



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
E SAÚDE PÚBLICA
DINTER – DOUTORADO INSTITUCIONAL UFG/UEMA/UESPI/UFMA

JOSÉ EDUARDO BATISTA

**Prevalência de tipos específicos de HPV e anormalidades citológicas
em mulheres quilombolas**

Goiânia

2014

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ Dissertação ☒ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: JOSÉ EDUARDO BATISTA

Título do trabalho: Prevalência de tipos específicos de HPV e anormalidades citológicas em mulheres quilombolas

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


José Eduardo Batista
Assinatura do (a) autor (a)

Data: 16 / 08 / 2016

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

JOSÉ EDUARDO BATISTA

**Prevalência de tipos específicos de HPV e anormalidades citológicas
em mulheres quilombolas**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás como requisito para obtenção do Título de Doutor em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Silvia Helena Rabelo dos Santos.

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

Goiânia

2014

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Batista, José Eduardo Batista

Prevalência de tipos específicos de HPV e anormalidades citológicas
em mulheres quilombolas [manuscrito] / José Eduardo Batista
Batista. - 2014.

O 137 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Silvia Helena Rabelo dos Santos Santos; co
orientador Dr. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento
Nascimento.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de
Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) , Programa de Pós
Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2014.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, mapas, abreviaturas, símbolos, tabelas, lista de figuras,
lista de tabelas.

1. Populações vulneráveis. 2. HPV. 3. Prevalência. 4. PCR. 5.
Esfregaço cervical. I. Santos, Silvia Helena Rabelo dos Santos , orient.
II. Nascimento, Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento, co
orient. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA
Rua 235, s/n – Setor Universitário - Goiânia/GO – CEP: 74.605-050
Fones: (62) 3209.6362 - 3209.6102 – Fax: (62) 3209.6363 - e-mail: ppgmtsp.ufg@gmail.com

ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE JOSÉ EDUARDO BATISTA -

Aos vinte e três dias do mês de outubro do ano de 2014 (23/10/2014), às 14 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profas. Dras. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS, VIRGINIA FARIAS ALVES, FÁTIMA RIBEIRO DIAS, VERA APARECIDA SADDI e MEGMAR APARECIDA DOS SANTOS CARNEIRO, para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de tese intitulada: **“PREVALÊNCIA DE TIPOS ESPECÍFICOS DE HPV E ANORMALIDADES CITOLÓGICAS EM MULHERES QUILOMBOLAS”**, em nível de **DOCTORADO**, área de concentração em **MICROBIOLOGIA**, de autoria de **JOSÉ EDUARDO BATISTA**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora Profa. Dra. SILVIA HELENA RABELO DOS SANTOS, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou o Candidato sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida ao autor da tese que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu o Candidato, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução n°. 1081/2012 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o candidato **Aprovado** ou **Reprovado**:

Banca Examinadora

Profa. Dra. Silvia Helena Rabelo dos Santos
Profa. Dra. Virginia Farias Alves
Profa. Dra. Fátima Ribeiro Dias
Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi
Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro

Aprovada / Reprovada

Silvia Helena Rabelo dos Santos
Aprovado - Virginia Farias Alves
Aprovado / Fátima Ribeiro Dias
Vera Aparecida Saddi Aprovado
Megmar Aparecida dos Santos Carneiro Aprovado

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou o candidato *habilitado* (**Habilitado ou não Habilitado**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **DOCTOR EM MEDICINA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA**, na área de concentração em **MICROBIOLOGIA**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às *17h10* min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de tese e para constar eu, KARINY VIEIRA SOARES E SILVA, secretário do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor. A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Tese:

Prevalência de tipos específicos de HPV e anormalidades citológicas em Mulheres Quilombolas

Profa. Dra. Silvia Helena Rabelo dos Santos (FF/UFG) *Silvia Helena Rabelo dos Santos*
Profa. Dra. Virginia Farias Alves (FF/UFG) *Virginia Farias Alves*
Profa. Dra. Fátima Ribeiro Dias (IPTSP/UFG) *Fátima Ribeiro Dias*
Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi (PUC/GO) *Vera Aparecida Saddi*
Profa. Dra. Megmar Aparecida dos Santos Carneiro (IPTSP/UFG) *Megmar Aparecida dos Santos Carneiro*
Secretário da Pós-Graduação: *Kariny V. Soares e Silva*

**Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública
da Universidade Federal de Goiás**

**BANCA EXAMINADORA DA TESE DE QUALIFICAÇÃO
DE DOUTORADO**

Aluno: José Eduardo Batista

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Silvia Helena Rabelo dos Santos

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

Membros Titulares:

1. Prof.^a Dr.^a Virgínia Farias Alves

2. Prof.^a Dr.^a Fátima Ribeiro Dias

3. Prof.^a Dr.^a Megmar Aparecida dos Santos Carneiro

4. Prof.^a Dr.^a Vera Aparecida Saddi

Membros Suplentes:

1. Prof.^a Dr.^a Rosane Ribeiro Figueiredo Alves

2. Prof.^a Dr.^a Valéria Christina de Rezende Féres

3. Prof.^a Dr.^a Menira Borges de Lima Dias e Souza

4. Prof.^a Dr.^a Lúcia Kioko Hasimoto e Souza

Goiânia

2014

DEDICATÓRIA

Aos meus pais (in memoriam), minha eterna gratidão pela educação e ensinamentos de vida.

*Aos meus irmãos **José Henrique e Francisca de Assis** (in memoriam), pelos exemplos de vida.*

*Aos meus filhos **José Eduardo Batista Filho, Carlos Eduardo Mendonça Batista, Norma Mendonça Batista** e à neta **Nathália de Paula Batista**, razão da minha existência.*

*À minha esposa **Wilma Mendonça Batista**, amiga e companheira de todos os momentos.*

Aos familiares e Nora pelos estímulos e apoio recebidos.

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Dr.^a Silvia Helena Rabelo Santos, pela paciência, apoio, dedicação, confiança e ensinamentos. Agradeço especialmente por ter sido uma verdadeira orientadora desta minha caminhada.

À Prof.^a Dr.^a Maria do Desterro Soares Nascimento, minha Co-orientadora, pelo incentivo, confiança e ensinamentos, principalmente na primeira etapa deste trabalho, estando presente em quase todas as coletas.

À Prof.^a Dr.^a Vera Aparecida Saddi, que me acolheu no Laboratório de Diversidade Genética da PUC-Goiás. Agradeço a confiança e a oportunidade de aprendizagem que tivemos.

À Prof.^a Dr.^a Megmar Aparecida dos Santos Carneiro pelo apoio em todas as etapas do projeto e pela colaboração nas análises estatísticas

À Andrea Alves Ribeiro e Kelly Deyse Segati, alunas da Pós-Graduação da UFG, pela colaboração na extração do DNA, reações de PCR e processamento das amostras.

À equipe de Citologistas do Laboratório Rômulo Rocha da UFG, pelo diagnóstico e revisão das lâminas de citologia.

À citologista Dr.^a Gerusinete Bastos Santos da SEMUS pelo apoio na coloração e leitura das lâminas.

Aos meus alunos de graduação da UFMA, Walder Jansen de Mello Lobão, Reydson Rafael Rosa Reis e Hannah Rafaelle de Oliveira Ramos Andrade que contribuíram no cadastramento das pacientes e acompanhamento nos Quilombos de Palmares.

À Prof.^a Dr.^a Flávia Vidal, pelos ensinamentos iniciais na biologia molecular no Banco de Tumores do HU-UFMA.

À Prof.^a Dr.^a Dulcelena Ferreira Silva, que muito contribuiu na coleta, assistência às pacientes e êxito desta jornada.

Aos secretários do curso de pós-graduação do IPTSP, José Clementino (Zezinho) e Kariny, pela atenção e assistência prestadas.

A todos do Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha, pelo respeito e colaboração.

A CAPES e FAPEMA pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA	12
1.1	Epidemiologia do câncer do colo de útero	12
1.2	Biologia do HPV	17
1.3	Taxonomia do HPV	17
1.4	Epidemiologia da Infecção por HPV	20
1.5	Prevalência de tipos específicos de HPV em mulheres sem lesões cervicais	21
1.6	Prevalência de tipos específicos de HPV em mulheres com lesões cervicais	22
1.7	Genoma do HPV	25
1.8	Patogênese e papel oncogênico do HPV	26
1.9	Diagnóstico da infecção do HPV	30
1.9.1	Métodos não moleculares	30
1.9.1.1	Citopatologia	30
1.9.1.2	Histopatológico	31
1.9.2	Métodos moleculares para detecção do DNA do HPV	32
1.9.2.1	Hibridização “ <i>in situ</i> ”	32
1.9.2.2	Captura Híbrida - CH	33
1.9.2.3	Reações em Cadeia de Polimerase	33
1.9.2.4	Detecção do genoma viral – PGMY 09/11	35
1.9.2.5	Genotipagem do HPV	36
1.9.2.5.1	Inno-Lipa HPV Genotipagem Extra (Imuno-genética)	36
1.9.2.5.2	Paillocheck® HPV Teste de triagem (Greiner Bio-One)	36
1.9.2.5.3	Clart® Papilomavírus Humano 2 (Genomica, Madrid, Espanha)Ensaio	36
1.9.2.5.4	Infiniti Genotipagem HPV (AutoGenomics Inc, Califórnia, EUA)	37
1.9.2.5.5	Linear Array HPV Genotipagem Test (Roche Molecular Systems)	37

1.10	Vacinas	39
1.11	Histórico dos Quilombos do Maranhão	42
2	JUSTIFICATIVA	45
3	OBJETIVOS	46
3.1	Objetivo geral	46
3.2	Objetivos específicos	46
4	METODOLOGIA: NATUREZA, LOCAL DO ESTUDO E POPULAÇÃO	47
4.1	Desenho do estudo e tamanho amostral	47
4.2	Critério de inclusão	47
4.3	Critério de exclusão	48
4.4	Coleta de dados	48
4.5	Exame citopatológico	48
4.6	Detecção do HPV	49
4.6.1	Extração do DNA	49
4.6.2	Amplificação do DNA Genômico Humano	50
4.6.3	Amplificação do DNA e Genotipagem do HPV	50
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
6	RESULTADOS	53
	ARTIGO 1	68
	ARTIGO 2	86
7	DISCUSSÃO	101
8	CONCLUSÕES	105
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106
10	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO	128
11	APÊNDICE B – FICHA PROTOCOLO	130
12	ANEXO A – REQUISIÇÃO DO EXAME CITOPATOLÓGICO	134
13	ANEXO B – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	136

TABELAS

Tabela 1 – Características sociodemográficas de 353 mulheres quilombolas do Maranhão - Brasil	53
Tabela 2 – Características comportamentais de 353 mulheres quilombolas do Maranhão – Brasil	55
Tabela 3 – Prevalência de HPV nas amostras com anormalidades citológicas	58
Tabela 4 – Distribuição dos genótipos do HPV nos resultados citológicos de mulheres quilombolas do Maranhão - Brasil	61
Tabela 5 – Prevalência de HPV nos diferentes resultados citológicos de acordo com a faixa etária na população estudada.	63
Tabela 6 – Análise univariada de fatores preditores associados à infecção pelo HPV em mulheres quilombolas do Maranhão.	65
Tabela 7 – Associação de fatores comportamentais com anormalidades citológicas independentes de HPV	67

FIGURAS – LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Árvore filogenética do Papilomavírus humano	19
Quadro 1 –	Classificação filogenética das espécies de HPV do gênero Alphapapillomavírus	20
Figura 2 –	Representação esquemática do genoma do HPV 16	25
Figura 3 –	Expressão gênica viral no ciclo da infecção produtiva do HPV segundo Doorbar	26
Figura 4 –	Padrão de expressão gênica viral do HPV de acordo com o grau de NIC	27
Figura 5 –	Expressão de proteínas do HPV e replicação viral em epitélio estratificado com lesão	28
Quadro 2 –	Sequência de primers PGMY 09/11	35
Figura 6 –	Teste de Hibridização com sondas	39
Figura 7 –	Mapa das áreas quilombolas do Estado	45
Fluxogr.1 -	Fluxograma das amostras coletadas	48
Quadro 3–	Protocolo de PCR para amplificação do gene GAPDH	50
Figura 8 –	Representação esquemática das principais etapas envolvidas na genotipagem do HPV	51
Figura 9 –	Distribuição citológica das 353 amostras de mulheres	56
Figura 10–	Distribuição das anormalidades citológicas 25/353	57
Figura 11 –	Prevalência total do vírus HPV nas 353 amostras	57
Figura 12–	Distribuição dos tipos de HPV	59

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ASC-US	Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado (<i>Atypical Squamous Cells of Undetermined Significante</i>)
ASC-H	Células Escamosas Atípicas não Podendo Excluir Lesão de Alto Grau (<i>Atypical Squamous Cell Cannot Exclude High Grade Squamous Intraepithelial Lesion</i>)
CH2	Captura Híbrida 2
CNCC	Campanha Nacional Contra o Câncer
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FAMEM	Federação dos Municípios do Estado do Maranhão
GP5 +/GP6+	Oligonucleotídeos iniciadores para detecção do genoma do HPV
HPV	Papillomavírus humano
HSIL	Lesão Escamosa Intraepitelial de Alto Grau
hTERT	Sub-unidade Catalítica de Enzima Telomerase
LSIL	Lesão Escamosa Intraepitelial de Baixo Grau
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
MY09/MY11	Oligonucleotídeos iniciadores
NIC	Neoplasia Intraepitelial Cervical
pb	Pares de bases
PCR	Reação de Cadeia da Polimerase
PGMY09/PGMY11	Oligonucleotídeos iniciadores
PRb	Proteína do retinoblastoma
p53	Proteína 53
PNCCCU	Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo Uterino
FAPEMA	Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão.

RESUMO

Introdução: A infecção do trato genital pelo Papilomavírus humano (HPV) é considerada a infecção sexualmente transmissível (IST) mais comum em diversos países. A prevalência dos genótipos do HPV em mulheres com ou sem anormalidades citológicas pode variar de acordo com a população e a região estudada. **Objetivos:** Detectar e identificar os tipos específicos de HPV e relacionar com características sociodemográficas/comportamentais e anormalidades citológicas presentes em esfregaços cervicais de mulheres quilombolas do Maranhão. **Metodologia:** Este estudo de corte transversal incluiu 353 mulheres quilombolas usuárias do Sistema Único de Saúde dos municípios do Maranhão para rastreamento do câncer do colo uterino. As amostras foram analisadas quanto à presença de anormalidades citológicas pelo método convencional e testadas para 37 genótipos de HPV por reação em cadeia da polimerase (PCR) com os iniciadores PGMY09/11, seguida de hibridização reversa em linhas através do Kit *Linear Array HPV Genotyping Test* (Roche Molecular System)®. A associação dos tipos de HPV e o diagnóstico citológico foi investigada de acordo com as diferentes faixas etárias. **Resultados:** A infecção pelo HPV foi detectada em 13% (46/353) das mulheres incluídas. Infecções por tipos de HPV de alto risco foram mais frequentes (78,3%; 36/46) do que por HPV de baixo risco (21,7%; 10/46). Os genótipos 68 (24,2% - 11/46); 58 (19,8% - 9/46); 52 e 31 (10,8% - 5/46 cada) e 62 (8,8% - 4/46) foram os mais prevalentes. Apenas 6,6% (3/46) dos casos foram positivos para o HPV 61. Os genótipos 73, 70, 54, 53, 45, IS39 e 18 representaram individualmente 4,4% (2/46) do total de casos. Os genótipos CP6-108, 84, 72, 71, 66, 59, 56, 55, 51, 39, 33, e 16 representaram individualmente 2,2% (1/46) do total de casos. Em mulheres que não apresentaram anormalidades citológicas, infecções virais, tanto simples quanto múltiplas, foram detectadas em 10,7%(35/328) dos casos. Considerando mulheres com diagnóstico de anormalidade citológica, a prevalência de infecção por HPV foi de 24,0% (11/46), sendo maior nos casos de lesão intraepitelial escamosa de alto grau (*high grade squamous intraepithelial lesion*)-HSIL-75,0%), seguida por mulheres com diagnóstico de células escamosas atípicas não podendo excluir alto grau (Atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesions) ASC-H- 50%), com lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (*low grade squamous intraepithelial lesion*) LSIL- 33,4%) e com diagnóstico de células escamosas atípicas de significado indeterminado (atypical squamous cells of undetermined significance ASC-US (14,3%). Houve uma associação estatisticamente significativa entre a infecção por HPV e a detecção de anormalidades citológicas nas faixas etárias de 31 a 40 anos (OR = 7,40; 95% CI:1,07–51,19, p=0,03) e 51 a 60 anos (OR=20,4, 95%CI: 1,12-704,69; p = 0,03). Nenhuma das variáveis comportamentais analisadas mostrou associação significativa com a infecção por HPV, contudo a presença desta infecção foi positivamente associada à detecção de anormalidades citológicas (OR=6,57; IC:2,772-15.606), p=0,001. **Conclusão:** É possível que os resultados deste estudo se devam às características da população estudada: isolada geograficamente, com hábitos conservadores e relações sexuais apenas entre membros do quilombo. Este estudo em mulheres quilombolas permitiu delinear a epidemiologia desta infecção por HPV em populações residentes no Maranhão.

Palavras-chave: Papilomavírus humano, citologia, PCR, diagnóstico, prevalência.

ABSTRACT

Introduction: Genital infection by human papillomavirus (HPV) is considered the most common sexually transmitted infection in several countries. The prevalence of HPV genotypes in women with or without cytological abnormalities may vary according to the studied population and the region. **Objective:** To detect and identify specific HPV types correlating with sociodemographic/behavioral characteristics and cytological abnormalities present in cervical smears of Maroon women. **Methods:** This cross-sectional study included 353 maroon women users of the unified health System of the municipalities of Maranhão for screening of cervical cancer. The samples were analyzed for the presence of cytological abnormalities by conventional methods and tested for 37 HPV genotypes by polymerase chain reaction (PCR) with primers PGMY09/11 followed by reverse line blot hybridization performed with the *Linear Array HPV Genotyping Test* kit by Roche Molecular System®. The association of HPV types and cytological diagnosis was investigated according to the different age groups. **Results:** HPV infection was detected in 13% (46/353) of the cases. Infection types with high-risk HPV were more frequent (78,3 %, 36/46) than for low-risk HPV (21,7 %, 10/46). Genotypes 68 (24,2 % - 11 /46), 58 (19,8% - 9/46), 52 and 31 (10,8% - 5/46 each), and 62 (8,8% 4/46) were the most prevalent. Only 6,6% (3/46) of the cases were positive for HPV 61. The genotypes 73, 70, 54, 53, 45, IS39 and 18, individually represented 4,4% (2/46) of all cases. The CP6 -108, 84, 72, 71, 66, 59, 56, 55, 51, 39, 33 and 16 genotypes individually represented 2,2% (1/46) of the cases. In women without cytological abnormalities, viral infections, both simple and multiple, were detected in 10,7%(35/328) of the cases. For those diagnosed with an abnormality, the prevalence of HPV infection was 24,0% (1 /46), being higher in *high grade squamous intraepithelial lesion* (HSIL-75,0 %), followed by atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesions (ASC-H, 50%), low grade squamous intraepithelial lesions (LSIL-33,4 %) and atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US, 14,3%). The analysis showed a statistically significant association between HPV infection and the detection of cytologic abnormalities in the age groups between 31-40 years (OR = 7.40, 95 % CI :1.07 -51 ,19 , p = 0.03) and 51 to 60 years (OR = 20.4 , 95 % CI : 1.12 to 704.69, p = 0.03). None of the behavioral variables showed significant association with HPV infection, however the presence of this infection was positively associated with detection of cytologic abnormalities (OR=6,57: IC:2,772-15,606), p=0,001. **Conclusion:** It is possible that the results of this study are due to characteristics of the study population, geographically isolated, with conservative habits and sexual intercourse only between members of the Quilombo. This study with Maroon women allowed us to delineate the epidemiology of this HPV infection in populations living in Maranhão.

Keywords: Human papillomavirus, cytology, PCR, diagnosis, prevalence.

1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Epidemiologia do câncer do colo do útero

O câncer de colo do útero é a segunda causa mais comum de morte por neoplasia, depois do câncer de mama, reconhecido como um problema de saúde pública em especial nos países menos desenvolvidos, nos quais ocorrem 80% dos casos (SNIJDERS et al., 2006) . A cada ano ocorrem cerca de 500.000 casos novos, resultando a morte anualmente cerca de 230.000 mulheres devido ao câncer do colo de útero, as taxas de incidência e mortalidade desta neoplasia não são uniformes, os maiores percentuais ocorrem em países em desenvolvimento (DERCHAIN; ZEFERINO, 2006). Segundo estimativa da *International Agency for Research on Cancer* (IARC), 552.710 novos casos de câncer cervical e 288.234 mortes atribuídas a este tipo de câncer ocorreram em 2010 (FERLAY et al., 2010).

O Câncer do colo do útero é uma causa evitável de morte entre as mulheres com estimativa de 528.000 novos casos em 2012. A incidência é de 15,8/100.000 mulheres no mundo. É considerado o quarto tipo de câncer mais comum entre as mulheres em todo o mundo, superado pelo câncer de mama, colo-retal e pulmão, sendo mais notável nos países de recursos mais baixos como a África sub-saariana. Em 2012 foram notificadas 266.000 mortes em mulheres no mundo, representando 7,5% de todas as mortes por câncer do sexo feminino. (FERLAY et al ., 2012, GLOBOCAN, 2012).

Regiões de alto risco, incluem a África Oriental 42,7/100.000, Melanésia 33,3/100.000, Sul 31,5/100.000 e África Central 30,6/100.000. As taxas são mais baixas na Austrália / Nova Zelândia 5,5/100.000 e Ásia Ocidental 4,4/100.000 e câncer do colo do útero continua a ser o câncer mais comum em mulheres na África Oriental e no Oriente.

Quase nove em cada dez (87%) mortes por câncer do colo do útero ocorrem em regiões menos desenvolvidas. A mortalidade varia de 18 vezes entre as diferentes regiões do mundo, com taxas variando de menos de 2/100.000 na Ásia Ocidental, Europa Ocidental e Austrália / Nova Zelândia a mais de 20/100.000, na Melanésia 20,6/100.000, Oriente 22,2/100.000 e leste da África 27,6/100.000 (GLOBOCAN, 2012; IARC, 2012).

A Índia, o segundo país mais populoso do mundo, é responsável por 27% (77.100) do total de morte por câncer cervical. Em todo o mundo, as maiores taxas de incidência estão na África Oriental, África Ocidental e África Austral, bem como África do Sul, Sul-Ásia

Central e América do Sul. As taxas são menores na Ásia Ocidental, Austrália / Nova Zelândia, e na América do Norte (GLOBOCAN, 2012; IARC, 2012).

O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou que no Brasil, para o ano 2014, ocorreriam 15.590 casos novos de câncer do colo do útero, com uma taxa bruta de 15,33 por 100.000 mulheres, ocupando o terceiro lugar geral no País. Excluindo-se os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo útero é o mais incidente na região Norte (23,57 casos/100.000). É o segundo tipo de câncer mais frequente nas regiões Nordeste (18,79 casos/100 mil) e Centro Oeste (22,19 casos/100 mil). Na região Sudeste (10,15 casos/100 mil) é o quarto, e na região Sul (15,87 casos/100mil), o quinto mais incidente. (INCA, 2014).

No Maranhão, segundo estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA) em 2012, foram registrados 780 novos casos, com taxa bruta de 23,60, sendo que na capital São Luís, foram detectados 210 casos, com uma taxa bruta de 37,87 por 100 mil mulheres. Segundo o (INCA) em 2014, a estimativa de casos para o Estado do Maranhão é de 880 com uma taxa bruta de 26,25, sendo que na capital São Luís são esperados 200 casos com uma taxa bruta de 36,70.

Em 1987, o primeiro estudo epidemiológico sobre HPV e câncer cervical foi publicado. A partir de então, vários estudos moleculares e epidemiológicos confirmam que a infecção cervical por certos tipos de HPVs é um evento precursor na gênese da neoplasia de colo uterino (DE VILLIERS et al., 1987). Este vírus está presente em mais de 99,7% dos casos de câncer do colo do útero e é considerado o agente sexualmente transmissível mais comum em vários países (HOORY et al., 2008; KANODIA et al., 2007; WALBOOMERS et al., 1999). A infecção pelo HPV geralmente é assintomática e, na maioria dos casos, é transitória, já que o sistema imunológico pode ser capaz de combater o processo infeccioso, resolvendo-o ou tornando-o inativo. Vários tipos do HPV são causadores de lesões genitais, manifestando-se, por exemplo, como condiloma acuminado. Algumas lesões genitais podem associar-se a infecção persistente e ao desenvolvimento de neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) e até evoluir para o câncer, ao longo de anos (PASSOS et al., 2008).

As (NIC) classificadas histologicamente com base na atípia progressiva das células epiteliais, são usualmente pequenas e frequentemente aparecem como focos de células atípicas que se misturam ao tecido normal, mas sem constituir uma massa tumoral bem definida (STEENBERGEN et al., 2005). São caracterizadas pela perda gradual de funções celulares básicas como divisão e diferenciação. As células anormais perdem gradualmente as funções de controle de crescimento normal, não se diferenciam adequadamente e, como consequência, há proliferação desordenada. Se a anormalidade progride, as células perdem

gradativamente a sua capacidade de diferenciação até que toda a espessura do epitélio seja composta por células indiferenciadas (CRUM et al., 1997; DEMAY, 1993).

Quando Richart descreveu a Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC), em 1967, para classificar as atipias celulares respeitando o limite do epitélio, pensava-se que a displasia, independente do grau de diferenciação, poderia evoluir para carcinoma *in situ* (CIS) e carcinoma invasor (KOSS et al., 2006; KUMAR et al., 2008). Acredita-se hoje, que há grande possibilidade do grupo das diferentes NIC regredirem espontaneamente ou permanecerem estáveis por tempo indeterminado e há pequena chance de progredir para câncer invasor. Sabe-se também que a lesão de baixo grau tem estimativa de 80% de regressão (KOSS et al., 2006; KUMAR et al., 2008).

