente e desaparece rapidamente – iodo negatividade moderada, freqüentemente iodo malhado com positividade parcial – pontilhado fino e mosaico regular)

3.....**alterações maiores** (superfície geralmente lisa com borda externa aguda e bem marcada – alteração acetobrança densa, que aparece precocemente e desaparece lentamente; podendo apresentar um branco nacarado que lembra o de ostra – negatividade ao iodo, coloração amarelo-mostarda em epitélio densamente branco previamente existente – pontilhado grosseiro e mosaico de campos irregulares e de tamanhos discrepantes – acetobranqueamento denso no epitélio colunar pode indicar doença glandular)

4.....**características colposcópicas sugestivas de câncer invasivo** (superfície irregular, erosão ou ulceração – acetobranqueamento denso – pontilhado irregular extenso e mosaico grosseiro – vasos atípicos)

8.....**NA**

9.....**ignorado**

Tipo de variável: texto

**44- BIÓPSIA DE COLO UTERINO (BCOLO)**

Define se foi realizado biópsia do colo uterino e qual a alteração histopatológica encontrada.

Codificação:

1.....normal (inclui metaplasia)

2.....cervicite (leve, moderada ou acentuada)

3.....HPV

4.....NIC I

5.....NIC II

6..... NIC III/Ca *in situ*

7.....Carcinoma microinvasor

8.....Carcinoma invasor

- 34.....HPV + NIC I
- 35.....HPV + NIC II
- 36.....HPV + NIC III
- 37.....HPV + carcinoma
- 66.....aguardando resultado**
- 88.....biópsia não realizada**

*Caso utilizem as codificações “66” esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da biópsia.*

**Tipo de variável: texto**

#### **45- DATA DA BIÓPSIA DE COLO UTERINO (Dt\_Colo)** **É a data da realização da biópsia do colo uterino.**

Quando a variável **BCOLO** for “66” , a variável **Dt\_Colo** será a data da realização da biópsia.

Quando a variável **BCOLO** for “88” , a variável **Dt\_Colo** será **09/09/1909**.

Tipo de variável: data da realização da biópsia (dd/mm/aaaa)

#### **46- COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA (CITO)**

Para entrar o resultado no banco de dados o material deve ter **adequabilidade satisfatória**. Toda paciente deverá ter pelo menos um resultado de citologia até 6 ( seis ) meses para que se submeta a coleta do material para a PCR. Havendo coleta simultânea a PCR considerar este resultado.

##### Codificação:

- 1.....normal (inclui metaplasia escamosa e alterações celulares benignas)
- 2.....alterações inflamatórias (incluir infecções por bactérias, fungos ou protozoários)
- 3.....HPV (alterações sugestivas, efeito citopático, etc.)
- 4.....NIC I
- 5.....NIC II
- 6..... NIC III/Ca *in situ*
- 7.....Carcinoma microinvasor
- 8.....Carcinoma invasor
- 9.....ASCUS
- 10.....AGUS
- 32.....HPV + alteração inflamatória
- 34.....HPV + NIC de qualquer grau
- 37.....HPV + carcinoma
- 66.....aguardando resultado**
- 88.....NA**



No caso de material insatisfatório a citologia deve ser repetida.

Quando for utilizada a codificação **66** esta variável deverá ser modificada tão logo chegue o resultado definitivo da citologia.

Tipo de variável: texto

Terminologia para as lesões precursoras do câncer cervical

WHO/ISGYP* classificação	Terminologia do Sistema de Bethesda
Displasia leve (NIC 1)	Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (SIL de baixo grau = LSIL)
Displasia moderada (NIC 2)	Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (SIL de alto grau = HSIL)
Displasia grave/Carcinoma <i>in situ</i> (NIC 3)	

\*World Health Organization and International Society of Gynecological Pathologists.

FONTE: Wright (2002, p. 256)<sup>66</sup>.

**47- DATA DA COLPOCITOLOGIA ONCÓTICA (Dt\_Cito)**

É a data da coleta da colpocitologia oncótica.

Quando a variável **CITO** for “66”, a variável **Dt\_Cito** será a data da coleta da citologia.

Tipo de variável: data da realização da citologia (dd/mm/aaaa)

**48- CIDADE (CIDADE)**

Define a cidade que foi coletada a PCR da paciente.

Codificação:

- 1.....Belo Horizonte
- 2.....Betim
- 3.....Divinópolis
- 4.....Juiz de Fora
- 5.....Alfenas
- 6.....Barbacena
- 7.....Poços de Caldas
- 9.....Uberaba
- 99.....Ignorado

Tipo de variável: texto

**49- RESULTADOS DA PCR PARA HPV****VARIÁVEIS:**

**PCR (PCR)**  
Codificação:  
1.....realizada  
2.....não realizada  
9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**PRESENÇA HPV (HPV)**  
Codificação:  
1.....positivo  
2.....negativo  
3.....inibidora  
4.....material inadequado  
9.....ignorado

Nos casos da codificação for “3” ou “4” o material deverá ser coletado novamente.

Tipo de variável: texto

**HPV6 (HPV6)**  
Codificação:  
1.....sim  
2.....não  
9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV11 (HPV11)**  
Codificação:  
1.....sim  
2.....não  
9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV16 (HPV16)**  
Codificação:  
1.....sim  
2.....não  
9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV18 (HPV18)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV31 (HPV31)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV33 (HPV33)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**HPV35 (HPV35)**Codificação:

- 1.....sim
- 2.....não
- 9.....ignorado

Tipo de variável: texto

**50- DATA DA PCR (Dt\_PCR)**

É a data da coleta da PCR.

Tipo de variável: data da coleta (dd/mm/aaaa)

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### **Título do projeto: “PROGRAMA MULTICÊNTRICO PARA CONTROLE E PREVENÇÃO DAS LESÕES CERVICAIS DE ALTO RISCO E DO CÂNCER CERVICO-UTERINO EM MULHERES PORTADORAS DO HIV.”**

Está sendo feito um estudo no estado de Minas Gerais com as mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV) para detectar lesões que levam ao câncer no colo uterino destas mulheres.

Este estudo está sendo patrocinado pelo Ministério da Saúde – Secretaria de Políticas de Saúde – Coordenação Nacional de DST/AIDS. O Dr. Victor Hugo de Melo é o coordenador desta pesquisa na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e no Estado de Minas Gerais.

Você está sendo convidada a participar deste estudo. Antes de decidir pela sua participação queremos informá-la sobre este estudo através deste termo de consentimento. Você poderá fazer perguntas a qualquer momento. Se você decidir entrar no estudo, será solicitado que assine este termo de consentimento.

### **POR QUE ESTE ESTUDO ESTÁ SENDO REALIZADO?**

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) é uma doença que destrói o sistema imunológico do organismo (defesas do organismo para combater as infecções), deixando uma pessoa incapaz de lutar contra doenças que ameaçam a vida.

Pretendemos com este estudo obter informações sobre a associação que existe entre a diminuição das defesas do organismo a presença do papilomavírus humano (HPV), outras doenças sexualmente transmissíveis (DST), levando a lesões pré-cancerosas e cancerosas no colo uterino das mulheres portadoras do HIV.

Estas informações serão usadas para melhorar o acompanhamento e tratamento das lesões no colo uterino, prevenindo o câncer, porque a grande maioria das mulheres portadoras do HIV (mais de 80%) são portadoras do HPV (vírus que pode causar o câncer no colo uterino).

Os procedimentos realizados neste estudo são os mesmos que você receberia caso opte por não participar dele.

### **O QUE EU PRECISO FAZER NAS VISITAS DO ESTUDO?**

Se você decidir participar neste estudo, serão colhidas informações sobre a sua saúde e relacionadas a ela em todas as suas consultas.

## **QUE EXAMES E ANÁLISES DE LABORATÓRIO SERÃO FEITOS NAS VISITAS DO ESTUDO ?**

Será realizado um exame ginecológico completo com coleta de material para citologia oncótica (igual à realizada anualmente para prevenção do câncer do colo uterino em qualquer mulher), coleta de material para PCR para HPV (feita com a mesma espátula usada para colher a citologia oncótica).

Necessitaremos que você faça exames de sangue que ajudarão o seu médico a acompanhar como agem as defesas do seu corpo para auxiliar na resposta ao tratamento ginecológico que se fizer necessário para a sua cura ou um melhor controle da lesão pré-cancerosa.

Para a realização destes procedimentos descritos aqui, poderá ser necessário que você compareça em mais de uma consulta.