Inicialmente, considerava-se a hipótese de que o carcinoma de células escamosas sempre evoluía de epitélio cervical infectado normal através de um processo de longa duração em que as NIC 1 evoluíam para NIC 2 e estas para NIC 3. No entanto, há evidências de que somente parte das NIC1 progridem para NIC 2 e NIC 3, pois a maioria das NIC 1 tem potencial para regredir. As NIC 2 e NIC 3 são denominadas lesões de alto grau e NIC 1 lesão de baixo grau (LAX, 2011). Um conceito alternativo que encontra apoio crescente é de que as lesões do tipo NIC 2 e NIC 3 podem ser rapidamente induzidas dentro de dois a três anos após a infecção por HPV, e leva entre 10 a 12 anos para desenvolver câncer invasivo. A maioria das lesões NIC 1 e algumas NIC 2 não podem ser consideradas como verdadeiras lesões precursoras do câncer cervical, mas sim o efeito citopático de uma infecção viral produtiva. Está caracterizado que as NIC1 correspondem a uma displasia leve, NIC 2 displasia moderada e NIC 3 displasia grave, o que em ordem crescente representa atipia no terço inferior e progressivamente nos dois terços do epitélio, HSIL representa a combinação de NIC 2 e NIC 3 (SNIJDERS et al., 2006).

O Sistema de Bethesda é uma terminologia utilizada para o relato dos resultados do exame citológico de forma a fornecer orientações claras para o manejo clínico e diminuir a confusão entre laboratórios e médicos gerada pela utilização de múltiplos sistemas e classificação. Segundo o Sistema de Bethesda revisado em 2001, os achados citológicos podem ser interpretados de acordo com o grau e a natureza das alterações morfológicas observadas no esfregaço (SOLOMON; NAYAR, 2004). A observação das alterações celulares típicas como coilocitose, mudança na forma e no tamanho nuclear, contorno irregular da membrana nuclear, halos perinucleares, distribuição da cromatina e o efeito citopático são compatíveis com a infecção pelo HPV (WRIGHT et al., 2006).

O Sistema de Bethesda adotou o termo lesão intraepitelial escamosa (SIL) para indicar neoplasias cervicais restritas ao epitélio, à época denominadas neoplasias intraepiteliais cervicais. Essas lesões são divididas em lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (*low grade squamous intraepithelial lesion*) e lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (*high grade squamous intraepithelial lesion*)- (SOLOMON; NAYAR, 2004). O diagnóstico de (*low grade squamous intraepithelial lesion*) LSIL, inclui os diagnósticos de NIC 1 e o diagnóstico citopatológico de (*high grade squamous intraepithelial lesion*) HSIL, do sistema de Bethesda, corresponde a NIC 2 e NIC 3 (D'OTTAVIANO et al., 2004; SOLOMON, 1994). A junção entre NIC 2 e NIC 3 na categoria (*high grade squamous intraepithelial lesion*)- foi questionada, já que uma lesão do tipo NIC 2 sem tratamento se aproxima mais da NIC 1 que da NIC 3, porém a distinção de NIC 2 e NIC 3 é pouco reprodutível (SOLOMON; NAYAR, 2004). A lesão intraepitelial de alto grau é precursora direta do câncer invasivo, consequentemente, a melhor estratégia para atingir sucesso na redução da incidência e da taxa de mortalidade é a detecção precoce e o tratamento desta lesão (DERCHAIN; ZEFERINO, 2006).

O exame citopatológico ou Papanicolaou é um exame de triagem que auxilia na detecção precoce do câncer e de lesões pré-cancerosas da cérvix, apresenta alta sensibilidade, mas baixa especificidade. Porém, o estudo citológico do esfregaço cervical é considerado o método de melhor custo-efetividade para a detecção de lesões precursoras. O estudo da lâmina citopatológica permite a identificação de um conjunto de alterações celulares classificadas de acordo com a presença e o grau das atipias, por isso, este exame é o teste de escolha para programas de rastreamento de câncer do colo uterino (BUENO, 2008; GUIMARÃES et. Al., 2007).

Estudos transversais mais recentes realizados em países em desenvolvimento relataram sensibilidade do exame citológico de Papanicolaou, variando de 44 a 78% e uma especificidade de 91 a 99% (ALBERT et al., 2012; CRONJÉ et al., 2003; DENNY et al., 2002; WRIGHT et al., 2000). Um estudo sistemático relatou uma sensibilidade e especificidade, respectivamente, de 30% a 87% e 86% a 100% (DERCHAIN; ZEFERINO, 2006).

As verrugas cutâneas e genitais, causadas pelo HPV eram bem conhecidas dos antigos gregos e romanos, sendo as últimas associadas à promiscuidade sexual e vistas como potencialmente infecciosas (BAFVERSTEDT, 1967). A primeira evidência da etiologia viral foi reportada na Itália no início do século XX. Foi usado um filtrado de células de uma verruga comum para transferir a infecção (CIUFFO, 1907). No entanto, a demonstração da

presença da partícula viral, por microscopia eletrônica, ocorreu apenas em 1949 (STRAUSS et al., 1949).

Em 1965, foram feitos os primeiros relatos caracterizando o genoma do HPV constituído por DNA circular de fita dupla. (CRAWFORD,1965; FINCH,1965). Na década de 70, foram iniciados os experimentos que tentaram estabelecer uma relação entre a infecção pelo HPV e o câncer do colo do útero. Estes experimentos foram baseados em relatos da literatura médica que falavam sobre a rara conversão maligna de verrugas genitais em carcinoma de células escamosas (ZUR HAUSEN, 1977) resultando na hipótese de que o câncer cervical poderia surgir a partir de infecções com o vírus encontrado no *Condyloma acuminata* (ZUR HAUSEN et al., 1975; ZUR HAUSEN, 1976).

Na década seguinte, o grupo liderado pelo pesquisador Haral Zur Hausen demonstrou que sequências de DNA de HPV-6 ou HPV-11 eram encontradas na maioria dos casos de *Condyloma acuminata* gigante (tumores de Buschke-Löwenstein), sendo confirmado em dezembro do mesmo ano, por ZACHOW et al., 1982. Sequências de DNA relacionadas, mas não idênticas às encontradas no *Condyloma acuminata*, estavam aparentemente presentes nos carcinomas cervicais (GISSMAN et al., 1983). Posteriormente, essas sequências de DNA de carcinomas cervicais foram clonadas e caracterizadas como novos e distintos tipos de HPV: HPV-16 e HPV-18, sendo HPV 16 encontrado em lesões precursoras de câncer anogenital (BOSHAT et al., 1984; DÜRST et al., 1983).

Evidências moleculares e epidemiológicas indicam claramente que certos tipos de HPV são a principal causa de câncer cervical. Estudo realizado em 1739 mulheres detectou o DNA-HPV em 99,7% dos cânceres cervicais e a Organização Mundial de Saúde já reconhece este vírus como agente etiológico de câncer de cérvix uterina (MUNOZ et al., 2003; WALBOOMERES et al., 1999).

A ocorrência de exames citopatológicos falso-negativos e insatisfatórios incentivou o desenvolvimento de novas tecnologias visando à melhora da qualidade e, conseqüentemente, da sensibilidade do teste. O teste de detecção de DNA-HPV oncogênico comprovadamente apresenta maior sensibilidade e menor especificidade do que a citologia, por isso, sua utilização para o rastreio está sendo proposta nos países desenvolvidos, com triagem citológica dos casos positivos, priorizando mulheres com 35 anos ou mais (CUZICK et al., 2008). Os resultados sobre especificidade e taxa de falso positivo indicam que um DNA-HPV sozinho, não deve ser utilizado como critério para indicação de colposcopia em qualquer faixa etária dentro de um programa de rastreio regular. O teste de DNA do HPV com citologia de

triagem diminui o número de resultados de triagem falso-positiva em comparação com o uso de um teste de DNA-HPV sozinho (LEINONEN et al, 2009).

Entretanto, é importante destacar que a redução de mortalidade por câncer do colo do útero, ocorrida até o presente momento em países desenvolvidos, é resultado da realização periódica do exame citopatológico, pois o teste de HPV-DNA ainda não é usado sistematicamente como método de rastreamento. O teste rápido de detecção de DNA-HPV oncogênico, que se encontra em fase de pré-qualificação, ainda indisponível comercialmente, poderia vir a ser uma opção interessante, pois apresenta baixa complexidade tecnológica e poderá ser realizado por equipe de generalistas sem especialização laboratorial, após treinamento básico (GRAVITT et al, 2008; QIAO et al, 2008). O emprego desse teste seria viável em regiões remotas, sem acesso regular à assistência, aplicado por equipes de Saúde da Família.

1.2. Biologia do HPV (*Papillomavírus humano*)

O HPV é um vírus pequeno, de simetria icosaédrica, isto é, apresenta 20 facetas, 52-55 nm de diâmetro, sendo uma molécula de DNA fita dupla circular, com aproximadamente 8000 pares de bases (pb), envolvido pelo capsídeo, composto por 72 capsômeros, e não possui envelope, característica essa que o torna estável e resistente aos solventes orgânicos e ao aquecimento. Este vírus permanece viável por pelo menos uma semana em meio extracelular (KNIPE; HOWLEY, 2007).

1.3. Taxionomia do HPV

Segundo o *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV), os papilomavírus (PVs) pertencem à família *Papillomaviridae*. Sua classificação é baseada em análises filogenéticas da região genômica L1, que é a mais conservada e, por esse motivo, utilizada para a classificação. Os HPVs são classificados em gênero, espécie e tipo. Gêneros diferentes compartilham menos de 60% de identidade das sequências nucleotídicas de L1, enquanto o genoma completo apresenta mais de 23% e menos de 43% de identidade. Espécies de um mesmo gênero compartilham de 60% a 70% de identidade das sequências nucleotídicas. Enquanto tipos pertencentes a uma mesma espécie compartilham 71% a 89% de identidade das sequências nucleotídicas de L1. Um isolado viral é classificado como um novo genótipo se a sequência de L1 diferir mais de 10% de qualquer outro genótipo

conhecido de HPV; se diferir entre 2% e 10% é definido como subtipo e menos de 2% como variante (BERNARD et al., 2010; DE VILLIERS et al., 2004).

Os HPVs estão divididos em 17 gêneros e 44 espécies (Figura 1). Os HPVs estão distribuídos em cinco desses gêneros: *Alphapapillomavírus*, *Betapapillomavírus*, *Gammapapillomavírus*, *Umu-papillomavírus* e *Nu-papillomavírus* e 28 espécies (DE VILLIERS et al., 2004).

Os vírus que pertencem a uma mesma espécie geralmente compartilham propriedades biológicas e patológicas. Por exemplo, os HPVs que pertencem à espécie nove do gênero *Alpha-papillomavirus* (HPV-16, 31, 33, 35, 52, 58 e 67) são considerados de alto risco oncogênico, podendo causar lesões malignas em mucosa (DE VILLIERES et al., 2004). A denominação das espécies difere dos termos adotados pelo “Comitê Internacional de Taxionomia dos Virus” (ICTV). Na classificação reconhecida por este comitê, os grupos alfa-9 e alfa-7, por exemplo, correspondem às espécies *Human papillomavirus 16* e *Human papillomavirus 18*, respectivamente (BERNARD et al., 2010; DE VILLIERS et al., 2004;).

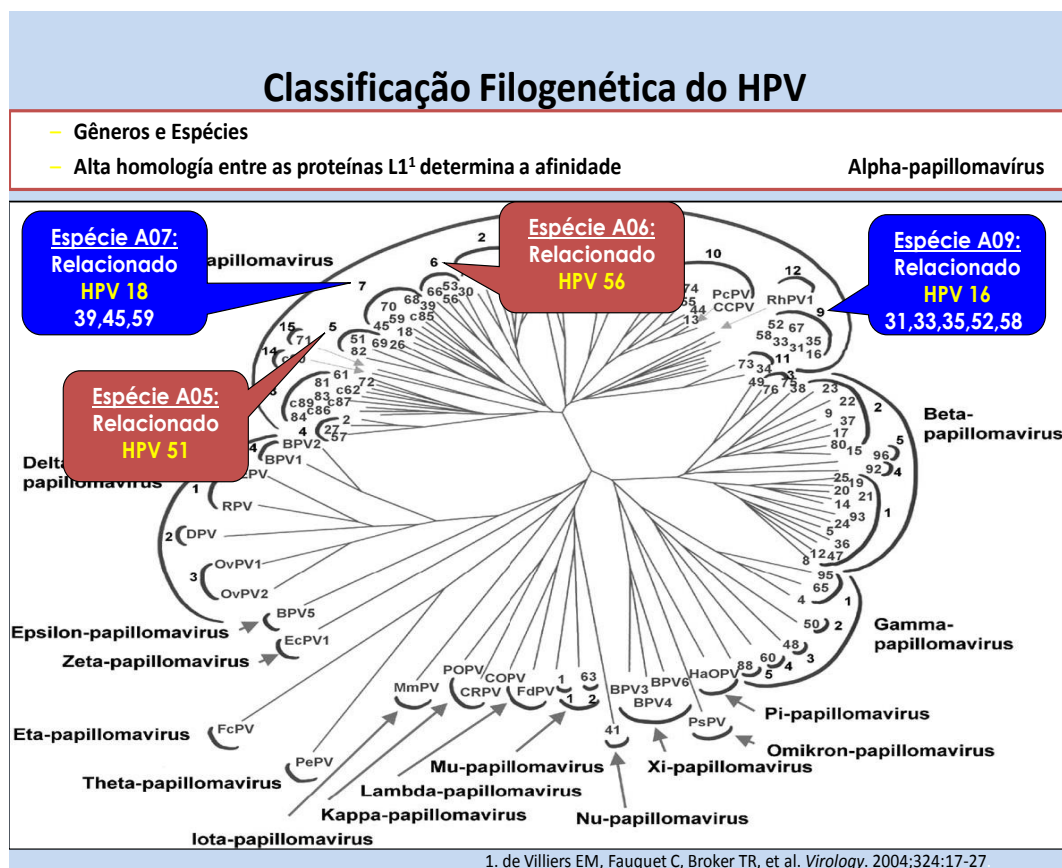


Figura 1– Árvore filogenética contendo os tipos de Papilomavírus distribuídos entre as espécies pertencentes ao gênero *Alphapapillomavirus*. O semicírculo externo representa o gênero e o semicírculo interno refere-se à espécie do Papilomavírus. Fonte: Adaptado de Bernard et al. (2010).

Mais de 200 tipos de HPV foram caracterizados baseados na similaridade das sequências genéticas virais. Desses, cerca de 40 infectam a região anogenital (GARCIA., 2009).

Os HPVs envolvidos em infecções da região anogenital podem ser classificados de acordo com a sua capacidade de gerar neoplasias malignas (Quadro 1), em HPVs de baixo risco oncogênico (HPV 6, 11, 40, 42,43, 44, 55) e de alto risco oncogênico (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68). Os tipos de HPV 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82 são classificados como genótipos de provável alto risco (BERNARD et al., 2010).

Em 2009, a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), classificou 12 tipos de HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59) que infectam a mucosa anogenital como carcinogênicos para seres humanos pela associação destes com o câncer cervical. Esses doze tipos compõem o mesmo grupo de alto risco, que inclui tipos das espécies *Alphapapillomavirus* 5, 7, 9 e 11. Outros 11 tipos pertencentes ao mesmo grupo foram classificados como possivelmente carcinogênicos baseado nas relações filogenéticas com os doze primeiros, com exceção do HPV 68, o qual foi classificado como provavelmente carcinogênico (IARC, 2012; SCHIFFMAN et al., 2009).

Quadro 1– Classificação filogenética das espécies de HPV do gênero *Alphapapillomavírus*.

Gênero: <i>Alphapapillomavírus</i>	Espécie	Tipos de HPV
Alto risco oncogênico	Alpha 11	34,73
	Alpha 9	16, 31, 33, 35, 52, 58, 67
	Alpha 7	18, 56, 66, 39, 45, 59, 68,70
	Alpha 5	26, 51, 69, 82
Baixo risco oncogênico	Alpha 1	32, 42
	Alpha 2	10, 3, 28, 29, 78, 94
	Alpha 3	61, 72, 81, 83, 84, candHPV 62, candHPV 86, candHPV 87, candHPV89
	Alpha 4	2, 27, 57
	Alpha 6	53, 69, 82, 30
	Alpha 8	7, 40, 43, 91
	Alpha 10	6, 11, 13, 44, 74
	Alpha 12	Rh PV1
	Alpha 13	54
	Alpha 14	71
	Alpha 15	*CandHPV90
Lesões genitais em macacos	Alpha 12	RhPV1

Fonte: DE VILLIERS et al. (2004) modificado.

*Cand: candidato a tipo

Espécie reagrupadas (Alpha 14) segundo a nova classificação proposta por Bernard et al. 2010

1.4. Epidemiologia da infecção por HPV

A infecção pelo HPV é a doença sexualmente transmissível predominante em mulheres de vida sexual ativa, com uma prevalência de 20%. Este vírus é conhecido por ser responsável por produzir lesões conhecidas como “verrugas genitais”, mas nos últimos anos ganhou foco por estudos que demonstraram em pesquisa, que os HPVs 16 e 18 estão intimamente relacionado com o desenvolvimento do câncer de colo uterino (DE VILLIERS et

al., 1987). Acredita-se que a grande maioria das mulheres sexualmente ativas tenha uma ou mais infecções por HPV durante toda a vida, entretanto, a maioria dessas infecções ocorre de forma transitória e evolui para resolução espontânea (BOSCH et al., 2008; DERCHAIN; ZEFERINO, 2006; MOSCICKI, 2008; WOODMAN et al., 2007)

O HPV atinge cerca de 25% das mulheres nos primeiros 10 anos de atividade sexual e o risco de aquisição durante toda a vida é de 80%. O pico de prevalência da infecção pelo HPV geralmente ocorre em mulheres com idade inferior a 25 anos (DE SANJOSÉ et al., 2007). Nos países desenvolvidos tais como os países da Europa e os Estados Unidos, o que se observa é um declínio dessa curva com o aumento da idade. Entretanto, em algumas partes do mundo, particularmente em países da América Latina, essa curva apresenta uma forma em “U”, evidenciando um segundo aumento da prevalência do HPV em mulheres com idade acima dos 45 anos (BOSCH et al., 2008; DE SANJOSÉ et al., 2007; FRANCESCHI et al., 2006; FERNANDES et al., 2009). Estudo realizado na Costa Rica em mulheres jovens explica que o elevado número de novos casos da infecção pelo HPV justifica a alta prevalência nessa faixa etária, enquanto que a persistência viral é o fator que melhor explica a prevalência da infecção pelo HPV em mulheres com idade mais elevada (HERRERO et al., 2005).

1.5. Prevalência de tipos específicos de HPV em mulheres sem lesões cervicais

DE SANJOSÉ *et al.*, (2007) em uma meta-análise, avaliaram a distribuição dos diversos tipos de HPV em mulheres com citologia normal em 78 estudos, que incluíam 157.879 mulheres randomicamente selecionadas da população de 15 regiões do mundo. A prevalência geral de HPV foi de 10,4%, variando de 22,1% na África a 8,0% na Ásia. Os cinco tipos de HPV mais comuns em mulheres HPV-positivas foram HPV16, seguido pelos 18, 31, 58 e 52, representando 50% de todas as infecções por HPV. Embora os HPV tipos 16 e 18 tenham sido os mais prevalentes, a distribuição dos outros tipos varia conforme a região geográfica. No Japão, Taiwan e leste da África o HPV52 foi o mais comum. O HPV18 foi o mais frequente em todas as regiões, exceto no sul da Europa, e o HPV53 estava entre os cinco tipos de HPV mais comuns nas mulheres do leste da África, América do Norte e Central.

Em um estudo realizado no Brasil envolvendo citologia normal em 975 mulheres da Região Sudeste com idades entre 15 a 70 anos, a prevalência global na associação dos métodos moleculares a infecção pelo HPV foi de 27%. Nesse mesmo estudo, mulheres jovens, com idade igual ou inferior a 24 anos, mostraram uma positividade de 27,9% para infecção pelo HPV (NONNENMACHER et al., 2002).

Os resultados de outro estudo também realizado no Brasil, em 2008, mostraram que a prevalência de infecções por tipos de HPV de alto risco oncogênico foi de 27,1% considerando mulheres com idade menor ou igual a 25 anos (RAMA et al., 2008).

Em Goiânia, Goiás, um estudo envolvendo adolescentes sexualmente ativas de 15 a 19 anos da região noroeste mostrou uma prevalência da infecção pelo HPV de 21,9% (80/365) nos casos de citologia normal e uma prevalência global incluindo adolescentes com anormalidades citológicas de 28,0%. Nesta população os HPV de alto risco foram os tipos mais frequentes, representando 88,4% dos casos positivos (ALVES, 2006).

1.6. Prevalência de tipos de HPV em mulheres com lesões cervicais

Um estudo mundial mostrou uma prevalência do DNA do HPV de 99,7% em amostras de câncer do colo do útero (WALBOOMERS et al., 1999). Dentre os tipos detectados, o HPV 16 foi o mais frequentemente detectado, com exceção da Indonésia onde o tipo 18 foi o mais prevalente. Resultados de vários outros estudos foram concordantes com esses dados, de modo que a prevalência dos demais tipos pode variar de acordo com a região e a população estudadas (CLIFFORD et al., 2006; RABELO-SANTOS et al., 2003, WHEELER et al., 2009).

Outro estudo multicêntrico, mais recente, confirma a predominância do HPV 16 no câncer do colo do útero, com uma taxa de positividade de 62% nos casos de carcinoma de células escamosas e de 50% em adenocarcinomas (DE SANJOSÉ et al., 2010). Os tipos 18 e 45 foram, respectivamente, o segundo e o terceiro tipos mais frequentemente detectados, sendo mais prevalentes em adenocarcinomas (32% e 12%, respectivamente) do que em carcinomas escamosos (8% e 5%, respectivamente). Juntos, os tipos 16, 18 e 45 somaram uma prevalência de quase 75% do total de casos de câncer do colo do útero. Outros tipos associados principalmente ao carcinoma de células escamosas foram os HPVs 33, 31, 52, 58, 35 e 39 (DE SANJOSÉ et al., 2010).

Na meta-análise realizada por SMITH et al., (2007), 70% dos casos de carcinoma cervical invasivo estavam associados com infecção pelo HPV 16 (55%) ou 18 (15%). Essa proporção de HPV 16/18 é geograficamente diferente, sendo maior na Europa, América do Norte e Oceania do que na África, Ásia e Américas do Sul e Central. Os outros tipos mais comuns eram HPV 31, 33, 35, 45, 52 e 58, que são os encontrados em todos os continentes. Por outro lado, nas lesões intraepiteliais de alto grau, a prevalência combinada do HPV 16/18 era de 52% (SMITH et al., 2006)

A prevalência de HPV em mulheres com anormalidades citológicas e /ou histológicas é de mais e 80% segundo a maioria dos estudos (GARGIULO et al. 2007; MONSONEGO et al. 2008; PITTA et al. 2009; RIBEIRO et al. 2011 e BARROS, et al. 2012).

CLIFFORD *et al.* (2005) fizeram um levantamento e incluíram 8.308 mulheres com alterações citológicas compatíveis com lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL) oriundas de 55 estudos, onde a prevalência total de HPV foi de 80% na América do Norte e menor que 70% em outras regiões, diferença essa atribuída aos critérios utilizados para o diagnóstico destas lesões. Entre as 5910 mulheres com lesões de baixo grau HPV-positivas, o HPV16 foi o tipo mais comum (26,3%), seguido pelo HPV31 (11,5%), HPV51 (10,6%), HPV53 (10,2%), HPV56 (9,5%), HPV52 (9,0%), HPV18 (8,6%), HPV66 (8,6%), HPV58 (8,4%), HPV6 (8,0%), HPV39 (7,6%), HPV33 (7,4%), HPV59 (6,1%), HPV35 (5,7%), e HPV45 (4,9%).

Os HPV tipos 16 e 18 estão associados a aproximadamente 35% dos casos positivos de lesão escamosa de baixo grau e 70% em cancer do colo do útero em todo o mundo (CLIFFORD *et al.* (2005). Os tipos de HPV envolvidos nas lesões de alto grau em ordem de prevalência são os HPV16, 18, 33, 45, 31, 58, 52, 35, 59, 56, 51, 39, 68, 73, 66 e 70 foram obtidos a partir do meta-análise. Os mais encontrados nas NIC de baixo grau são os HPVs 16, 31, 51, 53, 56, 52, 18, 66 e 58 (CLIFFORD et al., 2006). Como demonstrado, também em mulheres com anormalidades citológicas sugestivas de lesão intraepitelial de baixo grau (low grade squamous intraepithelial lesion - LSIL) e lesão intraepitelial de alto grau (high grade squamous intraepithelial lesion – HSIL) HPV 16 é o tipo mais frequentemente detectado, sendo que sua prevalência é maior quanto mais grave a lesão. Em meta-análise recente, a prevalência de tipos de HPV mais comuns em HSIL por região, o HPV-16 é o mais comum em todas as regiões, variou de 34% na Ásia para 52% na Europa. O HPV-18 foi o segundo tipo mais comum em todas as regiões, variando de 6% na Europa e 10% na América do Norte (CLIFFORD et al., 2006; GARGIULO et al., 2007; SMITH et al., 2007).

Um estudo de rastreamento de LSIL/ASC-US (ASC-US, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) mostrou uma positividade do HPV de aproximadamente 60%. Nesse estudo, os HPV 16 e 18 representam 24% e 8% das infecções, respectivamente. Em mulheres jovens (18-24 anos), o estudo mostrou uma maior proporção dos tipos 16 e 18 (35%) em relação à observada em mulheres com idade superior a 35 anos (19%) (CLIFFORD et al., 2006).

Em mulheres com anormalidades citológicas do Rio Grande do Norte, a infecção pelo HPV esteve presente em 62,5% em pacientes com displasia de baixo grau NIC1, 75,0% em displasia moderada NIC2 e 82,6% na displasia grave NIC3 de alto grau. O tipo mais prevalente foi o HPV 16, seguido do HPV 58 e 18 (FERNANDES et al., 2009).

No Brasil, o tipo 16 é também o mais prevalente nos casos de carcinoma invasor e NIC 3 diagnosticado histologicamente em todas as regiões representadas nos estudos de prevalência (RABELO-SANTOS et al., 2003).