## **QUANTAS MULHERES PARTICIPARÃO DESTE ESTUDO E DURANTE QUANTO TEMPO?**

Estima-se a participação de aproximadamente 550 mulheres de diferentes cidades do Estado de Minas Gerais que farão parte neste estudo.

## **QUAIS SÃO OS RISCOS DESTE ESTUDO ?**

Os riscos são muito pequenos. Não há riscos importantes na coleta do material para prevenção do câncer do colo uterino, apenas um leve desconforto ou uma cólica leve.

Quando houver necessidade de biópsia no colo uterino você poderá sentir um cólica leve, raramente poderá ocorrer sangramento aumentado e/ou desmaio.

Caso necessite de cauterização química ou de eletro-cauterização poderá sentir um pouco de dor em cólicas que será minimizada, dependendo da região a ser tratada, com anestésicos locais.

Como em todo procedimento médico existe a possibilidade de insucesso no diagnóstico e tratamento destas lesões. Sabe-se que nas mulheres portadoras do HIV a porcentagem de recidiva (retorno) das lesões do colo uterino é maior do que nas mulheres não portadoras do HIV. Mas, todos os esforços serão feitos no sentido de minimizar as complicações decorrentes desta condição.

## **HÁ BENEFÍCIOS DA PARTICIPAÇÃO NESTE ESTUDO ?**

Sim. Para você, de imediato: terá a possibilidade de diagnóstico e tratamento de suas lesões no colo uterino, mas é bom lembrar que é o mesmo que você teria se optasse por não participar do estudo ou se desejar desistir de sua participação neste estudo.

Para os médicos: as informações obtidas neste estudo poderão ajudá-los a descobrir mais sobre as lesões pré-cancerosas no colo uterino das mulheres portadoras do HIV. Pretende-se saber se há associação da carga viral (quantidade do vírus - HIV - no corpo) ou a contagem de linfócitos CD4 (são as

células da defesa do corpo) determinando a presença ou gravidade destas lesões no colo uterino e infecções como pelo HPV que levam ao câncer. Espera-se que com estes conhecimentos tenhamos mais facilidades no manejo destas pacientes portadoras do HIV, contribuindo para a redução deste câncer cérvico-uterino e melhora na qualidade da vida sexual destas pacientes.

### **CONFIDENCIALIDADE**

Serão feitos esforços no sentido de manter os prontuários médicos confidenciais (privados), embora não se possa garantir absoluta confidencialidade. O seu prontuário médico poderá ser aberto, se exigido por lei. Os resultados dos seus exames serão mantidos em sigilo. Entretanto, esses prontuários poderão ser vistos por indivíduos que trabalham neste estudo e os resultados poderão ser publicados em revistas científicas. Você não será pessoalmente identificada em nenhuma publicação resultante da informação obtida neste estudo.

### **HÁ ALGUM CUSTO PARA MIM ?**

Não há nenhum custo para você relacionado com as visitas clínicas, exames ou testes de laboratório em conexão com o estudo.

### **EU RECEBEREI ALGUM PAGAMENTO ?**

Você não receberá nenhum tipo de remuneração (pagamento) por estar neste estudo. Da mesma forma, não existe nenhuma remuneração para os pesquisadores.

### **O QUE ACONTECERÁ SE EU SOFRER LESÃO ?**

Se você sofrer algum tipo de lesão em consequência deste estudo, o ambulatório ao qual você está sendo acompanhada em qualquer uma das diversas cidades de Minas Gerais (unidades clínicas) envolvidas neste estudo dispensará a você o tratamento necessário e imediato da lesão. Será comunicado onde você poderá receber tratamento adicional das lesões se for o caso. Você terá também apoio adicional no Centro de Treinamento e Referências em Doenças Infecciosas e Parasitárias da UFMG/PBH (CTR-DIP). Não existe qualquer programa de pagamento a você, mas você não estará renunciando a nenhum direito legal ao assinar este termo de consentimento.

### **QUAIS SÃO OS MEUS DIREITOS POR PARTICIPAR DA PESQUISA ?**

Sua participação na pesquisa é completamente voluntária. Você tem o direito de recusar a participar da pesquisa a qualquer momento sem prejuízo do seu tratamento.

## DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu li este termo de consentimento (ou alguém o explicou para mim), todas as minhas perguntas foram respondidas e concordo em tomar parte neste estudo. Estou ciente de que eu posso sair a qualquer momento, sem perder o direito de receber cuidados médicos.

Nome da paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura da paciente: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Coordenador do Projeto  
Prof. Dr. Victor Hugo de Melo  
Belo Horizonte  
Fone: (31)9968-2401/(31)3273-5233

\_\_\_\_\_  
Professor / Médico  
Cidade / Telefone  
Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG.  
Telefone: (31)3248-9364

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO PADRÃO - CENTRO DE TREINAMENTO E REFERÊNCIA DE DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS ORESTES DINIZ

**1 PROGRAMA MULTICÊNTRICO PARA CONTROLE E PREVENÇÃO DO CÂNCER CÉRVICO-UTERINO EM MINAS GERAIS**

**1. NÚMERO DE ORDEM (não preencher)**

**2. PACIENTE**

---

**3. REGISTRO** \_\_\_\_\_

**4. DATA DE NASCIMENTO** (\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_)  
dd      mm      aaaa

**5. DATA DA ENTREVISTA** (\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_)  
dd      mm      aaaa

**6. IDADE (em anos)** (\_\_\_\_\_)

**7. ESTADO CIVIL** (\_\_\_\_\_)

**8.a. MOTIVO1 DA CONSULTA** (\_\_\_\_\_)

**b. MOTIVO2 DA CONSULTA** (\_\_\_\_\_)

**9. USO DE ANTI-RETROVIRAIS** (\_\_\_\_\_)

**10. TEMPO DE USO DE ANTI-RETROVIRAIS (em meses)** (\_\_\_\_\_)

**11. FORMA DE CONTÁGIO** (\_\_\_\_\_)

**12. CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4** (\_\_\_\_\_)

**13. CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD8** (\_\_\_\_\_)

Será registrado (digitado) o valor correspondente na data da contagem dos linfócitos T CD4.

**14. DATA DA CONTAGEM DE CÉLULAS T CD4 E T CD8** (\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_)  
Deverá ser registrado a data da COLETA. dd      mm      aaaa

**15. DOENÇA INDICADORA DE AIDS – CATEGORIA C** (\_\_\_\_\_)

**16. QUAL DOENÇA CATEGORIA C** (\_\_\_\_\_)

**17. CATEGORIA B** (\_\_\_\_\_)



18. QUAL DOENÇA DA CATEGORIA B (\_\_\_\_\_)

19. CATEGORIA A (\_\_\_\_\_)

20. CLASSIFICAÇÃO DO CDC (\_\_\_\_\_)

21. DATA DA CLASSIFICAÇÃO DO CDC (\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_)

É a data (dd/mm/aaaa) correspondente a **menor** dosagem de linfócitos T CD4 de toda a vida da paciente.

22. CARGA VIRAL DO HIV

Será considerada a dosagem mais alta e mais próxima da data da coleta para PCR, cujo laudo esteja no prontuário da paciente, dosada pelo método NUCLISENS ou bDNA, independentemente da sensibilidade de detecção do método.

CV \_\_\_\_\_

23. METODO DA CARGA VIRAL DO HIV

Método carga (\_\_\_\_\_)

24. DATA DA CARGA VIRAL

Corresponde a data (dd/mm/aaaa) da dosagem da carga viral

Data carga (\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_)