O HPV 18 é o segundo mais frequente na Região Sudeste. Nas regiões Centro-Oeste e Nordeste, os tipos 33 e 58 ocupam o segundo lugar, respectivamente (BOSCH et al., 1995; ELUF-NETO et al., 1994, LORENZATO et al., 2000; NORONHA et al., 1999; RABELO-SANTOS et al., 2003). Os HPV tipos 16 e 18 estão associados a aproximadamente 25% dos casos de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau, 50% das de alto grau, 70% dos casos de carcinoma epidermoide e 90% dos adenocarcinomas de colo uterino e, ainda, 70% dos outros carcinomas genitais na mulher e 90% dos casos de carcinoma anal (MUÑOZ et al., 2005).

Um estudo realizado em Campinas, São Paulo, indicou uma prevalência total de HPV de 99%, incluindo 35,3% de infecções simples e 64,7% de infecções múltiplas em mulheres diagnosticadas com NIC 2 ou NIC 3 (PITTA et al., 2009). Os autores identificaram 37 tipos de HPV em 32 amostras, sendo que o 16 foi o genótipo mais prevalente (presente em 57,1% das amostras), ou como uma simples infecção ou juntamente com outros tipos de HPV. Outros genótipos frequentes em infecções múltiplas ou únicas foram HPV 58 (26/105, 24,7%); HPV 33 (16/105, 15,2%); HPV 52 (14/105, 13,3%); HPV 31 (11/105, 10,4%) e HPV 51 (8/105, 7,6%) (PITTA et al. 2009).

RIBEIRO et al., (2011) em Goiânia, Goiás demonstraram que do total de mulheres HPV positivas, 45% (77/171) estavam infectadas por HPV 16 em infecções simples e múltiplas. Os tipos de HPV 31 e 35 foram respectivamente, o segundo e o terceiro mais prevalentes. A prevalência do HPV 16 foi de 52% (40/76) nas neoplasias intraepiteliais cervicais de alto grau (NIC 2/3) e de 88,8% (8/9) nos casos de carcinomas invasivos. As prevalências dos tipos 31 e 35 em neoplasias intraepiteliais cervicais de alto grau (NIC 2/3) foram de 10,5% (8/76) e 6,6% (5/76), respectivamente.

Outro estudo realizado em Goiás por BARROS et al., (2012) mostrou uma prevalência de 86,3% em população semelhante. O tipo HPV 16 foi o mais prevalente em todos os diagnósticos, em infecções simples ou múltiplas (35,9%). A prevalência total de HPV 18, como uma infecção simples ou múltipla foi de 6,1% (8/131), constituindo o quarto

tipo mais predominante. O tipo 16 esteve presente em 51% das NIC 2 e NIC 3 e em 100% dos casos de carcinomas invasores (BARROS et al., 2012)

1.7. Genoma do HPV

O genoma circular do HPV (Figura 2) é constituído por nove regiões codificadoras divididas em três segmentos: uma região de expressão precoce, por ser a primeira a se expressar denomina-se *early* (E), compreendendo oito genes, E1 a E8, necessários à replicação viral e com propriedades de transformação oncogênica, sendo que E3 e E8 não têm função conhecida; uma região de expressão tardia, denominada *late* (L), que codifica duas proteínas estruturais, as proteínas L1 e L2 do capsídio viral (BURK et al., 2009; CONWAY; MEYERS, 2009; CHOW et al., 2010). A região não codificadora, regulatória conhecida como *Long Control Region* (LCR) contém a origem de replicação (ORF) e sítios de ligação para a maioria dos promotores de transcrição (BERNARD et al., 2010).

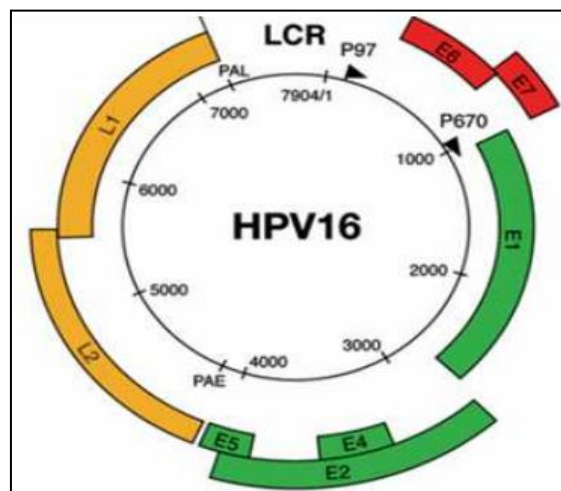


Figura 2 – Representação esquemática do genoma do HPV 16: região reguladora (LCR); região precoce (E); e região tardia (L). Adaptado de Ghittoni et al., (2010).

1.8. Patogênese e papel oncogênico do HPV

Os Papilomavírus humanos são inoculados através de microtraumatismos ou soluções de continuidade nos epitélios pavimentosos íntegros da pele ou mucosas do hospedeiro (BUCK et al., 2008). Os vírions perdem o seu invólucro proteico e o genoma viral

atinge o núcleo da célula, onde ele se estabelece de forma episomal. As células alvo para a infecção podem ser células próximas da junção escamocolumnar, tais com as células de reserva, que se encontram imediatamente por baixo do epitélio da endocérvice e que formam o epitélio estratificado e o epitélio glandular. (BOUVARD et al., 2012)

Segundo Doorbar (2004), o ciclo normal da infecção pelo HPV passa por cinco etapas consecutivas: infecção, manutenção do genoma, fase proliferativa, amplificação genômica e síntese de partículas virais (Figura 3).

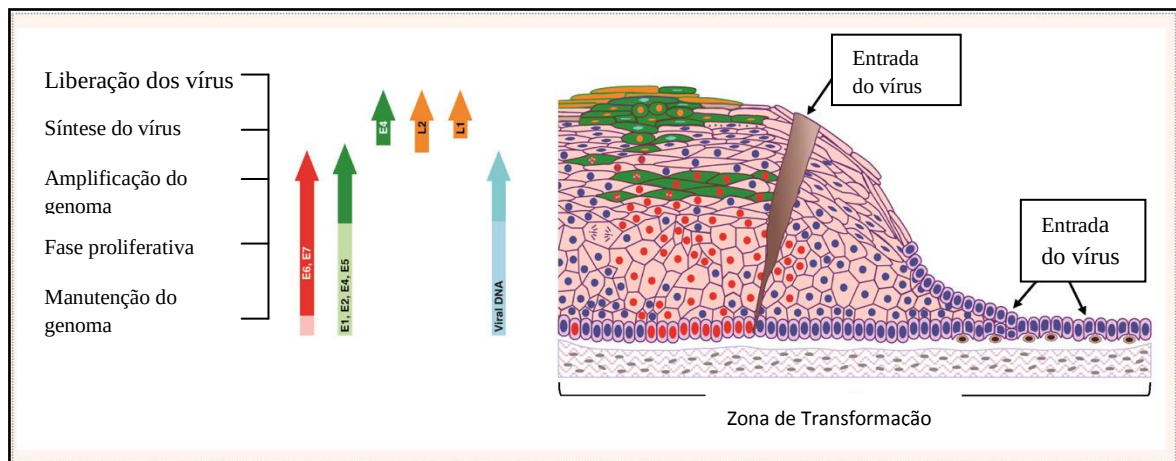


Figura 3 – Expressão gênica viral no ciclo da infecção produtiva do HPV segundo Doorbar.
Fonte: Adaptado Doorbar (2012).

Assim após a infecção, acredita-se que o vírus mantenha seu genoma com um baixo número de cópias sob a forma episomal nas células da camada proliferativa, principalmente em células de reserva presentes em áreas de metaplasia. Nesta fase, há um baixo nível de expressão dos genes E6, E7, E1 e E2, suficiente para a manutenção genômica do vírus.

Para a produção de partículas virais ocorre a amplificação do genoma do HPV, que é dependente da expressão dos genes E6 e E7. A montagem das partículas infecciosas ocorre nas camadas médias e superiores do epitélio cervical, para as quais há um aumento da expressão dos genes virais E1, E2, E4 e E5. Na fase final, os genes L1 e L2 codificam as proteínas virais do capsídeo viral e são expressas nos grupos de células com maior expressão do gene E4, importante na alteração da matriz intracelular, maturação e replicação do vírus (DOORBAR, 2005; SCHEURER et al., 2005). A função da proteína E4 ainda não foi bem determinada, mas ela está presente tanto na fase precoce quanto na fase tardia da infecção viral produtiva e, provavelmente por interagir com a citoqueratina, pode estar relacionada às alterações estruturais no citoplasma das células infectadas o que leva à formação dos

coilocitos - células atípicas com uma cavitação perinuclear no citoplasma que indica alterações citopáticas devidas a infecção pelo HPV (IARC, 2010; STOLER, 2003).

Esta organização da expressão viral no ciclo de uma infecção produtiva é semelhante para os diferentes tipos de HPV. O desenvolvimento de uma NIC e do câncer cervical está associado com a perda da regulação deste ciclo reprodutivo do HPV, evento que caracteriza os HPV oncogênicos (DOORBAR, 2006). Tal fato é caracterizado pelo aumento da fase de expressão dos genes E6 e E7 que se estende mais amplamente na espessura do epitélio, da profundidade para a superfície, com simultânea diminuição da expressão dos genes importantes nos estágios finais da infecção, fato que impossibilita que o ciclo produtivo se complete (Figura 4). É justamente esta perda da capacidade de completar o ciclo que diferencia a infecção viral produtiva presente nas lesões de baixo grau, de uma infecção viral transformante (DOORBAR, 2012).

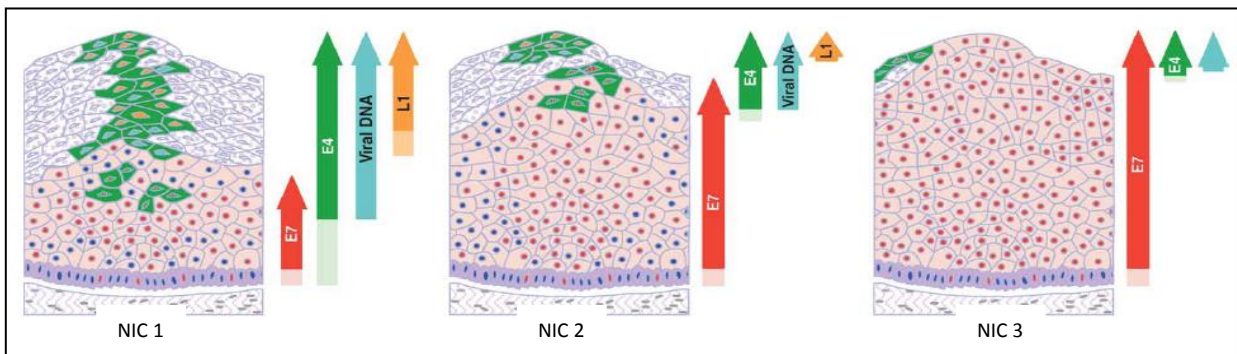
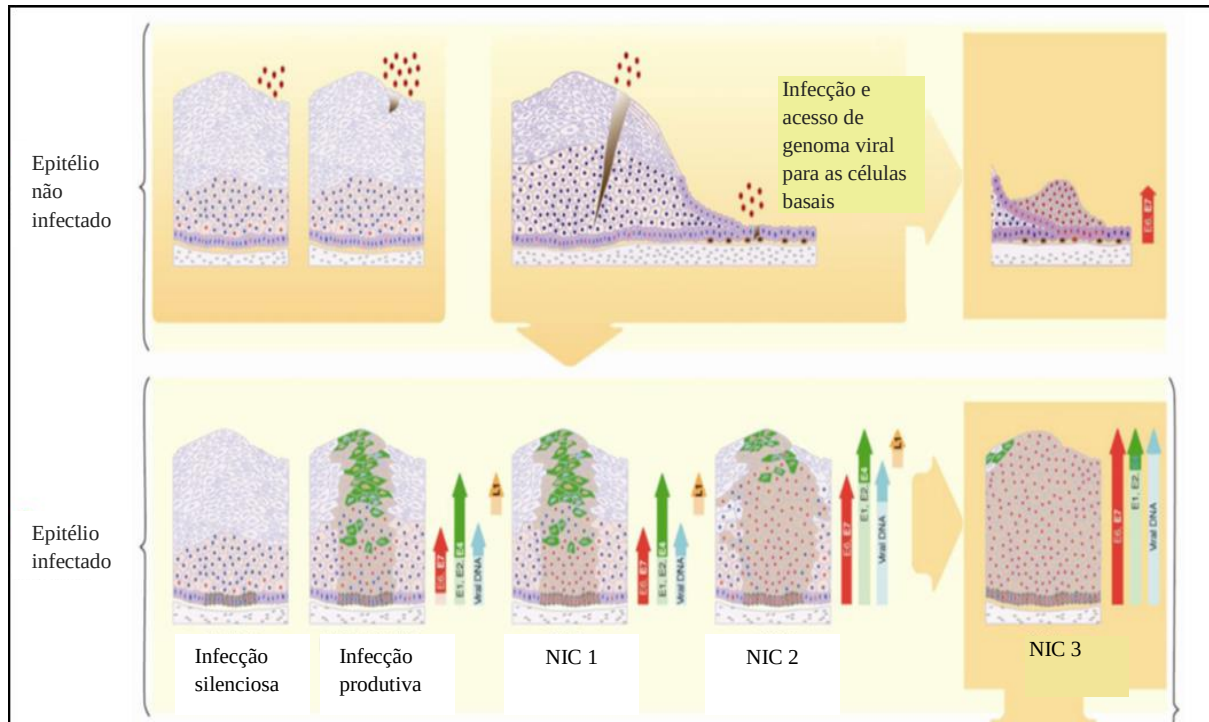


Figura 4 – Padrão de expressão gênica viral do HPV de acordo com o grau da NIC (Neoplasia Intraepitelial Cervical). Fonte: Adaptado DOORBAR et al., (2012)

A expressão de produtos de genes virais que leva à produção de partículas de vírus é interrompida em neoplasias associadas ao HPV. A expressão de E6 e E7 aumenta de acordo com a gravidade da lesão cervical. As lesões do tipo NIC 1 retêm a capacidade para completar o ciclo de vida do HPV e produzir partículas virais (MIDDLETON et al., 2003).

A elevação da expressão de E6 e E7 na infecção por HPV de alto risco, que leva à NIC 2 ou lesão mais severa pré-dispõe na célula um acúmulo de alterações genéticas que contribui para a progressão tumoral. De acordo com esta hipótese, os baixos níveis de E6 e E7 presentes em NIC 1 não comprometem as funções de seus alvos celulares o suficiente para facilitar a progressão do tumor. A desregulação viral vista em NIC 2 e NIC 3 é facilitada pela integração dos epissomas virais no cromossomo da célula hospedeira, a qual pode desregular a expressão dos genes E6 e E7, que são referidos como oncogenes virais (DOORBAR et al. 2012; PAAVONEN et al., 2009).

A Figura 5- mostra a progressão da infecção pelo HPV, passando pelas lesões precursoras até chegar ao carcinoma invasor, bem como o perfil de integração do genoma viral ao DNA da célula hospedeira durante este processo.



Os oncogenes virais E6 e E7 atuam em duas etapas distintas do ciclo celular: no controle da passagem da fase G1 para S e na regulação da entrada da célula em apoptose. O padrão aberrante de expressão de oncogenes virais E6 e E7 nas células proliferativas favorece que a proteína E7 induz a degradação da proteína pRB. A pRB tem papel fundamental na manutenção da célula em G1, exercendo sua função por formar complexos estáveis com o fator de transcrição E2F (E2F). O E2F, quando livre, ativa diversas quinases dependentes de ciclinas, desencadeando o processo de replicação do DNA. A inativação do pRB aumenta a proliferação celular do epitélio infectado, o que pode ser diretamente demonstrado através da detecção do antígeno nuclear associado à proliferação (Ki-67). A p16^{INK4}, uma CDKI que inibe a fosforilação da pRB, mantendo-a ativa e ligada ao E2F, que tem sua expressão controlada por feedback negativo exercido pelo pRB. A inativação da pRB pela proteína E7 do HPV resulta em um aumento da expressão de p16^{INK4} nas células infectadas. (SINGH, et al., 2010)

O HPV também interfere no controle do ciclo celular e apoptose através de produto de seu oncogene E6 e E7, o qual se liga ao produto do gene P53, ou proteína p53, degradando-a. Desta forma, a degradação de p53 induzida pelas oncoproteínas virais compromete a integridade do DNA replicado, causando instabilidade cromossomal, imortalização e

proliferação anormal das células transformadas, favorecendo o desenvolvimento do tumor (GANGULY, PARIHAR., 2009).

Atualmente são descritas novas funções para estas oncoproteínas. A proteína E6 promove a diminuição dos níveis de Notch1, gene humano que atua no controle do destino das células, mecanismo que tem sido apontado como necessário para sustentar a expressão da proteína E6 juntamente com a proteína E7 e para a transformação maligna em fases tardias da carcinogênese cervical. A baixa regulação de Notch1 pela proteína E6 parece levar a inibição da diferenciação e o crescimento celular anormal (CATTANI et al., 2009).

É provável ainda que as proteínas E6 e E7 causem a perda da integridade dos cromossomos em nível numérico através de múltiplas vias, que inclui a desregulação da expressão gênica e mitótica, embora os mecanismos moleculares subjacentes precisem ser definidos com mais detalhes (CATTANI et al., 2009).

Além de seu papel na desregulação do ciclo celular e do controle da apoptose descrito anteriormente, as proteínas E6 e E7 têm um importante papel na evasão do resposta imune. Hassan et al. (2008) demonstraram que as proteínas E6 e E7 podem interferir também na resposta imune inata contra o HPV, na medida em que inibem a expressão de um receptor transmembrana presente na superfície da mucosa envolvido no reconhecimento do vírus (*Toll-like receptor-9* TLR-9) (HASSAN; HO, 2008).

A ativação de tais receptores é uma etapa crítica no desencadeamento da defesa local. Os TLRs ativam os macrófagos teciduais e outras células do sistema imune a produzirem citocinas, mediadores capazes de coordenar a resposta imune ao desencadear outras etapas da resposta inflamatória. Já foi demonstrada a liberação de Interferon- γ (INF- γ) em resposta à infecção por vírus, provavelmente devido à estimulação do TLR-9. Esta citocina, por sua vez, estimula a resposta imune mediada por células e é responsável por diferentes atividades antivirais (MEDZHITOV, 2008).

1.9. Diagnóstico da infecção pelo HPV

1.9.1 Métodos não moleculares

1.9.1.1 Citopatologia

O exame citopatológico de colo do útero identifica alterações celulares benignas e malignas, sendo utilizado como teste de triagem. Testes citopatológicos são realizados a partir do exame do esfregaço cérvico-vaginal corado. Esse conceito de teste foi introduzido por

Papanicolaou e Babes na década de 20. Posteriormente, Papanicolaou aprimorou a técnica e demonstrou que a citologia convencional poderia ser usada para identificar lesões pré-cancerosas cervicais. Essa técnica permitiu que a citopatologia fosse utilizada para prevenir o desenvolvimento de câncer cervical ao invés de simplesmente detectar o câncer em estágio precoce (INCA, 2011). A coloração de Papanicolaou produz três cores básicas: azul (núcleo), verde (citoplasma) e vermelho (citoplasma). Após a coloração, as lâminas são montadas em bálsamo e posteriormente lidas através da microscopia óptica (KOSS; GOMPEL, 2006).

Em relação ao diagnóstico das anormalidades em células escamosas, de acordo com o Sistema de Bethesda, os esfregaços podem ser interpretados como células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), quando apresentam alterações citológicas em células intermediárias e superficiais sugestivas, porém, qualitativa e/ou quantitativamente insuficientes para a interpretação definitiva de LIE. As principais características citomorfológicas são: leve aumento da relação núcleo/citoplasma e núcleos arredondados ligeiramente hipercromáticos, apresentando tamanho de duas a três vezes maior do que o normal (HODA; HODA, 2007; WRIGHT et al., 2004). Em casos onde estas alterações estão presentes em células mais jovens, o resultado é interpretado como células escamosas atípicas, não podendo excluir lesão de alto grau (ASC-H) (WOODMAN et al., 2007).

Considerando os esfregaços citológicos caracterizados como LIEBG, os principais critérios citomorfológicos usados são: citomegalia, multinucleação, hipercromasia, contorno irregular da membrana nuclear, halo perinuclear e a presença de células com escavações irregulares ao redor do núcleo (coilocitos), caracterizando o efeito citopático provocado pelo HPV (coilocitose). Essas alterações citológicas são observadas principalmente em células escamosas maduras, já que estão associadas à infecção produtiva pelo HPV, na qual a replicação viral e a produção de novas partículas virais são fortemente acopladas ao processo de diferenciação do epitélio (WRIGHT, 2006).

Em esfregaços citológicos caracterizados como LIEAG ou mais grave, as características citomorfológicas provocadas pelo efeito citopático do HPV são geralmente menos proeminentes do que nos esfregaços interpretados como LIEBG. Desta forma, a detecção de sinais citológicos clássicos da infecção pelo HPV tais como coilocitose e citomegalia aumenta a probabilidade do diagnóstico de NIC grau 1 (NIC 1). Os principais critérios citomorfológicos observados em LIEAG são a presença de células jovens com elevada relação núcleo-citoplasmática, núcleos hipercromáticos, contorno irregular da membrana nuclear, pleomorfismo nuclear e figuras mitóticas anormais (WRIGHT, 2006).

Os critérios citomorfológicos observados no carcinoma escamoso invasor são: a presença de formas celulares bizarras, apresentando variações de tamanho e forma, anisonucleose e queratinização e a presença de células em forma de girino. Esfregaços evidenciando hemácias lisadas, núcleos desnudos e diátese tumoral, quando associados aos fatores citomorfológicos também são indicativos de carcinoma de células escamosas (HODA; HODA, 2007; WRIGHT et al., 2004).

Para as alterações em células glandulares, a presença de células glandulares atípicas (AGC) pode ser identificada pela presença de alguns, mas não de todos os critérios citomorfológicos usados para caracterizar o adenocarcinoma *in situ* (AIS). Células com núcleos apinhados e hipercromáticos, com perda da polaridade, dispostas em grupamentos morfológicamente característicos, tais como tira pseudoestratificada, roseta e plumagem são os principais critérios citomorfológicos utilizados na caracterização de esfregaços sugestivos de AIS. Nos casos de adenocarcinoma invasor, as células glandulares apresentam-se significativamente atípicas, podendo ser observadas em grupamentos fortemente irregulares e isoladas (células individuais atípicas preservadas) (AYER et al., 1991; HODA; HODA, 2007).

1.9.1.2 Histopatologia

Nas amostras obtidas por conização ou amputação cervical, o material deve ser inteiramente submetido a exame histológico para minimizar a possibilidade de perda de algum foco de invasão estromal. As margens cirúrgicas devem ser adequadamente identificadas nos cortes histológicos, avaliando sua localização topográfica e extensão da lesão para criptas glandulares. O efeito citopático clássico da infecção viral é observado nas camadas superiores do epitélio, classificado como NIC 1. Ainda são encontradas outras alterações como hiperplasia ou acantose, hipercromatismo ou disqueratose (WRIGHT, 2006).

Nas NIC 2 e NIC 3 as alterações se estendem ao terço superior do epitélio cervical. A coilocitose é menos proeminente, são encontradas células imaturas apresentando além da hiperplasia, disqueratose e hipercromatismo, também é observado o apinhamento nuclear, pleomorfismo e figuras mitóticas nos casos de lesões mais severas (WRIGHT, 2006).

1.9.2 Métodos moleculares para detecção de DNA

Atualmente, os testes de detecção com base no ácido nucleico são a forma mais avançada de metodologia de testagem com base diagnóstica molecular nos estudos HPV. Na análise do DNA ou RNA, os métodos podem ser divididos, genericamente em três grandes grupos: testes não amplificados, testes amplificados pelo alvo e testes amplificados pelo sinal.

1.9.2.1 Hibridização “in situ”

A hibridização “in situ” é uma técnica utilizada visando especialmente a identificação e detecção de vírus, tais com HPV, vírus de Epstein-Barr, vírus da hepatite B. Também usada para verificação de presença de outros agentes infecciosos em tecidos suspeitos de infecção e de tipos especiais de cromossomos (DO CARMO; FIORINI, 2007)

Esta técnica é menos sensível do que a técnica que utiliza a PCR (*Polymerase Chain Reaction*), porém mais sensível que a imuno-histoquímica. Sob condições apropriadas, a hibridização “in situ” ocorre através do estabelecimento de ligações de hidrogênio da sonda com a sequência-alvo do DNA viral, que podem ser visualizadas através de marcadores fluorescentes ou radioativos ligados às sondas, permitindo a detecção e localização de sequência de ácidos nucleicos do HPV em material citológico e histológico (DO CARMO; FIORINI, 2007).

A hibridização “in situ” detecta a forma episomal do vírus e a forma integrada ao DNA hospedeiro, além de possuir sondas específicas para HPV de alto e baixo risco. A otimização da visualização da reação entre as moléculas de DNA ou RNA em estudo, as sondas são marcadas com fluorescência, FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*), é o método de hibridização “in situ” mais utilizado atualmente, por não utilizar marcação radioativa. Possui sensibilidade de 92,5% e especificidade de 72,7% (OLIVEIRA et al., 2008).

A otimização da visualização da reação entre as moléculas de DNA ou RNA em estudo e as sondas é feita por associação a moléculas radiativas, fluorescentes ou tiramina biotiniladas que não utiliza marcação radiativa com boa sensibilidade e especificidade (DO CARMO; FIORINI, 2007).

1.9.2.2 Captura Híbrida (CH)

É uma reação de hibridização molecular, com amplificação do sinal dos híbridos formados pela utilização de sonda de RNA específico, não radioativa. Estes híbridos de DNA-

RNA são posteriormente capturados por anticorpos monoclonais e visualizados através de métodos de quimioluminescência (CAVALCANTI & CARESTIATO, 2006; HUBBARD, 2003; SOUZA, 2004; SALVIA, 2004). A CH é um procedimento de processamento rápido e leitura confiável para detectar 18 tipos de HPV divididos em grupos de baixo e de alto risco oncogênico (HUBBARD, 2003; GONTIJO et al., 2005), além de permitir avaliação de carga viral (SALVIA, 2004; RAMA, 2006). O método não distingue entre os tipos de HPV dentro destes grupos (HUBBAR, 2003; MOLIJN et al., 2005; WOLSCHICK et al., 2007).