25. MENARCA \_\_\_\_\_ ANOS

26. COITARCA \_\_\_\_\_ ANOS

27. NÚMERO DE PARCEIROS SEXUAIS (\_\_\_\_\_)

28. TABAGISMO (\_\_\_\_\_)

29. TEMPO DE TABAGISMO \_\_\_\_\_ MESES

30. TEMPO DE EX-TABAGISMO \_\_\_\_\_ MESES

31. USO ATUAL DE DROGAS INJETÁVEIS (\_\_\_\_\_)

32. TIPO DE TRABALHO (\_\_\_\_\_)

33. TEMPO DE ESCOLARIDADE \_\_\_\_\_ ANOS

34. CONTRACEPÇÃO ATUAL (\_\_\_\_\_)

35. HISTÓRIA OBSTÉTRICA

a. GESTA \_\_\_\_\_

b. PARA \_\_\_\_\_

c. ABORTO \_\_\_\_\_

**36. VULVOSCOPIA****a. VULVA 1 (\_\_\_\_\_)****Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vulva.****b. VULVA 2 (\_\_\_\_\_)****Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vulva.****37. BIÓPSIA DE VULVA (\_\_\_\_\_)****38. DATA DA BIÓPSIA DE VULVA ( \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ )**  
dd mm aaaa**39. VAGINOSCOPIA (VAGINA)****a. VAGINA1 (\_\_\_\_\_)****Considerar aqui a PRINCIPAL alteração visualizada no exame da vagina.****b. VAGINA2 (\_\_\_\_\_)****Considerar nesta variável a SEGUNDA principal alteração visualizada no exame da vagina.****40. BIÓPSIA DE VAGINA (\_\_\_\_\_)****41. DATA DA BIÓPSIA DE VAGINA ( \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ )**  
dd mm aaaa**42. COLPOSCOPIA DO COLO (\_\_\_\_\_)****43. ALTERAÇÃO COLPOSCÓPICA NO COLO UTERINO (\_\_\_\_\_)****44. BIÓPSIA DO COLO UTERINO (\_\_\_\_\_)****45. DATA DA BIÓPSIA DE COLO UTERINO ( \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ )**  
dd mm aaaa**46. CITOLOGIA ONCÓTICA (\_\_\_\_\_)****47. DATA DA CITOLOGIA ONCÓTICA ( \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ )**  
dd mm aaaa**48. CIDADE (\_\_\_\_\_)****49. RESULTADOS DA PCR PARA HPV****a. PCR PARA HPV (\_\_\_\_\_)****b. PRESENÇA DO HPV (\_\_\_\_\_)**

c. HPV6 (\_\_\_\_\_)

d. HPV11 (\_\_\_\_\_)

e. HPV16 (\_\_\_\_\_)

f. HPV18 (\_\_\_\_\_)

g. HPV31 (\_\_\_\_\_)

h. HPV33 (\_\_\_\_\_)

i. HPV35 (\_\_\_\_\_)

50- DATA DA PCR ( \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ )  
                                  dd                  mm                  aaaa

## APÊNDICE C - TABELAS

TABELA 22

Idade (em anos) das pacientes infectadas pelo HIV ao entrarem no estudo,  
nas cinco cidades de Minas Gerais

CIDADE	Idade Mínima	Idade Máxima	Média	Desvio-padrão	Mediana	Total de pacientes
BH	20	61	35,6	8,4	35	152
Betim	20	67	36,8	8,2	37	36
Barbacena	20	65	38,8	10,8	40	20
Divinópolis	23	64	35,3	9,1	34	44
C. Lafaiete	21	65	36,8	10,5	37,5	36
<b>TODAS</b>	<b>20</b>	<b>67</b>	<b>36,1</b>	<b>8,9</b>	<b>35</b>	<b>288</b>

TABELA 23

Idade (em anos) de início de atividade sexual das pacientes infectadas pelo HIV,  
nas cinco cidades de Minas Gerais

CIDADE	Mínimo	Máximo	Média	Mediana	Desvio-padrão	Total de pacientes
BH	11	32	18,2	17,0	3,9	150
Betim	12	25	17,3	17,0	3,4	35
Barbacena	12	27	17,9	17,0	3,6	19
Divinópolis	10	34	17,5	17,0	4,6	44
C.Lafaiete	10	24	17,1	17,0	3,5	35
<b>TODAS</b>	<b>10</b>	<b>34</b>	<b>17,8</b>	<b>17,0</b>	<b>3,9</b>	<b>283</b>

TABELA 24

Número de parceiros sexuais das pacientes infectadas pelo HIV, ao entrarem no estudo, nas cinco cidades de Minas Gerais

<b>CIDADE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Média de parceiros</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Total de pacientes</b>
BH	1	30	4,4	3,0	4,1	147
Betim	1	10	3,8	3,0	3,1	27
Barbacena	1	30	4,8	2,5	7,1	16
Divinópolis	1	50	7,1	3,0	9,5	43
C.Lafaiete	1	200	10,4	3,0	34,2	33
<b>TODAS</b>	<b>1</b>	<b>200</b>	<b>5,5</b>	<b>3,0</b>	<b>13,2</b>	<b>266</b>

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)