A segunda geração desta técnica, a versão Captura Híbrida II (CHII) idealizada para a detecção de 13 tipos de alto risco, é um método de fácil realização, rápido e reprodutível, aplicado à análise de um grande número de amostras (WOLSCHICK et al., 2007). Apresenta alguns problemas de resultados falso-positivos, resultantes de reações cruzadas e de falso-negativos (CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006).

1.9.2.3 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A técnica de PCR, desenvolvida por Kary Mullis no fim da década de 1980, baseia-se na amplificação de segmentos específicos do DNA do organismo e consiste na replicação *in vitro* de segmentos específicos de DNA pela enzima DNA-Polimerase (SAIKI et al., 1988). Para a detecção molecular do HPV por PCR têm sido usadas várias combinações de iniciadores genéricos para amplificação de segmentos específicos do DNA de diferentes regiões do genoma viral detectando níveis muito baixos de carga viral em células e tecidos, mesmo em infecções ditas não produtivas (CHAN et al., 2006; HUBBARD, 2003;).

Existem duas abordagens relevantes para detecção do DNA do HPV por PCR que são: a PCR de consenso e a PCR tipo específica. Os ensaios de PCR mais amplamente utilizadas usam os *primers* GP5+/GP6+, MY09/MY11, e SPF, cujo alvo é uma região altamente conservada do gene L1 do HPV, amplifica numerosos tipos de HPV genital numa mesma reação. O conjunto PCR GP5+/GP6+ consiste de dois *primers* que detectam uma ampla gama de HPVs em baixa temperatura de anelamento. O MY09/11, por outro lado, é sintetizado com vários nucleotídeos degenerados em cada um dos *primers*, gerando uma mistura de 25 iniciadores que são capazes de amplificar um amplo espectro de tipos de HPV (Multiplex PCR). Embora os sistemas de *primers* MY09/MY11 e GP5+/GP6+ produzam uma prevalência quase idêntica de HPV em um conjunto de amostras clínicas, os MY09/MY11 detectam o dobro de infecções por múltiplos tipos. Os *primers* GP5+/GP6+ amplificam fragmentos de aproximadamente 150 pb (BOULET et al., 2008).

Os *primers* PGMY09/PGMY11 foram desenhados para melhorar a sensibilidade do sistema MY09/MY11 de todo o espectro de tipos com aumento da detecção de infecções múltiplas com melhor reprodutibilidade e especificidade (BOULET et al., 2008). Esse conjunto de *primers* consiste em uma mistura de oligonucleotídios que permitem a amplificação de um fragmento de aproximadamente 450 pb da região L1 do HPV (GRAVITT et al., 2007).

Para detecção do genoma do HPV, foi utilizada a técnica convencional de PCR com oligonucleotídeos iniciadores consensuais PGMY09/11, cujo produto é visualizado pela presença de uma banda de aproximadamente 450 pb. As sequências dos oligonucleotídeos iniciadores PGMY09/11 encontram-se no quadro 2. As concentrações dos reagentes utilizados nesta reação encontram-se descritos no quadro 3. Cada experimento de amplificação utiliza controles positivos e negativos para garantir a confiabilidade da reação.

1.9.2.4. Detecção do genoma viral utilizando os oligonucleotídeos iniciadores consensuais PGMY09/11

Quadro nº 2 – Sequência do primer PGMY09/11 / - Adaptado de Gravitt et al, 2000

Nome do primer	Sequência do primer (5'-3')
PGMY11-A	GCA CAG GGA CAT AAC AAT GG
PGMY11-B.....	GCG CAG GGC CAC AAT AAT GG
PGMY11-C.....	GCA CAG GGA CAT AAT AAT GG
PGMY11-D.....	GCC CAG GGC CAC AAC AAT GG
PGYM11-E	GCT CAG GGT TTA AAC AAT GG
PGMY09-F.....	CGT CCC AAA GGA AAC TGA TC
PGMY09-G.....	CGA CCT AAA GGA AAC TGA TC
PGMY09-H.....	CGT CCA AAA GGA AAC TGA TC
PGMY09-I	GCC AAG GGG AAA CTG ATC
PGMY09-J	CGT CCC AAA GGA TAC TGA TC
PGMY09-K.....	CGT CCA AGG GGA TAC TGA TC
PGMY09-L	CGA CCT AAA GGG AAT TGA TC
PGMY09-M.....	CGA CCT GAT GGA AAT TGA TC
PGMY09-N.....	CGA CCA AGG GGA TAT TGA TC
PGMY09-P.....	GCC AAC GGA AAC TGA TC
PGMY09-Q.....	CGA CCC AAG GGA AAC TGG TC
PGMY09-R.....	CGT CCT AAA GGA AAC TGG TC
HMB01.....	GCG ACC CAA TGC AAA TTG GT

A PCR em tempo real (PCR-RT), por sua vez, é uma variação do método de PCR convencional - PCRc). Essa metodologia permite distinguir as sequências de bases amplificadas de DNA por análise da temperatura de separação das duplas fitas, e, como as reações ocorrem em ambiente fechado, diminui a ocorrência de contaminações. É um método que permite a determinação da carga viral, bem como o estado físico (epissomal ou integrado) do DNA do HPV (MOLIJN et al., 2005). A quantificação ocorre por meio do monitoramento do acúmulo de amplificações, utilizando iniciadores que podem ser marcados com moléculas capazes de emitir fluorescência. Além disso, o uso de *primers* universais permite, teoricamente, a detecção de todos os tipos de HPVs existentes (LEFEVER et al., 2009, RODRIGUES et al., 2009).

Na PCR tipo-específica são utilizados iniciadores desenhados para amplificar um único tipo de HPV, exclusivamente. Entretanto, são validados iniciadores específicos apenas para a detecção dos tipos 16, 18, 31 e 33 (BAAY et al., 1996). Além disso, para detectar a presença do DNA de qualquer um dos tipos de HPV para os quais existem iniciadores validados, várias reações tipo-específicas devem ser processadas separadamente para uma mesma amostra. A PCR tipo-específica possui alto custo e alta demanda de tempo (MOLIJN et al., 2005).

1.9.2.5 Genotipagem do HPV

Os testes de genotipagem do HPV são utilizados em estudos de prevalência de HPV de tipo específico entre a população, na avaliação de vacinas e na implementação e monitoramento de programas de vacinação. A aprovação de qualquer um destes ensaios para uso clínico é alcançada após uma análise cuidadosa dos resultados obtidos em estudos de validação, que podem, eventualmente, ter um desempenho aceitável em termos de sensibilidade e especificidade para a detecção de doença clinicamente relevante (NIC 2) (SCHUTZBANK et al., 2012).

Um grande número de ensaios para a genotipagem do HPV têm sido desenvolvidos nos últimos anos, e alguns deles têm sido comercializados e introduzidos em laboratórios clínicos e de investigação, sendo os mais usados no momento: INNO-LiPA HPV Extra Genotipagem (Imuno-genética), PailloCheck HPV Teste de triagem (Greiner Bio-One), Clart HPV 2(Genômica), Infiniti HPV Genotyping assay (AutoGenomics), Linear Array HPV Teste Genotipagem (Roche).

1.9.2.5.1 INNO-LiPA HPV Genotipagem Extra (Imuno-genética)

Este teste baseia-se na hibridação reversa em linha ‘line blot’, e foi projetado para a identificação de 28 diferentes genótipos de HPV: 17 de alto risco e tipos provavelmente carcinogênicos de HPV (HPV16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 e 82), sete tipos de baixo risco (HPV 6, 11, 40, 43, 44, 54 e 70), e quatro tipos de HPV de risco oncogênico desconhecido (HPV 69, 71, 73 e 74) (BOUVARD et al., 2009). A amplificação de um segmento do gene do complexo principal de histocompatibilidade humano, classe II, DP 1 beta (HLA-DPB1) é usado para monitorar a qualidade da amostra e a eficiência da extração de DNA. O limite de detecção varia entre 20 e 70 cópias por reação, dependendo do genótipo testado.

1.9.2.5.2 PAILLOCHECK® HPV Teste de triagem (Greiner Bio-One)

O Test Kit PapilloCheck® é um ensaio baseado em PCR usado para a detecção e identificação de 24 genótipos de HPV . O método detecta 16 tipos de alto risco (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 e 82), sete tipos de baixo risco (HPV-6, 11, 40, 42, 43, 44 e 70) e dois tipos de possível risco oncogênico (HPV55 e HPV73) (BOUVARD et al., 2009). Os tipos 44 e 55 são detectados simultaneamente não podem ser discriminados.

A amplificação de um fragmento do gene E1 de HPV com *primers* específicos é seguida por hibridação com sondas de DNA específicas. A amplificação de um segmento do gene Adenosina desaminase específica para tRNA1 é incluída com controle interno. O limite de detecção do ensaio varia entre 30 a 750 cópias por reação e depende do genótipo.

1.9.2.5.3 Clart ® Papilomavírus humano 2 (Genomica, Madrid, Espanha)

O Clart ® Papilomavírus Humano 2 é um ensaio baseado em PCR, que detecta 35 tipos de HPV, 17 de alto risco (HPV16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 e 82), doze tipos de baixo risco (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 e 89), e seis tipos de risco oncogênico indeterminado (HPV-62, 71, 73, 83, 84 e 85 (BOUVARD et al., 2009). A amplificação de um fragmento de 450 pb do gene L1 de HPV é seguida pela detecção usando a tecnologia de microarray de baixa densidade CLART ® (Array Clínica Technology). A amplificação de uma sequência do gene da proteína transmembrana reguladora da condutância da fibrose cística (CFRT) é usada como controle interno. A sensibilidade analítica varia entre 10 e 100 cópias, dependendo do genótipo.

1.9.2.5.4 Ensaio Infiniti Genotipagem HPV (Auto Genomics Inc, Califórnia, EUA)

Existem três diferentes testes de genotipagem do HPV Infiniti para uso em investigação, todas elas baseadas em PCR. A hibridação automática e detecção de um fragmento de 300 pares de base amplificado a partir do gene E1). O Infiniti HPV QUAD **que** identifica 13 tipos de HPV individualmente (HPV 16, 18, 31, 33, 45) ou em combinação (35/68, 39/56, 58/52, 59 /51), bem como dois tipos de HPV de baixo risco (HPV 6/11). O Infiniti HPV de alto risco QUAD detecta 14 tipos de alto risco ou tipos de HPV provavelmente carcinogênicos (HPV16, 18, 31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68). Finalmente, **o** Infiniti HPV Genotipagem identifica 26 tipos de HPV: 17 de alto risco ou tipos provavelmente carcinogênicos de HPV (HPV16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 e 82), três tipos de HPV de baixo risco (HPV 6, 11 e 70), e seis de risco oncogênico indeterminado (HPV 30, 34, 67, 69, 73 e 85). A amplificação do fragmento do gene da Beta globina endógena humana é usada como controle interno. A sensibilidade analítica varia de 300 cópias por reação para HPV-16 de 3.000 cópias para o HPV-18 (ERARI et al., 2009).

1.9.2.5.6 *Linear Array HPV Genotipagem Test* (Roche Molecular Systems)

Hibridização reversa

A tecnologia de hibridização reversa utiliza uma tira de membrana contendo várias sondas imobilizadas como linhas paralelas, chamadas *Line Probe Assay* (LIPA); *Ensaio Line Blot* (LBA) ou da matriz linear (AL) (GRAVITT et al., 2003; MOLIJN et al., 2005). Este método fornece uma ferramenta atraente para hibridação simultânea de um produto da PCR com múltiplas sondas de oligonucleotídeos e compreende a imobilização de sondas em uma fase sólida e do produto da PCR em fase líquida. O produto da PCR é gerado, usando *primers* biotinilados. Este **são** desnaturados em condições alcalinas e adicionado em solução tampão de hibridização. Após a hibridação, o material é lavado e os híbridos podem ser detectados pela adição de um conjugado de estreptavidina e um substrato, gerando cor na linha de sonda, que pode ser visualmente interpretada. Alguns métodos de hibridização reversa em linha podem incluir 27-37 sondas para diferentes tipos de HPV de alto e baixo risco oncogênico. Este método permite a detecção de múltiplos tipos de HPV com alta sensibilidade e especificidade em uma única etapa e requer somente uma quantidade limitada do produto da PCR (GUTIÉRREZ-XICOTÉNCATL, 2009). O ensaio inclui a amplificação de um segmento do gene da Beta globina humana como controle interno. Figura 6.

A diversidade dos genótipos e a incidência de infecções múltiplas tornaram necessário o estabelecimento de métodos confiáveis para identificação dos vários tipos virais, não somente para estudos epidemiológicos como também para o acompanhamento de pacientes (DIDELOT-ROSSEAU et al., 2006). Vários métodos têm sido descritos para identificar os diferentes tipos de vírus HPV (CARESTIATO et al., 2006; CARMO; FIORINE, 2007; MOLIJN et al., 2005).

Alguns kits com coquetéis de sonda específicas para vários tipos de HPV estão disponíveis comercialmente, sendo os mais usados o PGMY-LB Assay, que identifica 37 tipos (KORNEGAY et al., 2003) e Amplicor HPV test que reconhece 13 tipos de alto risco ambos da Roche Applied Science, o INNO-LIPA, da Innogenetics, que identifica 28 tipos de genótipos (DIDELOT-ROSSEAU et al., 2006), e o Papillocheck, da Greiner Bio-one, que identifica 24 tipos (KOIDL et al., 2008). Esses Kits apresentam como vantagem a identificação de múltiplos tipos, mas podem ocorrer reações cruzadas entre os tipos relacionados.

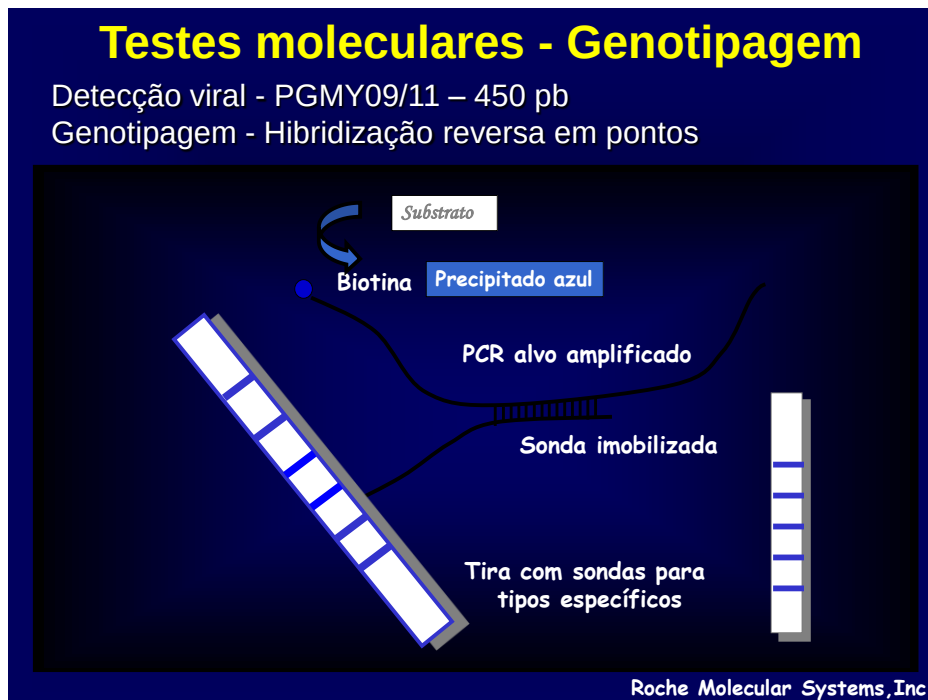


Figura 6 – Teste de hibridização reversa em pontos.
Fonte: Roche Molecular Systems

1.10. Vacinas

A descoberta de que a proteína L1 é capaz de organizar-se em partículas de estrutura icosaédrica, semelhante ao capsídeo viral, VLPs (*Virus-Like Particles*), mas sem o DNA do vírus, possibilitou o avanço do conhecimento sobre a imunogênese do HPV. A expressão dessas proteínas (L1 e L2) gera os VLP, que são a principal fonte de antígenos empregado para o desenvolvimento das vacinas profiláticas (SILVA et al., 2009).

Duas vacinas profiláticas contra o HPV foram recentemente licenciadas em muitos países, inclusive no Brasil. A chamada Cervarix, da GlaxoSmithKline – protege contra os HPVs 16 e 18, e a Gardasil, da Merck Sharp & Dohme – protege contra os HPVs 6, 11, 16 e 18. Ambas contêm a proteína L1 do capsídeo viral, produzida por meio de tecnologia recombinante para a obtenção de partículas análogas às virais (VLPs) dos dois vírus mais comuns nos cânceres cervicais: os HPV 16 e HPV 18. A vacina, Gardasil também contém VLPs de tipos não-oncogênicos HPV-6 e HPV-11, que estão implicados em 75-90% das verrugas genitais (EINSTEN et al., 2009).

A quantidade de VLPs, assim como o sistema adjuvante, difere em cada vacina. Uma considerável quantidade de trabalhos multicêntricos já foi realizada, demonstrando evidências

convincentes favoráveis à vacinação anti-HPV. Para as duas vacinas, a proteção contra os tipos oncogênicos HPV 16 e 18 está bem estabelecida. Estudos randomizados de ensaios clínicos têm mostrado eficácia em 6,4 anos pós-vacinação para a Cervarix e em pelo menos 5 anos para Gardasil (EINSTEIN et al., 2009).

A vacinação é recomendada para jovens entre 09 a 12 anos de idade. É aceitável em mulheres até 26 anos, embora sua eficácia diminua com o aumento da idade, sendo necessário o uso de três doses para a imunização (MASSAD et al., 2009).

A eficácia da proteção cruzada da vacina quadrivalente foi investigada em um estudo de caso-controle para 14 outros tipos de HPVs. Observou-se diminuição da incidência, principalmente do HPV 31 e outros tipos como os HPVs 33, 45, 52 e 58. Considerando as espécies filogenéticas, a proteção cruzada foi mais evidente nos HPVs da espécie A9 e para os HPVs da espécie A7; houve eficácia para os HPVs 39, 45 e 59 em relação à eficácia da proteção cruzada em pacientes com NIC 1, NIC 2, NIC 3 e Adenocarcinomas. Nesse mesmo estudo a diminuição da incidência foi significativamente maior em pacientes com NIC 2, NIC 3 e Adenocarcinomas para os tipos de HPV 31 e 45, e proteção cruzada para os outros tipos de HPVs foi semelhante aos já relatados (BROW et al. 2009). A vacina bivalente da Glaxo Smith Kline também apresentou proteção cruzada para os HPVs 31, 33 e 45 (PAAVONEN et al., 2009).

Vários aspectos da resposta imune às vacinas contra o HPV devem ser levados em consideração, a fim de compreender a informação disponível e os problemas a serem enfrentados na seleção de dados sobre proteção cruzada. É necessário distinguir a neutralização e proteção cruzada. A neutralização cruzada significa que anticorpos induzidos pela vacinação com um tipo de HPV, neutralizam virions de outro tipo de HPV em grau variável *in vitro* (BISHOP et al., 2007). Uma proteção cruzada significa que a imunização com um determinado tipo de vacina proporciona uma proteção clinicamente significativa contra a infecção ou doença, devido a um outro tipo de HPV (BONANNI et al., 2009).

Embora o mecanismo de proteção cruzada não tenha sido completamente elucidado, é possível que esteja associada com a relação filogenética de tipos de HPV. HPV-16, 18, 31 e 45 que pertencem ao gênero *Alpha-papillomavírus*. Os tipos de HPV que pertencem à mesma espécie, são filogeneticamente relacionados; HPV 31 compartilha 83% de homologia com a região L1 de HPV 16 e HPV 45 compartilha 88% de homologia com a região L1 do HPV 18 (SCHIFFMAN et al., 2005).

A primeira evidência de proteção cruzada em ensaios clínicos foi descrito por Harper em 2006 em relação à vacina bivalente e dirigida contra a infecção incidente com o HPV 45 e

HPV 31 (HARPER et al., 2006). Trabalhos realizados por (BROWN et al., 2009) relataram análises de proteção cruzada pela vacina quadrivalente contra lesões causada por tipos de HPV filogeneticamente relacionados.

Em 2007, após a fase de sucesso de ensaios clínicos da vacina quadrivalente contra o HPV, a Austrália adotou uma abordagem primária para a prevenção do câncer do colo do útero, por meio do Programa Nacional de Imunização (PNI). A vacina contra o HPV, também conhecida como o *cervical câncer vaccine* (GARLAND et al., 2011). Este é um programa contínuo em que a vacina quadrivalente é oferecido gratuitamente para meninas com idade entre 12 a 13 anos, principalmente através das escolas. Além disso, desde o início deste programa, houve uma grande iniciativa de 2 anos, que começou em julho de 2007 e terminou em Dezembro de 2009, em que a vacina foi oferecida a indivíduos do sexo feminino com idade entre 13 e 26 anos através de base comunitária programas, práticas gerais e escolas (GARLAND et al., 2011).

A Austrália foi um dos primeiros países a implementar a vacina quadrivalente anti-HPV gratuita para a população feminina. Foi aprovada a partir de abril de 2007 nas escolas para meninas de 12 a 18 anos e julho de 2007 em centro de saúde e clínicas para mulheres de 18 a 26 anos até o final de 2009. A cobertura vacinal registrada ao final da vacinação nessa idade foi de 80% para duas doses (LEASK et al., 2009). A partir de 2010, a vacina tem sido realizada somente para meninas de 12 a 13 anos com 73% de cobertura para as três doses. A vacina quadrivalente anti-HPV também foi aprovada na Austrália para mulheres na idade de 27 a 45 anos e para meninos e homens de nove a 26 anos (CRAWFORD et al., 2011).

Estes resultados de cobertura vacinal, demonstraram que tais reduções de lesões de alto grau confirmados histologicamente estão de fato ocorrendo entre mulheres vacinadas no período de estudo, de 1 de abril de 2007 a 31 de dezembro de 2011, um total de 24.871 mulheres entre 12 e 17 anos de idade que foram vacinadas contra o HPV e que tinha começado rastreio do colo do útero (GERTIG et al., 2013). É de notar que 85 % destas mulheres estavam vacinados, enquanto que o restante recebeu uma ou duas doses de vacina.

1.11. História dos quilombos no Maranhão

No Brasil existem 1.711 comunidades quilombolas certificadas pela Fundação Cultural Palmares, das quais 7,7% (n=131) na Região Sul; 9,2% (n=158) na Região Norte; 14,1% (n=241) na Região Sudeste; 62,8% (1.075) na Região Nordeste e 6,2% (106) na Região Centro-Oeste (BRASIL, 2011).

Segundo informações da (FAMEM) Federação das Associações dos Municípios do Estado do Maranhão (2007), o Maranhão é o estado brasileiro que concentra o maior número de remanescentes de quilombos. São 642 comunidades quilombolas, sendo apenas 369 reconhecidas pela Fundação Cultural Palmares e pelo Governo Federal com publicações no Diário Oficial da União (BRASIL, 2011). Apesar das numerosas comunidades quilombolas distribuídas nas cinco mesorregiões existe maior concentração de quilombos nas mesorregiões do litoral leste e mesorregião norte, cujo único acesso à saúde é através do Programa Saúde da Família (PSF). A pesquisa desenvolvida junto à comunidade quilombolas permite verificar que as barreiras culturais e sociais poderiam estar impedindo maior abrangência em relação ao universo de mulheres com idade aconselhável para o exame preventivo, além do acesso as referidas comunidades. As comunidades quilombolas são grupos étnico-raciais, segundo critérios de auto-atribuição, com trajetória histórica própria, isolamento geográficos, dotados de relações territoriais específicas e com presunção de ancestralidade negra, relações monogâmicas, apenas entre membros dos quilombos e resistência à opressão histórica sofrida (CARDOSO, 2010).

Quando se pensa nas comunidades quilombolas e seu acesso às políticas sociais e de saúde, não há como fechar os olhos ao grave problema dessa população. As comunidades, em sua maioria, caracterizam-se pelo forte vínculo com o meio ambiente, as famílias destas comunidades vivem da agricultura de subsistência, sendo a atividade econômica baseada na mão de obra familiar, para assegurar os produtos básicos para o consumo. As crianças aprendem a lida na roça desde muito tenra idade. As condições sanitárias destas populações são insuficientes; a maior parte não possui água tratada e nem esgoto sanitário. Outra característica importante dessas comunidades é a ausência de serviços de saúde locais, fazendo com que, ao surgirem doenças, seus habitantes sejam obrigados a percorrer grandes distâncias em busca de ajuda. Todas estas questões acabam por aumentar o baixo índice de indicadores de saúde entre as comunidades quilombolas (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006; SILVA et al., 2008; NARVAI, 2006)

A falta de perspectiva com relação ao futuro e ao crescimento pessoal, somados às difíceis condições de moradia e à falta de uma política de valorização do homem do campo, tem sido apontados frequentemente como causa do alto índice de alcoolismo e tabagismo entre as populações quilombolas. Enfermidades decorrentes destes hábitos nocivos à saúde e a exacerbação de outras condições estabelecidas, demonstram a necessidade de uma estratégia especial junto a estes grupos populacionais (LEITE, 2008; MELO, 2010; VICENTE, 2004)

A visão de vulnerabilidade social é, usualmente, referida nos quilombos em relação à saúde e à doença. A morbimortalidade, tanto de origem infectocontagiosa quanto crônico degenerativa, compõe o repertório de reflexão desta rede de causalidade da insegurança. A importância do recorte étnico/racial na assistência e na atenção em saúde relativa às doenças e às condições de vida da população negra permite que sejam identificados contingentes populacionais mais suscetíveis aos agravos à saúde, como hipertensão e anemia falciforme (BRASIL, 2005; BRASIL, 2006; CALHEIROS et al., 2010; OLIVEIRA, 2004).

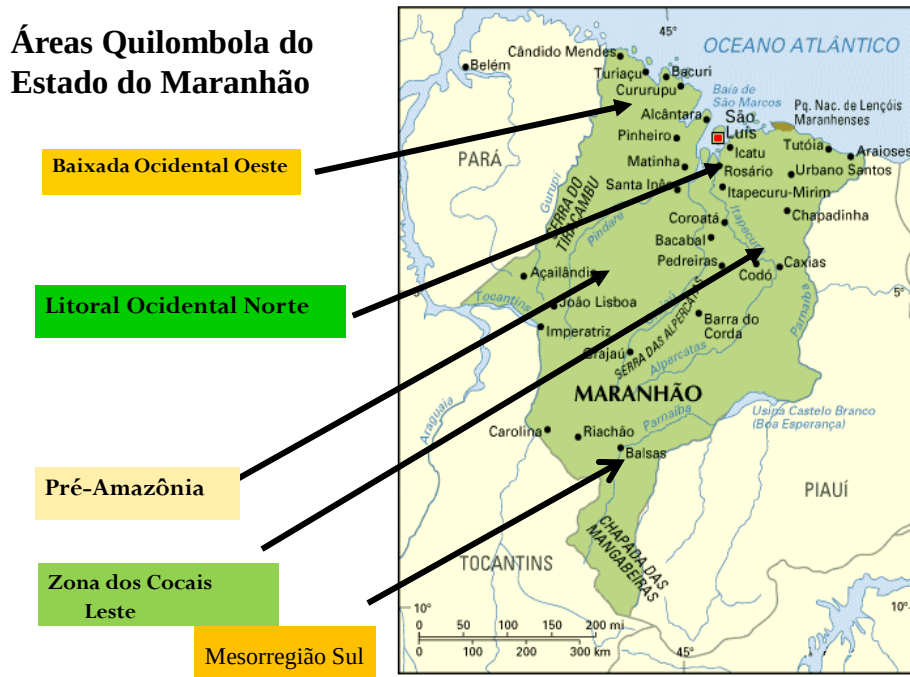
A Política Nacional de Saúde Integral da População Negra aprovada em novembro de 2006 pelo Conselho Nacional de Saúde (CNS) propõe ações transversais inseridas no Sistema Único de Saúde (SUS), visando garantir a efetivação do direito à saúde da população negra em relação à promoção, prevenção e tratamento dos agravos transmissíveis e não transmissíveis (BRASIL, 2006). Nesse sentido, a criação da Política Nacional de Saúde Integral da População Negra (PNSIPN) veio consolidar ações e planos voltados para a atenção à saúde da população negra, que ainda persiste sob um quadro de desigualdades ao longo da história. Assim, efetivar o direito humano à saúde da população negra é também um marco constituído pela luta para o estabelecimento de padrões de equidade étnico-racial e de gênero na política de saúde do País (BRASIL, 2007).

A assistência à saúde é realizada pelas equipes da Estratégia de Saúde da Família (ESF), porém, há precariedade dos serviços de saúde, número reduzido de unidades, equipes e profissionais, especialmente médicos, dentistas e enfermeiros. Observou-se que o Agente Comunitário de Saúde (ACS) é quem se mantém responsável pelo acompanhamento do estado de saúde das famílias quilombolas. Embora a Política Nacional de Saúde Integral da População Negra (PNSIPN) assegure a ampliação do acesso e a qualidade do atendimento básico, a fragilidade desses fatores constituem-se como fatores de risco nas comunidade quilombolas (BRASIL, 2007).

Assim, analisar a prevalência das anormalidades citológicas em uma amostra de mulheres quilombolas é importante para fornecer informações epidemiológicas que auxiliem no planejamento e na avaliação de programas e prevenção e controle do câncer do colo do

útero e no gerenciamento dos serviços de saúde. Os dados sobre tipos específicos de HPV em mulheres sexualmente ativas seriam úteis para a população prever os potenciais benefícios da vacinação.

O Maranhão apresenta (5) cinco regiões geográficas e em todas encontramos comunidades quilombolas distribuídas na Figura 7, representadas no mapa.



FAMEM, 2007. www.famem.org.br

Figura 7 – Mapa das áreas quilombolas do Estado do Maranhão

2. JUSTIFICATIVA

Considerando a associação do câncer do colo do útero com os grupos que têm vulnerabilidade social – baixo nível econômico, infere-se que são exatamente esses grupos que estão mais expostos, também, às maiores barreiras de acesso à rede de serviços de saúde para detecção e tratamento precoce da doença e suas lesões precursoras, advindas de dificuldades econômicas e geográficas, insuficiência de serviços e questões culturais, como medo e preconceitos dos maridos, entre outras barreiras (INCA, 2011). Nascimento et al. (2003) apontam que no Maranhão, no período de 1999 a 2000, foram diagnosticados 9.991 (1,6%) exames positivos para alterações celulares epiteliais escamosas e glandulares, com 2,5% dos diagnósticos com atipias de significado indeterminado em células epiteliais escamosas; 2,1% por cento com neoplasia intraepitelial cervical grau I e 1,6% com alterações celulares compatíveis com *Papilomavírus humano* (HPV).

É de extrema importância realizar estudos regionais não só sobre a prevalência da infecção pelo HPV, mas também sobre a distribuição de tipos, com o intuito de avaliar os potenciais benefícios da vacina. Informações sobre a distribuição de tipos específicos de HPV na região e sua relação com o potencial carcinogênico dos mesmos no que diz respeito ao diagnóstico das anormalidades citológicas associadas são importantes ferramentas para avaliação do comportamento destas infecções e lesões associadas nos períodos pós-vacinais.

Poucos estudos avaliaram a prevalência da infecção pelo HPV em mulheres quilombolas, mais especificamente no Estado de Maranhão, onde não há publicação referente a este tema. O estabelecimento de estratégias adequadas para a prevenção do câncer cervical requer o conhecimento prévio da epidemiologia da infecção pelo HPV, em diferentes faixas de idade e nível socioeconômico e cultural. Os dados gerados por este estudo são importantes para se identificar variações na importância dos diferentes tipos de vírus de acordo com a gravidade das lesões. Tais informações são úteis na identificação de tipos ou grupos de tipos que diferem largamente entre si quanto ao potencial carcinogênico – e, portanto, devem ser manejados diferentemente nos programas de prevenção e rastreamento. É fundamental que as políticas públicas em saúde busquem a inclusão de tais grupos nas efetivas ações que completam o ciclo da responsabilidade social do Estado na prevenção do câncer do colo útero.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Detectar a infecção e identificar os tipos específicos de HPV em mulheres quilombolas e relacionar com características sociodemográficas/comportamentais e anormalidades citológicas detectadas em esfregaços cervicais

3.2. Objetivos específicos

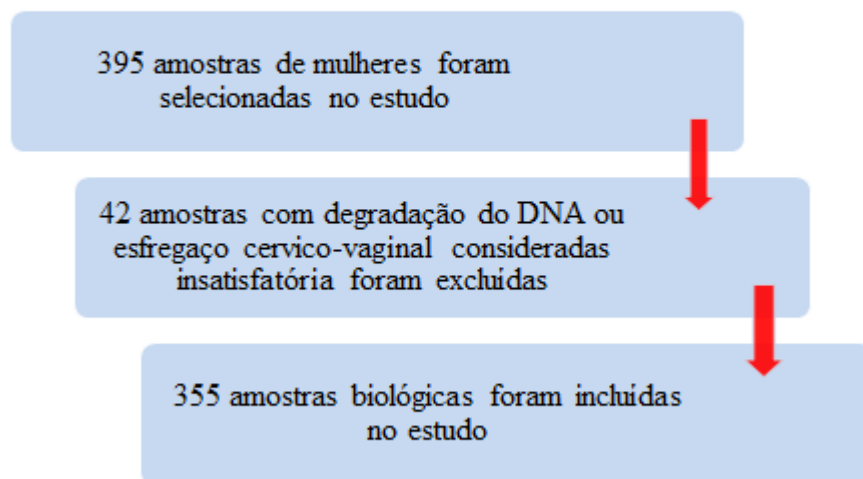
- Descrever as características sociodemográficas e comportamentais de mulheres quilombolas.
- Estimar a prevalência global e de tipos específicos de HPV em mulheres quilombolas com e sem anormalidades citológicas.
- Avaliar a associação entre as anormalidades citológicas e a infecção por HPV em mulheres quilombolas.
- Analisar os fatores comportamentais associados à infecção por HPV e anormalidades citológicas em mulheres quilombolas

4. METODOLOGIA: NATUREZA, LOCAL DO ESTUDO E POPULAÇÃO

4.1. Desenho do estudo e tamanho amostral

Para este estudo de corte transversal, a população foi constituída de mulheres quilombolas usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS) dos municípios do Maranhão–Região de Itapecuru, Região do Litoral Leste, para rastreamento do câncer do colo uterino. As mulheres que atenderam ao convite preencherem aos critérios de inclusão e concordaram, em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE foram incluídas (Apêndice A). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário, HU/UFMA, segundo Parecer nº 233/2011(Anexo B). Foram atendidas e incluídas no estudo 395 mulheres, foram excluídas amostras de 42 mulheres porque houve degradação do DNA ou por esfregaço cervico-vaginal considerado insatisfatório, portanto, o estudo incluiu a análise de amostras biológicas provenientes de 353 mulheres.

Fluxograma da amostras coletadas



4.2. Critérios de inclusão

Mulheres quilombolas, que já tiveram ou têm atividade sexual e procuraram espontaneamente pelo exame de Prevenção do Câncer do Colo do Útero (PCCU), sendo usuárias do Sistema Único de Saúde dos municípios do Maranhão, e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

4.3 Critério de exclusão

Mulheres quilombolas histerectomizadas, aquelas submetidas a cirurgias em colo uterino e portadoras de déficit mental que prejudicasse o entendimento das respostas para preenchimento do formulário específico, e aquelas amostras que apresentaram degradação do DNA ou esfregaço cervico vaginal considerado insatisfatório.

4.4 Coleta de dados

A coleta das 395 amostras foi realizada entre julho de 2011 e março de 2012. Procedeu-se a entrevista no momento da coleta utilizando-se um questionário epidemiológico estruturado que incluía informações sobre características sociodemográficas, hábitos e história sexual e reprodutiva.

As mulheres foram submetidas a exame clínico cuidadoso com inspeção dos genitais externos e região perianal. Secreções de ectocérvice e endocérvice foram colhidas para exame citológico realizado através de método convencional. Este material também foi colocado em uma solução tampão preservadora (*Universal Colection Médium Digene Corporation*) e utilizado para detecção de DNA-HPV por PCR (GRAVITT et al., 2000, GRAVITT et al., 2003), e genotipagem por meio de hibridização reversa em pontos utilizando o Kits *Linear Array HPV Genotyping Test (Roche Molecular Systemas)*. As amostras foram armazenadas em freezer a -20°C até a extração de DNA, no Laboratório de Diversidade Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

4.5 Exame citológico

As amostras coradas pelo método de Papanicolaou foram analisadas no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás

(UFG). Todos os esfregaços foram submetidos a um rigoroso controle de qualidade adotado pelo referido laboratório realizado através da revisão rápida de todos os esfregaços negativos para anormalidades citológicas cervicais. Os resultados de adequabilidade das amostras e grau de anormalidades cervicais foram interpretados de acordo com o Sistema de Bethesda revisado em 2001 (SOLOMON; NAYAR, 2004).

4.6 Detecção do HPV

4.6.1 Extração do DNA

A extração do DNA foi feita a partir das células descamativas cervicais colhidas com escova coletora mergulhada em solução de PBS, kit comercial de purificação de DNA cujo método se baseia na ligação seletiva do DNA a uma membrana de sílica na presença de sais caotrópicos (PureLink™, Invitrogen), sendo as amostras processadas e extraído o DNA a partir do esfregaço cervical. Após ressuspensão por agitação em vórtex foi transferido um volume de 200 µL do meio universal de coleta (UCM) contendo o material para um tubo tipo *ependorf* ao qual foram adicionados 20 µL de Proteinase K e 20 µL de RNase. A mistura resultante foi incubada por dois minutos à temperatura ambiente. Após esse período, foi adicionado ao material 200 µL do tampão de lise/ligação e a mistura incubada por 30 minutos a 55°C. Terminada a etapa de lise, foram adicionados 200 µL de etanol a 96%, seguido por agitação em vórtex de modo a se obter uma solução homogênea. O material lisado foi aplicado à coluna e o procedimento de purificação foi realizado de acordo com as instruções de uso do kit comercial em três etapas: ligação do DNA à coluna de sílica, lavagem para retirada de material não ligado e recuperação (eluição) do DNA ligado à coluna. O DNA extraído foi armazenado em freezer a -20°C.

4.6.2 Amplificação do DNA genômico humano

Para confirmação de existência de material genômico humano e ausência de substância inibidora de PCR foi realizado o controle interno das amostras extraídas, através de PCR para partes do gene (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase) - GAPDH, utilizando-se *primers* previamente desenhados, conforme a sequência: GAPDH – 5' AAG GCT GGG GCT CAT TTG 3' e GAPDHr – 5' GTG TGG TGG GGG ACT GAG 3'.

A visualização da amplificação com *primers* GAPDH foi feita em gel de poliacrilamida. As condições de amplificação do GAPDH, para as fases às quais o termociclador foi regulado encontram-se descritas na técnica (os itens foram repetidos por 40 ciclos).

QUADRO 3 – Protocolo de PCR para amplificação do gene constitutivo de GAPDH

Protocolo de PCR para amplificação do gene constitutivo de GAPDH			
Reagente	[] inicial	[] final	Volume p uma reação
Tampão 10x	[10x]	[1x]	2,5 ul
MgCl	50 mM	2 Mm	1,0 ul
dNTP's	2 mM	0,2 Mm	2,5 ul
P¹	2,5 uM	0,05 uM	0,5 ul
P²	2,5 uM	0,05 Um	0,5 ul
DNA	100 ng/ul	2 ng/ul	2,0 ul
Taq. Polim.	5 U/ul	0,2 U/ul	1,0 ul
H₂O milli-Q	q.s.p. 25ul	-	15,0 ul
Total	--	--	25,0 ul

Nas amplificações do DNA envolvendo o GAPDH, os componentes de cada reação foram: 2,5 mmol/bhL de MgCl₂, 200 µmol/L de cada dNTPs 10X, 10 µmol/L de mistura de primer (05 µmol/L de RW e 05 µmol/L de FF), 0,25 unidades de Taq DNA polimerase. O volume final de reação foi de 25µL, sendo completado com água de miliQ na quantidade suficiente. No controle negativo da PCR, em um dos tubos foi utilizada somente água em substituição às amostras contendo DNA e, como controle positivo, a amostra tida como padrão ouro de extração, que em todos os testes, sempre se apresentou positivo para HPV.

Após o término da reação, as amostras foram analisadas em gel de poliacrilamida 8% corado com nitrato de prata para verificação de uma banda de aproximadamente 98pb correspondente ao fragmento do gene GAPDH. As amostras positivas para amplificação de GAPDH foram submetidas a reações de PCR para a detecção do DNA do HPV. As amostras negativas para o gene GAPDH tiveram o DNA re-extraído e foram novamente testadas para esse gene. Somente as amostras positivas para o GAPDH foram utilizadas para detecção.

4.6.3 Amplificação do DNA e genotipagem do HPV

A amplificação do DNA e genotipagem do HPV foram realizadas através do kit *Linear Array HPV Genotyping Test* (Roche Molecular Systems, Branchburg Inc.). O DNA do HPV foi amplificado por PCR com o par de iniciadores de consenso para a região L1 PGMY09/PGMY11 marcados com biotina em um termociclador utilizando a ciclagem: 95°C por 13 minutos, seguida por 40 ciclos de desnaturação a 95°C por um minuto, anelamento a

uma temperatura de 55°C por um minuto e extensão a 72°C por um minuto. Ao final, foi realizada uma extensão terminal de cinco minutos a uma temperatura de 72°C. O controle de amplificação foi feito usando par de iniciadores para o gene da β -globina GH20 e PC04 marcados com biotina. A genotipagem do HPV foi realizada por metodologia de hibridização reversa: o produto da PCR foi desnaturado com uma solução de NaOH a 1,6%.

Após a desnaturação, o material foi aplicado em uma tira de *nylon* contendo sondas imobilizadas para duas concentrações diferentes de β -globina, 18 genótipos de HPV de alto risco oncogênico (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 68, 73, 82 e 83) e 9 tipos de HPV de baixo risco oncogênico (6, 11, 40, 42, 53, 54, 57, 66 e 84). A presença de híbridos na tira foi visualizada por um sistema de precipitação de cor nas linhas contendo sondas específicas para os diferentes genótipos do HPV após a adição de um conjugado de estreptavidina-peroxidase e o respectivo substrato (figura 8).

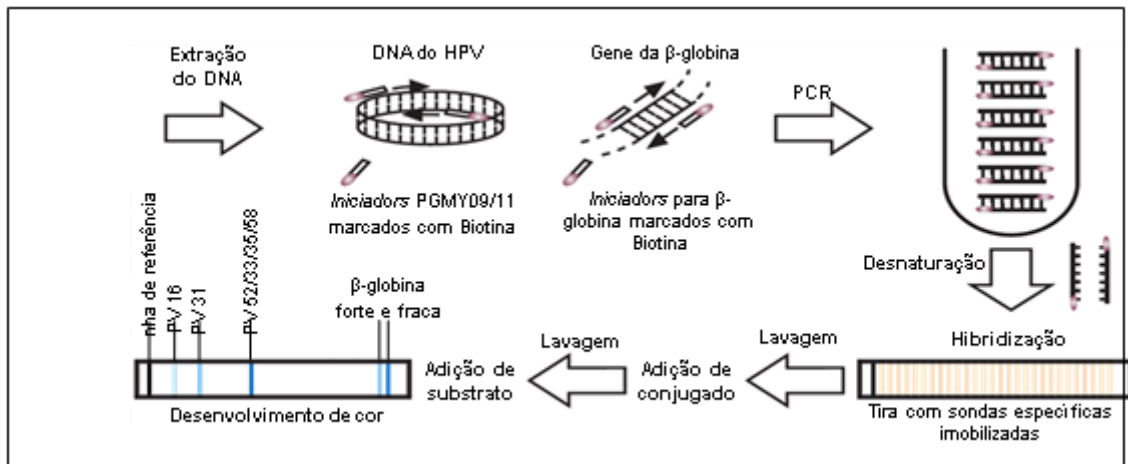


Figura 8 – Representação esquemática das principais etapas envolvidas na genotipagem do HPV através da hibridização reversa do produto da PCR baseada no sistema de iniciadores PGMY09/11 marcados com biotina. Fonte: Adaptado de Shepard et al. (2004).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do programa estatístico *Biostat 5.0*. Inicialmente foram feitas as tabelas de frequências das variáveis sociodemográficas e comportamentais. A distribuição de prevalência do HPV, a frequência da infecção pelo HPV nos diferentes resultados citológicos de acordo com a faixa etária e a distribuição dos genótipos do HPV nos diferentes resultados citológicos foram estabelecidas. Foi calculado o Odds ratio (OR) com os respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%) e nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$) para verificar a magnitude de associação entre a infecção por HPV nos diferentes grupos etários e a detecção de anormalidades citológicas. A associação entre fatores de risco sociodemográficos e comportamentais com a detecção de HPV e o diagnóstico de anormalidades citológicas também foi avaliada Odds ratio (OR) com os respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%) e nível de significância estatística de 5% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

Foram incluídas 353 mulheres no estudo, sendo 28,0% (99/353) com idade inferior a 30 anos; 24,9% (88/353) com idade entre 31 e 40 anos; 20,3% (72/353) com idade entre 41 e 50 anos; 16,7% (59/353) com idade entre 51 e 60 anos e 9,9% (35/353), idade superior a 60 anos. Em relação à escolaridade, mulheres que cursaram o ensino fundamental, ensino médio e ensino superior representaram, respectivamente, 64,3% (227/353), 17,5% (62/353) e 2,5% (9/353) dos casos. Mulheres analfabetas corresponderam a 15,5% (55/353) do total dos casos. Quanto ao estado civil, 31,4% (111/353) corresponderam às mulheres solteiras; 60,0% (212/353) às mulheres casadas; 1,6% (6/353) às mulheres divorciadas e 6,7% (24/353) às mulheres viúvas (Tabela 1).

Tabela 1 – Características sociodemográficas de 353 mulheres quilombolas do Maranhão - Brasil.

Características	n (%)
Idade (anos)	
< 30	99 (28,0)
31-40	88 (24,9)
41-50	72 (20,3)
51-60	59 (16,7)
> 60	35 (9,9)
Escolaridade	
Analfabeta	55 (15,5)
Ensino Fundamental	227 (64,3)
Ensino Médio	62 (17,5)
Ensino Superior	09 (2,5)
Estado Civil	
Solteira	111 (31,4)
Casada	212 (60,0)
Divorciada	06 (1,6)
Viúva	24 (6,7)

A Tabela 2 mostra as características comportamentais, sendo mais prevalentes mulheres que iniciaram atividade sexual com 15 anos ou mais (61,1,0% 216/353); que tiveram mais de um parceiro sexual (57,2% 202/353); com idade da menarca superior a 12 anos (59,4% 210/353); com mais de uma gestação (84,1%, 297/353); sem sinais de DST (71,6% 253/353); sem uso de contraceptivo (82,1% 290/353); que realizaram higiene vaginal mais de uma vez ao dia (91,7% 324/353); que já haviam realizado exame citopatológico de Papanicolaou (86,1% 304/353); que apresentaram colo normal (54,9% 194/353); que não fumavam (91,7% 324/353) e que não faziam uso de bebida alcoólica (62,6% 221/353).

Tabela 2 – Características comportamentais de 353 mulheres quilombolas do Maranhão.

Variável	n (%)
Início da atividade sexual	
≤ 15 anos	137 (38,8)
> 15 anos	216 (61,1)
Número de parceiros	
Um	151 (42,7)
Mais de Um	202 (57,2)
Idade da menarca	
≤ 12 anos	143 (40,5)
> 12 anos	210 (59,4)
Nº gestações	
Até uma	56 (15,8)
Mais de uma	297 (84,1)
Sinais de DST	
Não	253 (71,6)
Sim	100 (28,3)
Uso de contraceptivo	
Sim	63 (17,8)
Não	290 (82,1)
Frequência de higiene	
Uma vez por dia	29 (8,2)
Mais de uma vez por dia	324 (91,7)
Realização de exame Papanicolaou	
Não	49 (13,8)
Sim	304 (86,1)
Inspeção do colo	
Alterado	159 (45,0)
Normal	194 (54,9)
Tabagista	
Sim	29 (8,2)
Não	324 (91,7)
Etilista	
Sim	132 (37,3)
Não	221 (62,6)

Entre as 353 mulheres analisadas, 93% (328/353) tiveram diagnóstico negativo para lesão intraepitelial escamosa ou malignidade e 7 % apresentaram anormalidades citológicas, variando entre os diagnósticos de ASC-US e HSIL. (Figura 9).. Anormalidades em células epiteliais foram encontradas em 7,1% (25/353) dos casos. Estes diagnósticos incluíram 28% (7/25) de ASC-US, 24% (6/25) de LSIL, 32% (8/25) de HSIL e 16% (4/25) de ASC-H (figura 10)

A prevalência total de HPV foi de 13% (Figura 11). Considerando as mulheres que apresentaram anormalidades citológicas, 11/25 (44%) foram positivas para HPV. Dos diagnósticos de inflamação, 35 (10,7%) casos foram positivos para HPV. Das 7 pacientes diagnosticadas com ASC-US, 1 (14,2%) foi positiva para infecção por HPV. Das 6 pacientes que apresentaram LSIL, 2 (33,3%) tinham infecção por HPV. Para os diagnósticos de ASC-H e HSIL, a taxa de infecção encontrada foi, respectivamente, de 50% (2/4) e 75% (6/8) (Tabela 3).

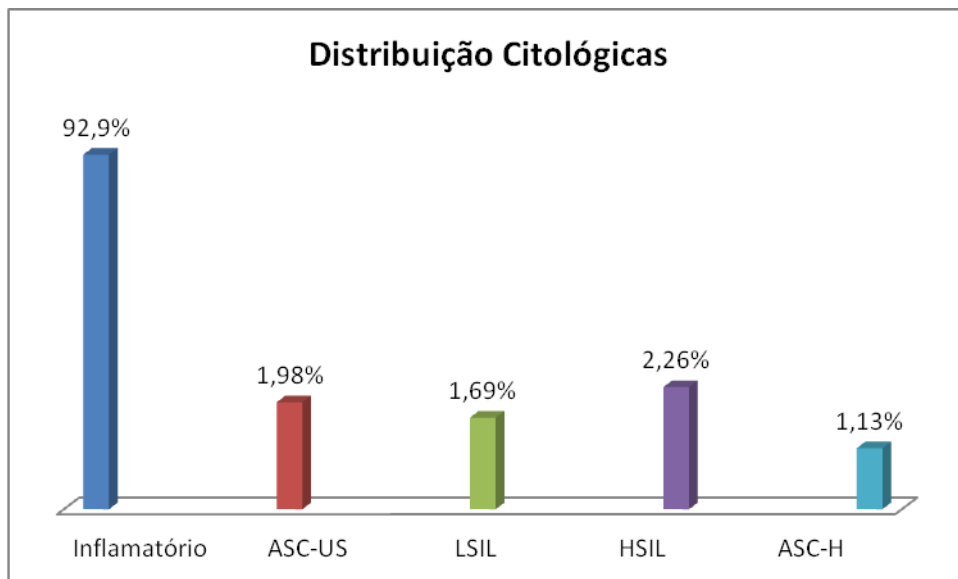


Figura 9 – Resultado de citologia cervical observados em 353 amostras coletadas de mulheres quilombolas usuárias do SUS em município do Maranhão.

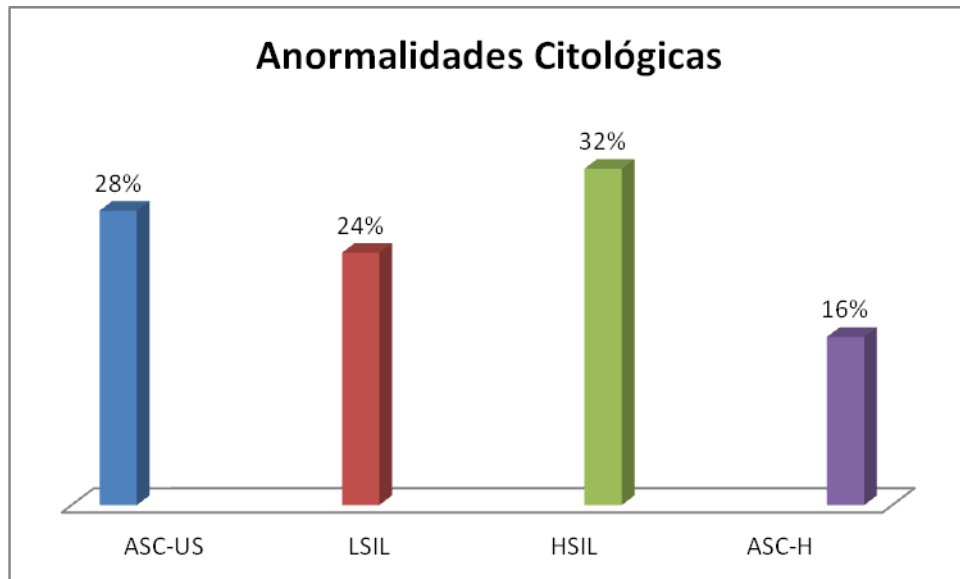


Figura 10 – Distribuição das anormalidade citológicas 25/353 amostras

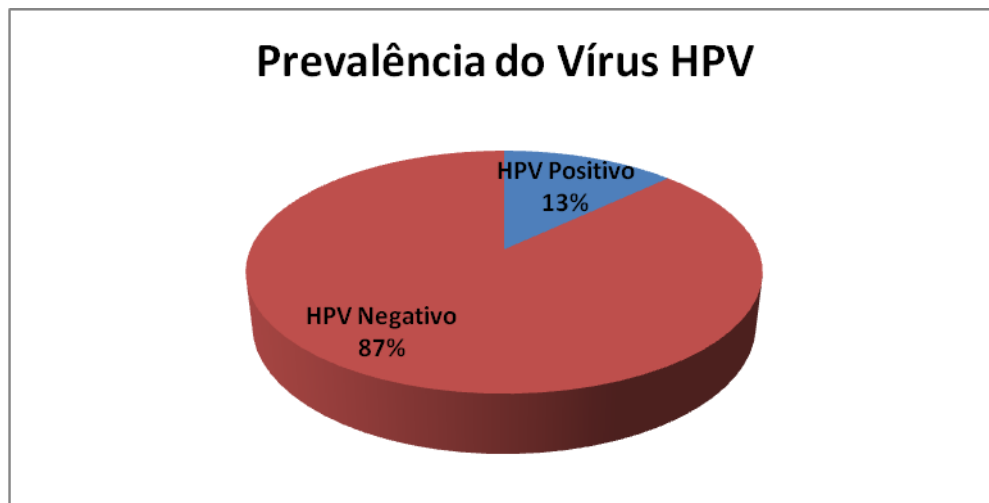


Figura 11 – Prevalência total de HPV nas 353 amostras

Tabela 3 – Prevalência de HPV nas amostras com resultados de anormalidades citológicas em mulheres quilombolas.

Anormalidades Citológicas	Infecção por HPV		
	Positivo n (%)	Negativo n (%)	Total n (%)
Inflamatório	35 (10,7)	293 (89,3)	328 (100,0)
ASC-US	1 (14,2)	6 (85,8)	7 (100,0)
LSIL	2 (33,4)	4 (66,6)	6 (100,0)
ASC-H	2 (50,0)	2 (50,0)	4 (100,0)
HSIL	6 (75,0)	2 (25,0)	8 (100,0)
Total	46 (13,0)	307 (87,0)	353 (100,0)

ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; ASC-H: atypical squamous cells can not exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high grade alto squamous intraepithelial lesion;

A Figura 12 mostra a distribuição dos tipos de vírus HPV na população estudada. Os genótipos 68 (24,2% - 11/46); 58 (19,8% - 9/46); 52 e 31 (10,8% - 5/46 cada) e 62 (8,8% - 4/46) foram os mais prevalentes. Apenas 6,6% (3/46) dos casos foram positivos para o HPV-61. Os genótipos 73, 70, 54, 53, 45, IS39 e 18 representaram individualmente 4,4% (2/46) do total de casos. Os tipos CP6-108, 84, 72, 71, 66, 59, 56, 55, 51, 39, 33, e 16 representaram individualmente 2,2% (1/46) do total de casos.

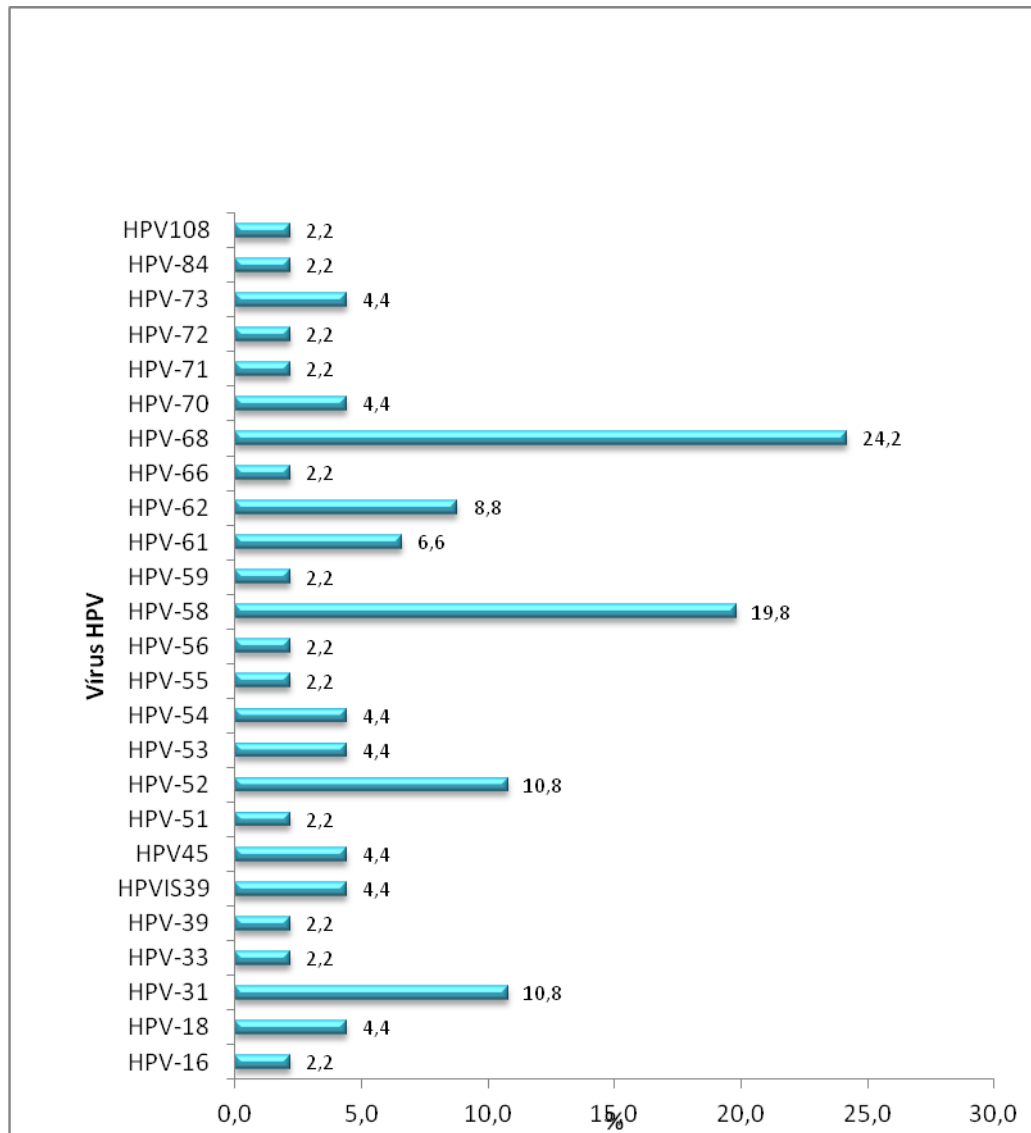


Figura 12 – Distribuição dos tipos de HPV

Em relação à presença de HPV nos diferentes resultados citológicos, os tipos de alto risco oncogênico foram mais frequentes (78,3% 36/46) que os de baixo risco oncogênico (21,7%-10/46). Em mulheres que não apresentaram anormalidades citológicas, infecções virais, tanto simples quanto múltiplas, foram detectadas em 10,7% (35/328) dos casos. Para aquelas diagnosticadas com alguma anormalidade, a prevalência de infecção por HPV foi de 24,0% (11/46), sendo maior nos casos de HSIL (75,0%), seguida por ASC-H (50%), LSIL (33,4%) e ASC-US (14,3%). Em todos os diagnósticos, as infecções simples foram mais frequentes que as múltiplas.

O tipo 68, em infecções simples ou múltiplas, foi detectado exclusivamente em mulheres cujos esfregaços foram considerados como inflamatórios. Nove outros tipos de HPV de alto risco oncogênico (31, 18, 45, 70, 39, 56, 59, 66 e 53) também foram identificados em mulheres com esfregaços considerados como inflamatórios ou negativos para neoplasia. Outras seis infecções por HPV de baixo risco oncogênico (54, 61, 62, 72, 84) foram detectadas em mulheres com esfregaços inflamatórios. Mulheres com diagnóstico de ASC-US e LSIL mostraram infecções por HPV de baixo risco oncogênico (HPV 62) e por tipos de alto risco oncogênico (HPV 31 e HPV 52). Os tipos de HPV de alto risco 58, 52, 18 e 16 foram detectados em mulheres quilombolas com diagnóstico citológico de HSIL (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição dos genótipos do HPV nos resultados citológicos de mulheres quilombolas do Maranhão

Tipos de HPV	Anormalidades Citológicas										Total
	Negativo		ASC-US		LSIL		ASC-H		HSIL		
	Simp	Múltip	Simp	Múltip	Simp	Múltip	Simpl	Múltip	Simp	Múltip	
HPV-Alto risco	n%	n%	n%	n%	n%	n%	n%	n%	n%	n%	n%
68	5(1,5)	6(1,8)	-	-	-	-	-	-	-	-	11(3,1)
58	4(1,3)	3(0,9)	-	-	-	-	-	-	1(12,5)	1(12,5)	9(2,5)
52	-	-	1(14,3)	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
31	2(0,6)	-	-	-	-	1(16,7)	-	-	-	-	3(0,86)
18	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	1(12,5)	-	2(0,57)
45	2(0,6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2(0,57)
70	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
73	-	-	-	-	-	-	1(25,0)	-	-	-	1(0,28)
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(12,5)	1(0,28)
39	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
56	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
59	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
66	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
33	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
HPV-Baixo risco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IS39	-	-	-	-	-	-	1(25,0)	-	1(12,5)	-	2(0,57)
54	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
61	2(0,6)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2(0,57)
62	2(0,6)	-	-	-	1(16,7)	-	-	-	-	-	3(0,86)
72	1(0,3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(0,28)
84	-	-	-	-	-	-	-	-	1(12,5)	-	1(0,28)
Total de Positivos	35(10,6)		1(14,3)		2(33,4)		2(50)		6(75)		46(13,1)
Total de Negativos	293(89,4)		6(85,7)		4(66,6)		2(50)		2(25)		307(86,9)
Total	328(100,0)		7(100,0)		6(100,0)		4(100,0)		8(100,0)		353(100,0)

* Entre as 6 infecções múltiplas do vírus 68, 3 estavam associadas ao tipo 52.

A Tabela 5 mostra a prevalência de HPV nos diferentes resultados citológicos, estratificados por faixa etária. Em mulheres com idade inferior a 30 anos, a positividade para o HPV variou entre 15,0% (14/93) nas pacientes com esfregaços considerados inflamatórios e 100% nos de LSIL e HSIL. Houve uma associação limítrofe entre a positividade para o HPV e a detecção de anormalidades citológicas nesta faixa etária ($p=0,06$). A positividade para o HPV foi significativamente associada à detecção de anormalidades citológicas na faixa etária de 30 a 40 anos ($OR = 7,40$; $IC: 1,07-51,19$; $p = 0,03$). As pacientes HPV positivas, na faixa etária de 41 a 50 anos, não mostraram associação estatisticamente significativa com a detecção de anormalidades citológicas ($OR = 5,0$; $IC: 0,51-44,91$; $p = 0,12$). Em pacientes com idade entre 51 e 60 anos, a positividade para o HPV foi de 8,9% (5/56) nos esfregaços considerados inflamatórios e de 66,6% (2/3) nos casos de HSIL. Nesta faixa etária, as mulheres HPV positivas apresentaram 20,4 vezes mais chance de serem diagnosticadas com HSIL ($OR = 20,4$; $IC: 1,12-704,69$; $p = 0,03$) quando comparadas a mulheres negativas para a infecção por HPV. As pacientes HPV-positivas, na faixa etária acima de 60 anos, não mostraram associação estatisticamente significativa com a detecção de anormalidades citológicas ($OR = 7,25$; $IC: 0,01-351,91$; $p = 0,37$).

Tabela 5 – Prevalência de HPV nos diferentes resultados citológicos de acordo com a faixa etária na população estudada.

Resultado citológico	Detecção do HPV		OR 95% IC	P
	Positivo	Negativo		
	n (%)	n (%)		
Faixa etária (< 30 anos)				
Inflamatório	14 (15,0)	79 (85,0)	1	0,06
ASC-US	-	3 (100,0)	5,64	
LSIL	1 (100,0)	-	0,80-40,39	
ASC-H	-			
HSIL	2 (100,0)	-		
Total	17 (17,1)	82 (82,8)		
Faixa etária (31- 40 anos)				
Inflamatório	6 (7,5)	74 (92,5)	1	0,03
ASC-US	-	2 (100,0)	7,40	
LSIL	1 (25,0)	2 (75,0)	1,07-51,19	
ASC-H	2 (100,0)	-		
HSIL	-	1 (100,0)		
Total	9 (10,2)	79 (89,7)		
Faixa etária (41-50 anos)				
Inflamatório	6 (9,0)	60 (90,9)	1	0,12
ASC-US	-	1 (100,0)	5,0	
LSIL	-	1 (100,0)	0,51-44,91	
ASC-H	-	2 (100,0)		
HSIL	2 (100,0)	-		
Total	8 (10,9)	65 (89,0)		

Tabela 5 (Cont.)

	Detecção do HPV		OR 95% IC	P
Resultado citológico	Positivo	Negativo		
	n (%)	n (%)		
Faixa etária (51 - 60 anos)				
Inflamatório	5 (8,9)	51 (91,0)	1	0.03
ASC-US	-	-		
LSIL	-	-	20.40	
ASC-H	-	-	1.12-704,69	
HSIL	2 (66,6)	1 (33,3)		
Total	7 (11,1)	56 (88,8)		
Faixa etária (> 60 anos)				
Inflamatório	4 (12,1)	29 (87,8)	1	0,37
ASC-US	1 (100,0)	-		
LSIL	-	1 (100,0)	7,25	
ASC-H	-	-	0,01-351,91	
HSIL				
Total	5 (14,2)	30 (85,7)		

OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; ASC-H: atypical squamous cells can not exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high grade alto squamous intaepithelial lesion;

A Tabela 6 descreve a associação entre as variáveis comportamentais e a positividade para o HPV na análise univariada dos fatores preditores para a infecção viral. Nenhuma das variáveis analisadas (início da atividade sexual, número de parceiros, idade da menarca, número de gestações, sinais de DST, uso de Contraceptivo, frequência de higiene, realização de exame de Papanicolaou, resultado da inspeção do colo) mostrou associação significativa com a positividade para HPV.

Tabela 6 – Análise univariada de fatores preditores associados à infecção pelo HPV em mulheres quilombolas do Maranhão.

Variáveis Comportamentais	HPV				
	Positivo	Negativo	(OR - IC95%)		P
	n (%)	n (%)	n (%)		
Início ativid. sexual					
≤15 anos	22 (16,0)	115 (83,9)	1,53	(0,79-2,98)	0,17
>15 anos	24 (11,1)	192 (88,8)			
Número de parceiros					
Um	19 (12,5)	132 (87,4)	1,07	(0,55-2,11)	0,81
Mais de um	27 (13,3)	175 (86,6)			
Idade da Menarca					
≤ 12 anos	21 (14,6)	122 (85,3)	1,27	(0,65-2,48)	0,44
> 12 anos	25 (11,9)	185 (88,0)			
Número de gestações					
Até uma	4 (7,1)	52 (92,8)	2,14	(0,69-7,36)	0,15
Mais de uma	42 (14,1)	255 (85,8)			
Sinais de DST					
Não	32 (12,6)	221 (87,3)	1,00	(0,48-2,04)	0,99
Sim	14 (14,0)	97 (86,0)			
Uso de Contraceptivo					
Sim	06 (9,5)	57 (90,4)	0,66	(0,24-1,32)	0,30
Não	40 (13,7)	250 (86,2)			
Frequência de Higiene					
Uma vez	01 (3,4)	28 (96,5)	0,22	(0,02-1,58)	0,08
Mais de uma vez	45 (13,8)	279 (86,1)			
Exame de Papanicolaou					
Não	08 (16,3)	41 (83,6)	1,37	(0,54-3,32)	0,46
Sim	38 (12,5)	266 (87,5)			
Inspeção do Colo					
Alterado	25 (15,7)	134 (84,2)	1,54	(0,79-3,00)	0,17
Normal	21 (10,8)	173 (89,1)			

A Tabela 7 descreve a associação entre os fatores comportamentais e relativos à infecção por HPV e a detecção de anormalidades citológicas. As mulheres HPV-positivas mostraram 6,5 vezes mais chances de serem diagnosticadas com anormalidades citológicas (OR = 6,57; IC: 2,772-15,606; $p = 0,001$). As demais variáveis analisadas (início da atividade sexual, número de parceiros, idade da menarca, número de gestações, sinais de DST, uso de contraceptivo, frequência de higiene, realização de exame de Papanicolaou, resultado da inspeção do colo) não mostraram associação significativa com a detecção de anormalidades citológicas.

Tabela 7 – Associação de fatores de risco comportamentais com anormalidades citológicas.

Variáveis Comportamentais de Anormalidades citológicas	Anormalidades Citológicas + n (%)	Anormalidades Citológicas - n (%)	(OR - IC95%) n (%)	P
Início Ativid. Sexual				
≤15 anos	9 (6,5%)	128 (93,4%)	0,878 (0,377-2,048)	0,93
>15 anos	16 (7,4%)	200 (92,5%)		
Número de parceiros				
Um	10 (6,6%)	141 (93,3%)	1,13 (0,46-2,80)	0,93
Mais de um	15 (7,4%)	187 (92,5%)		
Idade da Menarca				
≤ 12 anos	14 (9,7)	129 (90,2)	1,96 (0,864-4,458)	0,15
> 12 anos	11 (5,2)	199 (94,7)		
Número de gestações				
Até uma	2 (3,5%)	54 (96,4%)	2,57 (0,50-14,3)	0,40
Mais de uma	23 (7,7%)	274 (92,2%)		
Sinais de DST				
Não	18 (7,1%)	235 (92,8%)	0,98 0,36-2,60	0,84
Sim	7 (7,0%)	93 (93,0%)		
Uso de Contraceptivo				
Sim	5 (7,9%)	58 (92,0%)	1,16 (0,37-3,46)	0,98
Não	20 (6,8%)	270 (93,1%)		
Frequência de Higiene				
Uma vez	3 (10,3%)	26 (89,6%)	1,58 (0,35-6,1)	0,73
Mais de uma vez	22 (6,7%)	302 (93,2%)		
Exame de Papanicolaou				
Não	03 (6,1%)	46 (93,8%)	0,84 (0,19-3,11)	0,98
Sim	22 (7,2%)	282 (92,7%)		
Inspeção do Colo				
Alterado	12 (7,5%)	147 (92,4%)	1,14 (0,47-2,57)	0,92
Normal	13 (6,7%)	181 (93,2%)		
Anormalidades e HPV				
HPV Positivo	11 (22,0%)	35 (78,0%)	6,57 (2,77-15,60)	< 0,001
HPV Negativo	14 (4,2%)	293 (95,7%)		

Artigo Submetido à revista: INTERNATIONAL JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES

Human Papillomavirus (HPV) 68 and 58 are the most prevalent genotypes in women from Quilombo Communities in the state of Maranhão , Brazil

José Eduardo Batista^{a*}, Vera Aparecida Saddi^c, Maria do Desterro S. B. Nascimento^a, Andréa Alves Ribeiro^b, Kelly Deyse Segati^b, Megmar Aparecida dos S. Carneiro^b, Silvio G. Monteiro^{d,e}, Valério Monteiro-Neto^{a,d}, Silvia Helena Rabelo-Santos^{b,f}

^a *Department of Pathology, Federal University of Maranhão, São Luís-MA, Brazil*

^b *Institute of Tropical Pathology and Public Health - Federal University of Goiás, Goiânia-GO, Brazil*

^c *Pontifical Catholic University of Goiás, Goiânia-GO, Brazil*

^d *Health Sciences Center, CEUMA University, São Luís-MA, Brazil*

^e *Department of Biological Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís-MA, Brazil*

^f *School of Pharmacy, Federal University of Goiás, Goiânia-GO, Brazil*

* Corresponding author:

José Eduardo Batista

Department of Pathology, Biological and Health Sciences Center, Federal University of Maranhão, Avenida dos Portugueses SN, CEP: 65025-560, São Luís-MA, Brazil.

Telephone: +55 98 3272 9591

E-mail address: jbatistaufma@gmail.com

Abstract

Objectives: to determine the frequency of Human papillomavirus (HPV) types and behavioral characteristics related to cytological abnormalities in women descendants of slaves, who live in isolated communities known as *Quilombos* in the state of Maranhão, Brazil.

Methods: Cervicovaginal specimens of 353 women were analyzed by conventional cytology and genotyping. HPV detection and genotyping was performed using a Linear Array HPV genotyping test kit. Behavioral factors and their association with cytological abnormalities were analyzed as well as the association between cytological abnormalities and HPV infection

Results: The prevalence of HPV infection was 13%, and infection by high-risk HPV types was the most frequent (78%). The most prevalent genotypes were HPV 68 (24%), HPV 58 (20%), HPV 52, HPV 31 (10.8%) and HPV 62 (8.8%). There was a significant association between HPV infection and the presence of cytological abnormalities in women 31-40 years of age and in women 51-60 years of age.

Conclusions: A distinct profile of high-risk HPV genotypes was detected, with predominance of types 68 and 58. It is possible that the results of the present study are due to specific characteristics of the population, which is geographically isolated and maintains conservative sexual habits.

Keywords: HPV types, Infection of the genital tract, Cervical smear, Epidemiology, Isolated Communities

1. Introduction

Genital tract infection by Human papillomavirus (HPV) is highly prevalent worldwide and is considered the most common sexually transmitted disease (STD). HPV infection is typically acquired at the beginning of an individual's lifetime sexual activity period^{1, 2}. It is believed that the great majority of sexually active women contract one or more HPV infections during their lives², and it is suggested that the prevalence of infection depends on age and is higher in women under 25 years of age^{3, 4}. The observed decrease in the average HPV infection rate associated with increasing age most likely result from a combination of decreased HPV exposure, the self-limiting nature of most infections and resistance to reinfection⁴.

Currently, more than 200 HPV genotypes are recognized based on their DNA sequences. Of those, approximately 40 display tropism for the anogenital tract⁴, and more than 20 HPV genotypes are associated with cervical cancers. Several years elapse between infection by high-risk oncogenic HPV and the development of cervical cancer, reinforcing the idea that the cervical carcinogenesis induced by the virus follows a multi-stage pattern⁵. A meta-analysis of a systematic literature review, which included 78 studies with 157,879 women in populations from 15 areas of the world, found that HPV 16 is among the five most common HPV types in HPV-positive women, followed by HPV 18, HPV 31, HPV 58 and HPV 52; together, these five types represent 50% of all HPV infections.

In Japan, Taiwan and East Africa, HPV 52 is the most common type. HPV 18 is the most frequent type everywhere else except in southern Europe, and HPV 53 and 58 are among the most common HPV types found in women in East Africa and North and Central America⁶. In Brazil, HPV 16 is the most prevalent type in all regions of the country. HPV 18 is the second most prevalent type in the North, Southeast, and South regions of Brazil. In the Midwest and Northeast regions of the country, HPV 33 and HPV 31, respectively, are the second most prevalent types⁷.

There are three types of HPV infection: latent, productive and transformant. During latent infection, a low number of copies of the episomal form of the viral genome is maintained in cells of the proliferative layer, especially reservoir cells present in metaplastic areas⁸. In productive infection, which is mainly characterized cytologically as low-grade intraepithelial squamous lesions and as grade 1 cervical intraepithelial neoplasia (CIN 1) on histopathological examination, viral replication and the production of virions are strongly

associated with epithelial differentiation; thus, abnormalities are observed in mature cells ⁹. In transformants infections, which are usually characterized as high-grade intraepithelial squamous lesions in cytology and as CIN 2 and CIN 3 in histopathology, there is a considerable increase in the expression of the E6 and E7 proteins, resulting in genetic instability ⁵.

In Brazil, many slaves who escaped or were released began to live in communities isolated from urban centers. These communities, which were called *Quilombos*, still exist. The current inhabitants of these communities, the *quilombolas*, represent ethnic and racial groups with characteristic behavioral features, including geographic isolation, specific territorial relationships, conservative habits, and monogamous relationships only between *Quilombo* members. In addition, the quality of life in these communities is generally poor, and poverty, low educational level, difficulty in accessing general services, hunger, malnutrition, occupational and social violence risks, morbidity and mortality occur at higher rates than are recorded at the national level ^{10, 11}.

The literature includes limited data on the health of *Quilombo* communities, especially on the prevalence of specific HPV types and cytological abnormalities among women in these communities. Thus, we emphasized the importance of conducting research involving this social group given that there is a disparity in local healthcare attention to this population compared to the general population of Brazil ¹⁰. Therefore, the present study aimed to determine the frequency of HPV genotypes and relate them to sociodemographic behavioral characteristics of the population and to cytological abnormalities present in cervical smears of women from *quilombo* communities in the state of Maranhão, Brazil.

2. Materials and methods

2.1. Study design and sample collection

The present investigation is a cross-sectional study. The location was the rural quilombola community of the east coast, a remnant of a *Quilombo* formed by the municipalities of Alcântara, Bequimão, Central do Maranhão and Mirinzal, State of Maranhão, Northeastern Brazil. The communities were certified by the Palmares Foundation and are approximately 30 km from the capital. In total, 395 women were selected, of whom 42 were excluded due to DNA degradation, or unsatisfactory cervicovaginal smears. The inclusion criteria were women 15 to 75 years of age from the municipalities of the east coast of Maranhão in the mentioned communities and living and registered in the areas covered by family health teams. Pregnant and hysterectomized women and women who had any mental impairment that would prevent their understanding and answering the specific questionnaire

were excluded from the study. The women were informed of the purpose of the project and invited to participate. Those who agreed to participate answered a standardized questionnaire and signed an informed consent form. Women with abnormal cytological results were conducted according to guidelines of management standardized by the health ministry in Brazil.

2.2. Cytological examination

The smears were stained using the Papanicolaou method and analyzed in the Center for Clinical Analysis Rômulo Rocha (Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha) of the School of Pharmacy of the Federal University of Goiás (Universidade Federal de Goiás - UFG). All smears were subjected to the strict quality control procedures adopted by the aforementioned laboratory, which were performed through a quick review of all negative smears and a detailed review of unsatisfactory smears and of smears that were suspected or positive for cytological abnormalities. The results regarding the suitability of samples and degree of cervical abnormalities were interpreted according to the cytological criteria defined in the Bethesda System ¹².

2.3. Sample processing

DNA extraction was performed using commercial reagents; the method is based on the selective binding of DNA to a silica membrane in the presence of chaotropic salts (PureLink™, Invitrogen). HPV amplification and genotyping was carried out by using the Roche polymerase chain reaction (PCR)-based Linear Array® HPV genotyping test (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, USA). HPV DNA was amplified using the L1 consensus biotinylated PGMY09/PGMY11 primer set in a thermal cycler at 95 °C for 13 min, followed by desaturation for 1 min at 95 °C, annealing for 1 min at 55 °C, and extension at 72 °C for 1 min for a total of 40 cycles. Amplification was followed by a 5-min terminal extension step at 72 °C. Biotinylated GH20 and PC04 primers to the β -globin gene were used as amplification control. PCR products were denatured in 1.6 % sodium hydroxide (NaOH) and hybridized to an immobilized probe array containing probes for β -globin at 2 concentrations plus 37 HPV genotypes. One of groups included the HPV types 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73 and 82. The other group included the HPV types 6, 11, 40, 42, 54, 55, 61, 62, 64, 67, 70, 71, 72, 81, 83, 84, IS39 and CP6108. Positive hybridization was detected by streptavidin-horseradish peroxidase-mediated color precipitation on the membrane at the probe array. Each experiment included controls for extraction and PCR contamination as well as know positive HPV samples to control the performance of the methods.

2.3. Statistical analysis

Given that information regarding the number of inhabitants in a location consists of discrete data, sample size was calculated as previously described¹³. The population size was defined based on a survey of the number of families in the studied area (13,333) combined with recommendations of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE), which defines an average of four people per family. Thus, the estimated total population was 53,332 inhabitants, and the sample size to be evaluated was set at 353 women. The data were analyzed using the statistical software BioEstat 5.0. Initially, tables were constructed showing the frequencies of behavioral variables, the distribution of prevalence of the HPV virus, the frequency of HPV infection associated with different cytological results according to age group and the distribution of HPV genotypes associated with different cytological results. Subsequently, using the non-parametric chi-square independence test, the association of cytological abnormalities with age groups was evaluated. The odds ratio (OR) and the 95% confidence interval were calculated.

3. Results

In total, 353 women were included in the study; 28.0% (99/353) were less than 30 years of age, 24.9% (88/353) were between 31 and 40 years of age, 20.3% (72/353) were between 41 and 50 years of age, 16.7% (59/353) were between 51 and 60 years of age, and 9.9% (35/353) were over 60 years of age. Women who finished elementary school, high school and higher education represented 64.3% (227/353), 17.5% (62/353) and 2.5% (9/353) of cases, respectively. Illiterate women corresponded to 15.5% (55/353) of the total cases. With respect to marital status, 31.4% (111/353) were single, 60.0% (212/353) were married, 1.6% (6/353) were divorced, and 6.7% (24/353) were widowed (data not shown).

In the analysis of behavioral factors associated with HPV infection and the detection of cytological abnormalities, it was found that HPV-positive women were 6.5 times more likely than HPV-negative women to be diagnosed with cytological abnormalities (OR = 6.58; CI: 2.55-16.91; $p = 0.001$). None of the other variables analyzed (age at onset of sexual activity, number of partners, age at menarche, number of gestations, contraceptive use or Pap smear) showed a significant association with the detection of cytological abnormalities (Table 1).

The total prevalence of HPV was 13%. Among women who exhibited cytological abnormalities, 11 (44%) were positive for HPV. Of women with diagnoses of inflammation, 35 (10.6%) were positive for HPV. Of the seven patients diagnosed with atypical squamous

cells of undetermined significance (ASC-US), one (14.2%) was positive for HPV infection. Of the six patients with low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL), two (33.3%) were infected with HPV. For patients with ASC-H (atypical squamous cells for which high-grade squamous intraepithelial lesions could not be excluded) or high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), the infection rates found were 50% (2/4) and 75% (6/8), respectively (Table 2).

The HPV genotypes 68 (24.2% - 11/46), 58 (19.8% - 9/46), 52 and 31 (10.8% - 5/46 each), 62 (8.8% - 4/46) and 61 (6.6% - 3/46) were the most prevalent. Genotypes 73, 70, 54, 53, 45, IS39 and 18 each represented 4.4% (2/46) of the total number of cases. Genotypes CP6-108, 84, 72, 71, 66, 59, 56, 55, 51, 39, 33, and 16 each represented 2.2% (1/46) of the total number of cases (Figure 1).

High-oncogenic-risk genotypes were more frequent (78.3%, 36/46) than low-oncogenic-risk genotypes (21.7%-10/46). Considering positive HPV cases in women who did not exhibit cytological abnormalities, viral infections, both simple and multiple, were detected in 30.4% (14/46) of cases. Among women diagnosed with any abnormality, the prevalence of HPV infection was 24.0% (11/46), being highest in HSIL cases (75.0%), followed by ASC-H (50%), LSIL (33.4%) and ASC-US (14.3%) (Table 3).

In all cases, simple infections were more frequent than multiple infections. Simple or multiple infections of type 68 were exclusively detected in women whose smears were considered inflammatory. Nine other high-oncogenic-risk HPV types (31, 18, 45, 70, 39, 56, 59, 66 and 53) were also found in women whose smears were classified as inflammatory. Another six low-oncogenic-risk HPV types (54, 61, 62, 72, and 84) were detected in women with inflammatory smears. Women diagnosed with LSIL exhibited infection by low-oncogenic-risk HPV types (HPV 62), and those with ASC-US and LSIL were infected by high-oncogenic-risk HPV types (HPV 52 and HPV 31). High-risk HPV types 58, 18 and 16 were detected in quilombola women with cytological diagnosis of HSIL (Table 3).

In women under 30 years of age, the positive results for HPV ranged from 15.0% (14/93) in those with smears considered inflammatory to 100% in those with LSIL and HSIL. There was a borderline association between positive HPV results and the detection of cytological abnormalities in this age range ($p = 0.06$). Positive results in the HPV test were significantly associated with the detection of cytological abnormalities in women 31 to 40 years of age ($OR = 7.40$; $CI: 1.07-51.19$; $p = 0.03$). Patients 41 to 50 years of age who tested positive for HPV did not show a significant association with cytological abnormalities ($OR = 5.0$; $CI: 0.51-44.91$; $p = 0.12$).

In patients 51 to 60 years of age, there were 8.9% (5/56) positive results for HPV in smears considered inflammatory and 66.6% (2/3) positive results in HSIL cases. In this age range, women who tested positive for HPV were 20.4 times more likely to have been diagnosed with HSIL (OR = 20.4; CI: 1.12-704.69; $p = 0.03$) than women who tested negative for HPV infection. Positive HPV results in patients over 60 years of age were not significantly associated with the detection of cytological abnormalities (OR = 7.25; CI: 0.01-351.91; $p = 0.37$) (Table 4).

4. Discussion

The total prevalence of HPV in women, regardless of age, may vary according to the technique used and the population and region studied. In the present study, 13% of *quilombolas* women were infected by HPV. This result differs from the results reported by other authors who studied isolated communities. A higher prevalence of HPV (64%) was found in sexually active indigenous Guarani women in the Misiones region in Argentina¹⁴. In a recent study with indigenous populations of the Amazonian Rainforest, the overall prevalence of HPV was 39.7%, but in women from the Yanomami District it reached 45.9%, whereas in women from the Eastern Indigenous District HPV infection was found in 34.5% women¹⁵.

Of the behavioral factors and cytological abnormalities analyzed, HPV infection was the only significant factor. This is most likely due to the characteristics of the studied population, which is geographically isolated, displays conservative habits, and encourages sexual activity only between Quilombo members. In the present study, 46 positive HPV cases were found, with 34 (74%) represented by simple infections and 12 (26%) by infection by multiple HPV types. In a previous study in women from Costa Rica, HPV prevalence was of 26.5%, but only 8.2% represented infection by multiple HPV types¹⁶.

Of the 25 HPV types found in the present study, there was a greater prevalence of HPV 68 (24.2%), followed by HPV 58 (19.8%), HPV 52 and HPV 31 (10.8% each). Although there is a geographical variation in the distribution of some HPV types, HPV 16 and 18 are the most prevalent genotypes in both women with normal cervical cytology and cervical cancer patients worldwide^{6, 17, 18}. The same pattern of genotype prevalence has also been observed in women from indigenous isolated communities in South America countries, such as Argentina, Brazil, and Paraguay^{14, 15, 19, 20}. A plausible explanation for this difference in the genotype profile is that individuals living in *quilombos* maintain conservative sexual

habits, without having sex with people in the general population. Thus, the dynamics in the circulation of HPV types may have been influenced by the absence of miscegenation over the years.

In the *quilombola* population studied here, however, HPV 58 was found only in women without cytological abnormalities. Of the HPV 68 infections found in the present study, five were simple, and six were multiple; of the multiple infections, three were associated with genotype 58. Goldman et al.²¹ observed that the rate of infection by HPV 68 in multiple infections was four times higher than expected, suggesting the existence of an interaction between high-oncogenic-risk HPV types, especially between types 31/68, 51/68 and 33/58²¹. These authors suggested that some genotypes of the virus act as cofactors in infection by other types.

There is evidence of a greater prevalence of HPV infection in young women than in older women^{3,4}. Indeed, in this study, the prevalence of HPV was 36.9% in women under 30 years of age, and the rate decreased with increasing age, being 19.5% in women 31 to 40 years of age, 17.3% in women 41 to 50 years of age, 12.0% in women 51 to 60 years of age and 10.8% in women over 60 years of age. A North American study showed an HPV prevalence rate of 44.8% among women 20 to 24 years of age, 27.4% among women 25 to 29 years of age, 27.5% among women 30 to 39 years of age, 25.2% among women 40 to 49 years of age and 19.6% among women 50 to 59 years of age²². In Vanuatu in the Pacific Islands, a decrease in the HPV infection rate from 46.1% in women over 21 years of age to 15.3% in women over 45 years of age was observed²³. According to Rama et al., the age group most affected by HPV infection was that of women under 25 years of age, with a trend to a new increase after 55 years of age and a greater frequency in women with a greater number of sexual partners²⁴.

The prevalence of HPV infection ranged from 14.2% in ASC-US cases to 33.4% in LSIL, 50% in ASC-H and 75% in HSIL. Guan et al.²⁵ found similar values, reporting 12% HPV infection in women diagnosed with ASC-US, 52% in women with LSIL and 76% in women diagnosed with HSIL²⁵. In our study, there was also a significant association between HPV infection and the diagnosis of cytological abnormalities in the group of women 31 to 40 years of age (OR: 7.40; CI: 1.07-51.19; p: 0.03). The same was found for the group of women 51 to 60 years of age (OR: 20.4; CI: 1.12-704.69; p: 0.03); in these women, only high-grade lesions of the HSIL type were found. These results corroborate the recommendation for HPV testing of women over 30 years of age, who as a group more likely to be carriers of cervical

lesions. The viral types found in women with cytological diagnoses of HSIL were 16, 18, 58, IS39 and 73. Three of these are considered carcinogenic in humans, and type 73 is considered possibly carcinogenic in humans ¹⁸. In contrast, type 68, which is considered most likely carcinogenic in humans, was not present in women with cytological abnormalities in the present study. In this context, it is important to consider the regional differences as well as the type of population studied and its habits.

To our knowledge, the present study provides the first estimate of the prevalence of HPV infection among quilombola women 13 to 84 years of age in Northeastern Brazil. Another important result of the study is the high prevalence of HPV genotypes 68. and 58. Genotype 68 is uncommon in epidemiological surveys worldwide and has not been associated with the presence of cytological abnormalities. These data might be of importance for public health authorities regarding vaccine formulation for isolated communities like a *quilombo*.

5. Contributors

Conceived and designed the experiments: JEB, SHRS. Performed sample collection and interviewed patients: JEB, MDSBN. Carried out laboratory analysis: JEB, AAR, KDR, VAS, MASC. Analyzed the data: JEB, VAS, MASC, SGM, VMN, SHRS. Contributed with reagents, materials, and analytical tools: JEB, SHRS. Wrote the paper: JEB, VMN, SHRS. All authors have read and approved the final version of the manuscript.

Acknowledgments

We are grateful to the health professionals involved in the study, including the team of the Laboratory Rômulo Rocha of Federal University of Goiás for their technical support, and all *quilombola* women who participated in the study. We are grateful to Jordana Martins for assistance in English language.

Funding: This study was supported by the Brazilian government funding agencies: Coordination of Human Resources Improvement of Higher Education (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES- AUXPE-DINTER-2532/2009 (23038045009/2009-64), National Council of Scientific and Technological Development (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq), and the Maranhão State Foundation for Research and Scientific and Technological Development (Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Maranhão, FAPEMA).

Ethical approval: The study was approved by the Ethics and Research Committee of the University Hospital of the Federal University of Maranhão (Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão - HU/UFMA) under nº 233/2011.

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests

References

1. Franceschi S, Herrero R, Clifford GM, Snijders PJ, Arslan A, Anh PT, et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. *Int J Cancer* 2006;**119**:2677-84.
2. Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer* 2007;**7**:11-22.
3. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008;**26 Suppl 10**:K1-16.
4. Garcia-Espinosa B, Nieto-Bona MP, Rueda S, Silva-Sanchez LF, Piernas-Morales MC, Carro-Campos P, et al. Genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with cervical lesions in Bioko, Equatorial Guinea. *Diagn Pathol* 2009;**4**:31.
5. Snijders PJ, Steenbergen RD, Heideman DA, Meijer CJ. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. *J Pathol* 2006;**208**:152-64.
6. de Sanjose S, Diaz M, Castellsague X, Clifford G, Bruni L, Munoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;**7**:453-9.
7. Rabelo-Santos SH, Zeferino L, Villa LL, Sobrinho JP, Amaral RG, Magalhaes AV. Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiania, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;**98**:181-4.
8. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine* 2012;**30 Suppl 5**:F55-70.

9. Wright Jr TC, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002;**287**:2120-29.
10. Brasil. Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2006: Dimensões do Processo Reprodutivo e da Saúde da Criança. 2009, Brasília: Ministério da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2009, p. 298.
11. Coimbra Jr CEA, Santos RV. Saúde, minorias e desigualdade: algumas teias de inter-relações, com ênfase nos povos indígenas no Brasil. *Ciênc saúde coletiva* 2000;**5**:125-32.
12. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda system: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002;**287**:2114-19.
13. Gordon IR. On Sample Size Determination for Discrete Data. University of Melbourne; 1993.
14. Tonon SA, Picconi MA, Zinovich JB, Nardari W, Mampaey M, Badano I, et al. Human papillomavirus cervical infection in Guarani Indians from the rainforest of Misiones, Argentina. *Int J Infect Dis* 2004;**8**:13-9.
15. Fonseca AJ, Taeko D, Chaves TA, Amorim LD, Murari RS, Miranda AE, et al. HPV Infection and Cervical Screening in Socially Isolated Indigenous Women Inhabitants of the Amazonian Rainforest. *PLoS One* 2015;**10**:e0133635.
16. Herrero R, Castle PE, Schiffman M, Bratti MC, Hildesheim A, Morales J, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis* 2005;**191**:1796-807.
17. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal

- women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet* 2005;**366**:991-8.
18. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010;**11**:1048-56.
 19. Mongelos P, Mendoza LP, Rodriguez-Riveros I, Castro A, Gimenez G, Araujo P, et al. Distribution of human papillomavirus (HPV) genotypes and bacterial vaginosis presence in cervical samples from Paraguayan indigenous. *Int J Infect Dis* 2015;**39**:44-9.
 20. Picconi MA, Gronda J, Alonio LV, Villa LL, Sichero L, Miranda S, et al. [Human Papilloma virus in Quechua women from Jujuy with high frequency of cervical cancer: viral types and HPV-16 variants]. *Medicina (B Aires)* 2002;**62**:209-20.
 21. Goldman B, Rebolj M, Rygaard C, Preisler S, Ejegod DM, Lynge E, et al. Patterns of cervical coinfection with multiple human papilloma virus types in a screening population in Denmark. *Vaccine* 2013;**31**:1604-9.
 22. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007;**297**:813-9.
 23. Aruhuri B, Tarivonda L, Tenet V, Sinha R, Snijders PJ, Clifford G, et al. Prevalence of cervical human papillomavirus (HPV) infection in Vanuatu. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012;**5**:746-53.
 24. Rama CH, Roteli-Martins CM, Derchain SF, Longatto-Filho A, Gontijo RC, Sarian LO, et al. [Prevalence of genital HPV infection among women screened for cervical cancer]. *Rev Saude Publica* 2008;**42**:123-30.
 25. Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, de Sanjose S, Franceschi S, et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer* 2012;**131**:2349-59.

Tabela 1. Behavioral characteristics of 353 quilombo women Maranhão

Variable	N	%
Onset of sexual activity		
≤ 15 anos	137	38,8
> 15 anos	216	61,1
Number of partners		
Um	151	42,7
Mais de Um	202	57,2
Age of menarche		
≤ 12 anos	143	40,5
> 12 anos	210	59,4
N^a pregnancies		
Até uma	56	15,8
Mais de uma	297	84,1
STD signs		
Não	253	71,6
Sim	100	28,3
Contraceptive use		
Sim	63	17,8
Não	290	82,1
Frequência de higiene		
Uma vez por dia	29	8,2
Mais de uma vez por dia	324	91,7
Examination achievement Papanicolaou		
Não	49	13,8
Sim	304	86,1
Cervical inspection		
Alterado	159	45,0
Normal	194	54,9
Smoking Cessation		
Sim	29	8,2
Não	324	91,7
Alcoholic		
Sim	132	37,3
Não	221	62,6

Tabela 2. HPV prevalence in the samples with cytological abnormalities in quilombo women Maranhão

Cytological abnormalities	HPV infection					
	Positive		Negative		Total	
	N	%	N	%	N	%
Inflammatory	35	10,7	293	89,3	328	100
ASC-US	1	14,2	6	85,8	7	100
LSIL	2	33,4	4	66,6	6	100
ASC-H	2	50,0	2	50,0	4	100
HSIL	6	75,0	2	25,0	8	100
Total	46	13,0	307	87,0	353	100

ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; ASC-H: atypical squamous cells can not exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high grade alto squamous intaepithelial lesion;

Distribution of types of HPV virus detected in quilombo women Maranhão

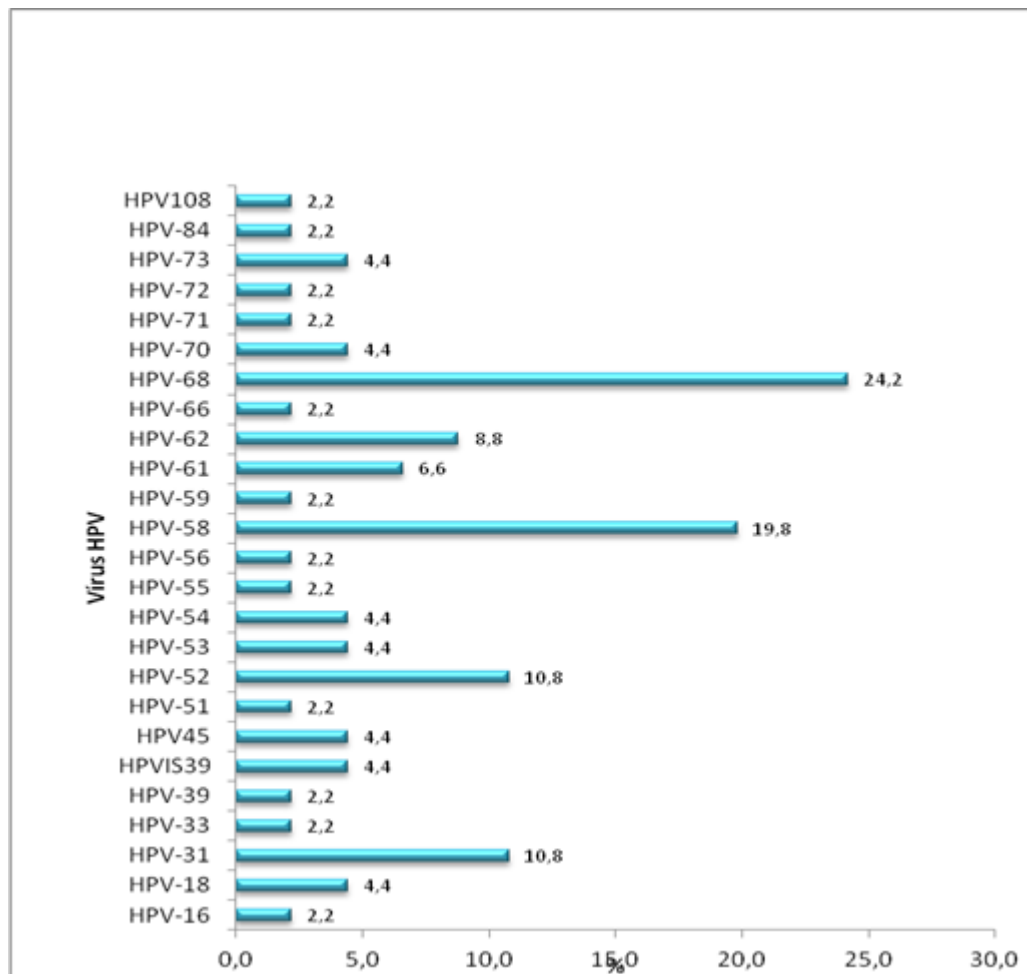


Tabela 3. Distribution of HPV genotypes in cytological results quilombo women Maranhão

Types of HPV	Cytological abnormalities											Total				
	Negative		ASC-US		LSIL		ASC-H		HSIL							
	Simp	Múltip	Simp	M	Simp	Múltip	Simpl	M	Simp	Múltip						
HPV- high risk	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%				
68	5	1,5	6	1,8	-	-	-	-	-	-	11	3,1				
58	4	1,3	3	0,9	-	-	-	-	-	1	12,5	1	12,5			
52	-	-	-	-	1	14,3	-	-	-	-	-	-	1	0,28		
31	2	0,6	-	-	-	-	-	1	16,7	-	-	-	-	3	0,86	
18	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	12,5	-	2	0,57	
45	2	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0,57	
70	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
73	-	-	-	-	-	-	-	-	1	25,0	-	-	-	1	0,28	
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	12,5	1	0,28	
39	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
56	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
59	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
66	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
33	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
HPV-low risk	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IS39	-	-	-	-	-	-	-	1	25,0	-	1	12,5	-	2	0,57	
54	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
61	2	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0,57	
62	2	0,6	-	-	-	-	1	16,7	-	-	-	-	-	3	0,86	
72	1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,28	
84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	12,5	-	1	0,28	
Total de Positives	35	10,6	-	-	1	14,3	-	-	2	33,4	-	-	6	75	46	13,1
Total de Negatives	293	89,4	-	-	6	85,7	-	-	4	66,6	-	-	2	25	307	86,9
Total	328	100,0	-	-	7	100,0	-	-	6	100,0	-	-	8	100,0	353	100,0

*Among the 6 multiple virus infections 68, 3 were associated with virus type 52. ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; ASC-H: atypical squamous cells can not exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high grade alto squamous intaepithelial lesion;

Tabela 4.. HPV prevalence in different cytological results according to age group in the population studied

Cytological results	Detecção do HPV				OR 95% IC	P
	Positive		Negative			
	n	(%)	N	%		
Age group (< 30 anos)						
Inflammatory	14	(15,0)	79	(85,0)	1	0,06
ASC-US	-	-	3	(100,0)	5,64	
LSIL	1	(100,0)	-	-	0,80-40,39	
ASC-H	-	-	-	-		
HSIL	2	(100,0)	-	-		
Total	17	(17,1)	82	(82,8)		
Age group (31- 40 anos)						
Inflammatory	6	(7,5)	74	(92,5)	1	0,03
ASC-US	-	-	2	(100,0)	7,40	
LSIL	1	(25,0)	2	(75,0)	1,07-51,19	
ASC-H	2	(100,0)	-	-		
HSIL	-	-	1	(100,0)		
Total	9	(10,2)	79	(89,7)		
Age group (41-50 anos)						
Inflammatory	6	(9,0)	60	(90,9)	1	0,12
ASC-US	-	-	1	(100,0)	5,0	
LSIL	-	-	1	(100,0)	0,51-44,91	
ASC-H	-	-	2	(100,0)		
HSIL	2	(100,0)	-			
Total	8	(10,9)	65	(89,0)		
Age group (51-60 anos)						
Inflammatory	5	(8,9)	51	(91,0)	1	0,03
ASC-US	-	-	-	-		
LSIL	-	-	-	-	20.40	
ASC-H	-	-	-	-	1.12-704,69	
HSIL	2	(66,6)	1	(33,3)		
Total	7	(11,1)	56	(88,8)		
Faixa etária > 60anos						
Inflammatory	4	(12,1)	29	(87,8)	1	0,37
ASC-US	1	(100,)	-	-		
LSIL	-	-	1	(100,0)	7,25	
ASC-H	-	-	-	-	0,01-351,91	
HSIL	-	-	-	-		
Total	5	(14,2)	30	(85,7)		

OR: Odds Ratio; IC: intervalo de confiança; ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; ASC-H: atypical squamous cells can not exclude high-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high grade alto squamous intaepithelial lesion;

Artigo submetido à revista: PAN-AMAZÔNICA DE SAÚDE

**Prevalência de Anormalidades Citológicas em Esfregaços Cervicais de Mulheres
Quilombolas no Estado do Maranhão**
**Cytological Abnormalities Prevalence in Cervical Smears of Quilombola Women in the
State of Maranhão**
**Prevalencia de anomalías citológicas en frotis cervicales de Mujeres Quilombolas en el
Estado de Maranhão**

José Eduardo Batista ¹

Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

Andréa Alves Ribeiro³

Kelly Deyse Segati²

Suelen Brito do Nascimento Tavares^{2,3}

Silvia Helena Rabelo Santos^{2,4*}

- 1- Federal University of Maranhão, Brazil, Department of Pathology;
- 2- Institute of Tropical Pathology and Public Health (IPTSP) - Federal University of Goiás, Brazil;
- 3- Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha, da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (RR/FF/UFG)
- 4- School of Pharmacy, Federal University of Goiás, Brazil.

Funding: This work was supported by - **CAPES- AUXPE-DINTER-2532/2009**

Processo nº 23038045009/2009-64

Corresponding author:

*Prof.^a Dr.^a Silvia Helena Rabelo dos Santos

Faculdade de Farmácia – UFG, 1ª avenida S/N, setor Universitário.

74605-220, Goiânia, GO, Brasil.

e-mail: silvia.rabelo@pesquisador.cnpq.br

Telefone: +55 62 3209-6457; Fax: + 55 62 3209-6044

Resumo

Introdução: O câncer do colo do útero é um problema de saúde pública devido a considerável incidência e mortalidade na população feminina brasileira. As comunidades quilombolas apresentam dificuldades de acesso aos serviços de saúde comparadas à população geral. Logo, é possível inferir que as mulheres pertencentes a estas comunidades também apresentem dificuldades na detecção precoce e no tratamento das lesões precursoras do câncer de colo uterino. **Objetivo:** detectar as anormalidades citológicas em esfregaços cervicais de mulheres quilombolas nos Municípios do Litoral Leste no estado do Maranhão entre julho de 2011 a março de 2012, bem como analisar os indicadores de qualidade dos exames citopatológicos. **Métodos:** Foram incluídas no estudo 382 mulheres entre 15 a 75 de idade anos. A avaliação da qualidade dos exames citopatológicos do colo do útero foi realizada com base nos indicadores de Monitoramento Interno de Qualidade (MIQ). **Resultados:** Dos 382 resultados de exames citopatológicos, 92,4% (353/382) foram considerados como satisfatórios. Os diagnósticos foram compatíveis com inflamação 92,9%, enquanto 7,1% apresentaram anormalidades citológicas. O índice de positividade foi de 7,08%, o percentual de células escamosas atípicas nos exames satisfatórios foi de 3,11%, a razão entre células escamosas atípicas e lesões intraepiteliais escamosas foi de 0,78 e percentual de exames compatíveis com lesão intraepitelial escamosa de alto grau foi de 2,26%. **Conclusão:** Os resultados apontam maior prevalência para lesões de alto grau. É importante melhoria nos programas de rastreamento do câncer de colo uterino na população estudada e implementação de programas de controle de qualidade dos exames citopatológicos

Palavras-chave: Lesões do colo uterino; indicadores de qualidade; prevalências; quilombolas.

Abstract:

Introduction: Cervical cancer is a public health problem due to the high rates of incidence and mortality in Brazilian women. Quilombo communities have poor access to health services when compared to the general population. Therefore, it is possible to infer that women belonging to these communities also face difficulties in the early detection and treatment of precursor lesions of cervical cancer. **Objective:** To detect cytological abnormalities in cervical smears of quilombo women in East coast municipalities in the state of Maranhão from July 2011 to March 2012, and analyse the quality indicators of cytopathology. **Methods:** The study included 382 women with ages between 15-75 years. The evaluation of quality of cytopathology cervical cancer was based on Internal Quality Monitoring indicators (IQM). **Results:** Of the 382 results of cytopathology, 92.4% (353/382) were considered satisfactory. The diagnoses were compatible with inflammation 92.9%, while 7.1% had cytological abnormalities. The positivity rate was 7.08%, the percentage of atypical squamous cells in satisfactory tests was 3.11%, the ratio of atypical squamous cells and squamous intraepithelial lesions was 0.78, and the percentage of tests compatible with high-grade squamous intraepithelial lesion was 2.26%. **Conclusion:** The results indicate a higher prevalence of high-grade lesions. It is important to improve the screening of cervical cancer programmes in the population and implementation of quality control programs of cytopathology

Keywords: Lesions of the cervix; Quality Indicators; Prevalence; Maroons.

Resumen

Introducción: El cáncer del pego del útero es un problema de salud pública debido a considerable incidencia y mortalidad en la población femenina brasileña. Las comunidades quilombolas presentan dificultades de acceso a los servicios de salud comparadas a la población general. Luego, es posible inferir que las mujeres pertenecientes a estas comunidades también presenten dificultades en la detección precoce y tratamiento de las lesiones precursoras del cáncer de pego uterino. **Objetivo:** detectar las anormalidades citológicas en esfregaços cervicais de mujeres quilombolas en los Municipios del Litoral este en el estado del Maranhão entre julio de 2011 a marzo de 2012, y analizar los indicadores de calidad de los exámenes citopatológicos. **Métodos:** Fueron incluidas en el estudio 382 mujeres entre 15 a 75 de edad años. La evaluación de la calidad de los exámenes citopatológicos del pego del útero fue realizada con base en los indicadores de Monitoreo Interno de Calidad (MIQ). **Resultados:** De los 382 resultados de exámenes citopatológicos, 92,4% (353/382) fueron considerados como satisfactorios. Los diagnósticos fueron compatibles con inflamação 92,9%, mientras 7,1% presentaron anormalidades citológicas. El índice de positividade fue del 7,08%, el porcentual de células escamosas atípicas en los exámenes satisfactorios fue del 3,11%, la razón entre células escamosas atípicas y lesiones intraepiteliais escamosas fue de 0,78 y porcentual de exámenes compatibles con lesión intraepitelial escamosa de alto grado fue del 2,26%. **Conclusión:** Los resultados apuntan mayor prevalência para lesiones de alto grado. ES importante mejoría en los programas de rastreo del cáncer de pego uterino en la población estudiada e implementación de programas de control de calidad de los exámenes citopatológicos

Palabras clave: Lesiones del pego uterino; indicadores de calidad; prevalências; quilombolas.

INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero é um problema de saúde pública devido à considerável incidência e mortalidade na população feminina brasileira. Este câncer pode ser evitável quando as lesões precursoras são diagnosticadas e tratadas¹. A técnica de rastreamento para a prevenção do câncer do útero atualmente utilizada no Brasil é o exame citopatológico ou teste de Papanicolaou¹.

Países nos quais o rastreamento foi bem sucedido apresentaram uma diminuição nas taxas de incidência e mortalidade por câncer do colo do útero, causada entre outras razões não menos importantes, no diagnóstico e tratamento das lesões precursoras¹. O percentual de lesões de alto grau para todos os exames satisfatórios foi de 0,5% nos Estados Unidos^{2,3}, 0,6%, no Canadá⁴, 1,1%, no Reino Unido⁵, 1,14%, na Noruega⁶, e no Brasil³, em 2012 a taxa foi de 0,3%, considerada baixa em relação a outros países.

Apesar da comprovada eficácia da triagem de citologia cervical na redução da incidência de câncer de colo do útero, através de programas organizados, a precisão da citologia cervical convencional tem sido discutida. Os níveis de sensibilidade e especificidade de citologia cervical variam muito. Uma revisão sistemática relatou sensibilidade e especificidade variando de 30% a 87% e de 86% a 100%, respectivamente⁷.

Estudos transversais mais recentes de países em desenvolvimento têm relatado sensibilidade variando de 44% a 78% e especificidade variando de 91% a 99%⁸. Segundo Zeferino & Derchain⁹, estes dados sugerem que a variabilidade na precisão está relacionada com a qualidade da citologia cervical, pois a sensibilidade depende do método e não sobre a prevalência da doença.

Emitir laudos corretos através de diferentes métodos de revisão para monitorar a qualidade dos exames citopatológicos, visa à redução dos resultados falso-negativos e falso-positivos¹⁰. O índice de positividade expressa a prevalência de alterações celulares nos exames e a sensibilidade do processo do rastreamento em detectar lesões na população examinada. Ainda são utilizados como parâmetros, o percentual de exames compatíveis com células escamosas atípicas (*Atypical Squamous Cells - ASC*) entre os exames satisfatórios, o percentual de ASC entre os exames alterados, a razão ASC/SIL (Lesão Intraepitelial Escamosa – *Squamous Intraepithelial Lesion*) e o percentual de exames compatíveis com Lesão Intraepitelial Escamosa de Alto Grau (*High Grade Squamous Intraepithelial Lesion- HSIL*)¹¹.

As comunidades quilombolas são grupos étnico-raciais, segundo critérios de auto atribuição, com trajetória histórica própria, isolamento geográficos dotados de relações territoriais específicas e com presunção de ancestralidade negra, relações monogâmicas, apenas entre membros dos quilombos e resistência à opressão histórica sofrida¹². São grupos com maiores taxas de mortalidade por câncer se comparado à população geral, sendo provavelmente um dos reflexos da desigualdade social, econômica, política e na saúde. Infere-se que são exatamente esses grupos que estão mais expostos às maiores barreiras de acesso à rede de serviços de saúde para detecção e tratamento precoce da doença e suas lesões precursoras, advindas de dificuldades econômicas e geográficas, insuficiência de serviços e questões culturais¹³.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi detectar e caracterizar as anormalidades citológicas presentes em esfregaços cérvico-vaginais de mulheres quilombolas no Maranhão no período de julho de 2011 a março de 2012, bem como analisar os indicadores de monitoramento interno de qualidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de corte transversal, realizado na comunidade rural quilombola do litoral leste, remanescentes dos quilombos, formada pelos municípios de Alcântara, Bequimão, Central do Maranhão e Mirinzal, municípios que estão no litoral do estado do Maranhão. As comunidades foram certificadas pela Fundação Palmares e localizam-se a cerca de 30 km da capital. Foram incluídas no estudo 382 mulheres com variação de idade entre 15 a 75 anos. As participantes eram residentes e cadastradas nas áreas de abrangência das equipes saúde da família, dos municípios já citados. Foram excluídas da pesquisa (29) vinte e nove mulheres histerectomizadas e as que estavam grávida. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário, HU/UFMA, segundo Parecer nº 233/2011. Todas as mulheres assinaram o termo de consentimento livre e informado, os aspectos éticos foram rigorosamente respeitados, de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, as mulheres responderam um questionário sócio demográfico e foram coletadas amostras de raspado cérvico-vaginal e confeccionadas as lâminas para realização de citologia convencional. Os exames citopatológicos foram analisadas no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás (UFG). As amostras foram

analisadas por dois citopatologistas, e em caso de resultados discordantes um terceiro citopatologista estabeleceu o diagnóstico de consenso. Os esfregaços foram submetidos a um rigoroso controle de qualidade adotado pelo referido laboratório, realizado através da revisão rápida de todos os esfregaços negativos e revisão detalhada dos esfregaços insatisfatórios, suspeitos e positivos.

Os resultados relativos à adequabilidade das amostras, alterações reativas e anormalidades em células epiteliais foram interpretados de acordo com os critérios citológicos definidos no Sistema de Bethesda revisado em 2001¹⁵.

A avaliação da qualidade foi realizada com base em cinco indicadores de Monitoramento Interno de Qualidade (MIQ), cujas variáveis selecionadas seguem descritas em suas respectivas fórmulas¹⁶: (Manual Gestão de Qualidade, 2012).

A - Índice de Positividade (IP), expressa a prevalência de alterações celulares nos exames e caracteriza a sensibilidade do processo do rastreamento em detectar lesões na população examinada.

$$\text{FÓRMULA: } \frac{\text{NÚMERO DE EXAMES ALTERADOS} \times 100}{\text{TOTAL DE EXAMES SATISFATÓRIOS}}$$

B - Percentual de exames compatíveis com células escamosas atípicas (ASC) entre os exames satisfatórios – caso de dúvida diagnóstica de lesão intraepitelial, incluindo os casos de ASC-US e ASC-H.

$$\text{FÓRMULA: } \frac{\text{NÚMERO DE EXAMES COM ASC-US E ASC-H} \times 100}{\text{TOTAL DE EXAMES SATISFATÓRIOS}}$$

C - Razão ASC/SIL (lesão intraepitelial escamosa) – razões ASC/SIL muito altas necessitam determinar a causa desse resultado e pode ser necessário rever os critérios citológicos tanto de ASC quanto de SIL.

$$\text{FÓRMULA: } \frac{\text{NÚMERO DE EXAMES COMPATÍVEIS COM ASC-US E ASC-H}}{\text{NÚMERO DE EXAMES COM LSIL E HSIL}}$$

D - Percentual de exames compatíveis com lesão de alto grau (HSIL) - lesões verdadeiramente precursoras do câncer do colo do útero. Aquelas que apresentam efetivamente potencial para progressão da doença, cuja detecção é primordial para a prevenção.

$$\text{FÓRMULA: } \frac{\text{NÚMERO DE EXAMES HSIL} \times 100}{\text{TOTAL EXAMES SATISFATÓRIOS}}$$

E - Percentual de amostras insatisfatórias: fornece informações sobre a forma correta para fixação e transporte do material. Pode ser útil para orientação das ações corretivas junto a unidade de saúde.

$$\text{FÓRMULA: } \frac{\text{Nº DE AMOSTRAS INSATISFATÓRIAS NO MÊS} \times 100}{\text{TOTAL DE EXAMES LIBERADOS NO MÊS}}$$

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Como as informações referentes ao número de habitantes em uma localidade consistem em dados discretos utilizou-se a expressão, conforme descrito em Rodrigues (2010)¹⁴. A definição do tamanho da população foi estabelecida a partir do levantamento do número de famílias na área de estudo (13.333) associado às orientações do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) que define uma média de 4 pessoas por família. Sendo assim a estimativa para a população total foi de 53.332 habitantes. Assim o tamanho amostral ficou em estabelecido como 353 mulheres a serem avaliadas. Os dados foram analisados através do programa estatístico Biostat 5.0. Inicialmente foram feitas as tabelas de frequências de anormalidades citológicas e tipos de epitélios representados nas amostras, os indicadores de qualidades e os índices de razão e prevalência. Posteriormente, avaliou-se com o uso do teste não paramétrico de qui-quadrado de independência, a associação de anormalidades citológicas com as faixas etárias. Foram calculados o *Odds ratio* (OR) e Intervalo de Confiança de 95%.

RESULTADOS

Durante o período de julho de 2011 a março de 2012, foram atendidas 382 mulheres nos Postos de Saúde nos Quilombos do Maranhão cadastrados pela Fundação Palmares, sendo as mesmas submetidas à coleta de exames citopatológicos.

Em relação à adequabilidade das amostras citológicas, observou-se que 92,5% apresentavam-se satisfatórias, enquanto 7,5% foram consideradas como insatisfatórias para a análise por fatores obscurecedores, tais como: áreas purulentas, áreas espessas, dessecação ou material escasso. A presença de artefatos de dessecação foi o principal fator de limitação encontrado nas amostras.

O diagnóstico citopatológico de maior prevalência foi de reações benignas compatíveis com inflamação presente em 92,9% (328/353) dos casos, o diagnóstico de atipias representou 7,1% (25/353) dos esfregaços cervicais (dados não mostrados).

A Tabela 1 mostra sobre a prevalência de anormalidades citológicas e representatividade celular nos esfregaços satisfatórios. Esfregaços apresentando apenas representação do epitélio escamoso foram observados em 32,1% (113/353) dos casos e células escamosas acompanhadas de células metaplásicas e/ou glandulares estiveram presentes em 67,9% (240/353). Considerando apenas as mulheres com anormalidades citológicas, 72% (18/25) apresentaram a presença dos três epitélios na nos esfregaços cervicais.

A Tabela 2 mostra as informações referentes aos indicadores de qualidade das análises realizadas. As relações entre os diagnósticos foram realizadas de acordo com o preconizado no Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia¹⁶. O índice de positividade foi de 7,08%, Os percentuais de exames compatíveis ASC entre os exames satisfatórios foi de 3,11%, a razão de células ASC/SIL foi 0,78% e a razão de percentual de exames compatíveis com HSIL foi de 2,26%.

O índice de positividade observado neste estudo foi 3,4 vezes maior dos que o oficialmente relatado para o estado do Maranhão e 2,52 vezes maior do que o resultado relatado no Brasil. O número de diagnósticos de HSIL (High grade intraepithelial lesion) foi respectivamente 11,3 e 7,53 vezes maiores do que os relatados para o Estado do Maranhão e para o Brasil. Por outro lado, a proporção de diagnósticos limítrofes e a razão entre estes diagnósticos e os sugestivos de lesão intraepitelial escamosa foi menor quando comparado aos dados do Maranhão e do Brasil (Tabela 3).

DISCUSSÃO

No presente estudo, 28% das mulheres quilombolas encontravam-se na faixa etária de menos de 30 anos, o que condiz com o perfil etário brasileiro do sexo feminino que realiza o exame preventivo do colo do útero, provavelmente porque estas buscam os serviços de saúde para cuidados relativos à natalidade¹¹. A faixa etária prioritária para a detecção precoce do câncer do colo do útero é de 35 a 49 anos de idade, período que corresponde ao pico de incidência das lesões precursoras e antecede aquele com maior mortalidade pelo câncer¹⁷. Um total de 20,3% das coletas do presente estudo foram realizadas em mulheres na faixa etária entre 41-50 anos, o que evidencia a necessidade de implementação de estratégias para sensibilizar o público feminino nos quilombos do Maranhão.

Neste estudo, 7,5% dos esfregaços cervicais de mulheres quilombolas foram considerados insatisfatórios, estando dentro do índice preconizado pelo Ministério da Saúde,

considerando esta taxa como aceitável a ocorrência em até 10% de dos esfregaços analisados¹⁸.

O Monitoramento Interno da Qualidade (MIQ) corresponde a um sistema de controle da qualidade dos exames realizados com base em critérios de avaliação e registro dos resultados encontrados, permitindo identificação de oportunidades para melhoria e providências corretivas. Desse modo, permite a identificação de causas de erro, avaliação de desempenho, implementação de melhorias e melhor desempenho diagnóstico³.

Um estudo sobre a avaliação da qualidade dos laboratórios de citopatologia no Brasil revelou que o Sistema Único de Saúde possui um grande quantitativo de prestadores de serviço de citopatologia concentrados em faixas de positividade abaixo de 2,0%³. Parte dos casos positivos registrados no sistema não trazia conclusão diagnóstica devido aos elevados percentuais de atipias de significado indeterminado em células escamosas. Outra evidência constatada foi a baixa capacidade da rede laboratorial para a identificação de lesões intraepiteliais de alto grau³.

Em estudo prévio também no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, utilizando a revisão rápida de 100% dos esfregaços como método de monitoramento interno de qualidade encontrou o índice positividade de 7,37% na população examinada¹⁹. Estes dados foram similares ao encontrado no presente estudo onde o índice de positividade foi 7,08 em mulheres quilombolas. De acordo com o Ministério da Saúde (2012) o índice de positividade compatível com a prevalência de alterações celulares considerados como satisfatório varia entre 3% a 10¹¹. Há variação nos índices de positividade nas regiões do Brasil. As regiões Norte, Nordeste e Sul mostraram índices de positividade baixos, 2,2%, 2,1% e 2,1% respectivamente. As regiões Centro-Oeste e Sudeste mostraram índices de positividade de 3,0% e 3,5%, respectivamente. No Maranhão o índice de positividade é de 2,0%, abaixo do que é preconizado como satisfatório pelo Ministério da Saúde, porém semelhante aos índices observados nas regiões Norte, Nordeste e Sul³.

A presença de células metaplásicas e/ou endocervicais é considerada um indicador importante da qualidade do esfregaço, razão pela qual é importante a coleta da amostra do canal cervical^{9,19}. Sabe-se que a presença de células metaplásicas atípicas no esfregaço citopatológico, principalmente das imaturas, está associada a um alto valor preditivo para o diagnóstico de lesão intraepitelial escamosa de alto grau¹⁹. Vale ressaltar que o Sistema de Bethesda de 2001 define que são necessárias no mínimo dez células endocervicais ou células metaplásicas escamosas bem preservadas, agrupadas ou isoladas para que esta representação

seja relatada no laudo²⁰. Houve representação de canal endocervical e/ou zona de transformação em 72% das mulheres quilombolas com diagnósticos alterados.

As atipias escamosas de significado indeterminado representam diagnósticos limítrofes nos quais os achados citológicos são insuficientes quantitativa ou qualitativamente para o diagnóstico de lesões intraepiteliais escamosas²¹. Neste estudo, o percentual de exames compatíveis com ASC foi de 3,11%, entre os exames satisfatórios. Esta taxa encontra-se pouco abaixo do limite preconizado para estes diagnósticos que é de 4% e 5% de todos os exames satisfatórios. Laboratórios de outras regiões do país, também apresentam índices abaixo do limite, 2,1% na Região Sudeste, 0,9% nas Regiões Norte, e Nordeste cada, 1,4% na Região Centro-Oeste e 1,2%, na Região Sul³. No Maranhão o percentual de exames compatíveis com ASC é de 0,9% percentual de positividade muito abaixo do que limite estabelecido pelo Ministério da Saúde, porém semelhante aos encontrados nas regiões Norte e Nordeste, e abaixo das Regiões Centro Oeste, Sul e Sudeste, sendo no Brasil a média foi 1,5%³.

A razão ASC/SIL (lesão intraepitelial escamosa) contribui para identificar dificuldades técnicas para identificação das alterações que são sugestivas lesões intraepiteliais escamosas (SIL) de baixo e alto grau²¹. No presente estudo a Razão ASC/SIL foi de 0,78%, compatível com a Região Norte que é de 0,8%, mas abaixo das observada nas demais regiões brasileiras, (Região Sudeste 1,6%, Região Sul 1,5%, Região Centro-Oeste 1,1%, e Região Nordeste 1,0%)³. A categoria ASC não representa uma entidade biológica, mas sim uma mistura de diagnósticos diferenciais e dificuldades diagnósticas. Assim, o ASC apresenta potencial para o uso exagerado em casos de incerteza. Recomenda-se uma relação ASC/SIL não superior a 3 casos de ASC para cada caso de SIL diagnosticado nos exames citopatológicos cérvico-uterinos^{3,17}.

Este estudo mostrou uma prevalência de HSIL de 2,26%, considerada alta se comparada aos índices apresentados nacionalmente, mas semelhantes aos índices relatados por Von Zuben et al., (2007) em uma população semelhante. Rama *et al.*, 2008, detectaram uma prevalência de HSIL de 1,17% em amostras de 2.300 mulheres em São Paulo e Campinas em 2008²². Outro estudo realizado em 2006 no interior de São Paulo com 1.501 amostras de mulheres mostrou uma prevalência de lesões compatíveis com HSIL de 0,1%²⁴. Um estudo realizado no Estado do Acre por Von Zuben et al (2007) relata prevalência para HSIL de 1,8%²³.

Estas maiores taxas de HSIL encontradas podem ser resultado da dificuldade de acesso aos serviços de saúde, característica destas populações. Por outro lado, maiores índices de

HSIL também podem ser resultado de estratégias mais eficientes de controle de qualidade. O percentual de exames compatíveis com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) detectados no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha utilizando a revisão rápida de 100% dos esfregaços como método de monitoramento interno de qualidade foi de 1,44%¹⁹.

A miscigenação é uma das principais características da população brasileira por tanto a oportunidade de levantar dados referentes a grupos étnicos específicos é especialmente importante para o entendimento da condições de saúde desta população. Outro fator importante a ser considerado é a sua própria condição de isolamento geográfico em quilombos¹³.

A dificuldade de entendimento e aceitação por parte das mulheres, deficiência de infraestrutura, aspecto sócio demográficos, barreiras geográficas e logísticas relacionadas às dificuldades de acesso e a baixa inclusão das mulheres aos programas de prevenção do Câncer do Colo do Útero podem levar a alta prevalência de HSIL em mulheres com mais de 30 anos encontrada neste estudo nos diagnósticos citológicos.

CONCLUSÃO

A análise dos indicadores de qualidade, os índices e as razões de prevalência ratificou a necessidade de investimento em qualidade dos laboratórios de citopatologia no Maranhão. Os resultados para lesões de alto grau obtidos no estudo contribuem para o entendimento da atual situação de um dos grupos étnicos no cenário brasileiro. Deste modo faz-se necessária a intensificação de ações dos programas de controle e rastreamento do câncer de colo uterino na população estudada visando à detecção e tratamento precoce das lesões precursoras do câncer de colo uterino, para a redução da incidência e mortalidade entre a população quilombola. Os resultados apontam maior prevalência para lesões de alto grau.

Tabela 1. Prevalência de anormalidades citológicas e representação de células metaplásicas e/ou glandulares em mulheres quilombolas do Maranhão

Diagnóstico Citológico	Epitélios representados na amostra					
	Escamoso		Escamoso, Glandular e/ou Metaplásico		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
Negativo	106	32,2	222	67,7	328	100
ASC-US	5	71,4	2	28,6	7	100
LSIL	1	16,6	5	83,4	6	100
ASC-H	-	-	4	100	4	100
HSIL	1	12,5	7	87,5	8	100
TOTAL	113	32,1	240	67,9	353	100

ASC-US - Atypical squamous cells of undetermined significance) LSIL - Low grade squamous intraepithelial lesion
 ASC-H - Atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesions
 HSIL - High grade intraepithelial lesion

Tabela 2. Percentuais de Indicadores de Qualidade das análises realizadas em material citológico de mulheres quilombolas do Maranhão

Índice de Positividade	Índice encontrado	Maranhão	Percentual Recomendado
Percentual de exames compatíveis com células escamosas atípicas (ASC) entre os exames satisfatórios	7,08%	2,0%	Entre 3 e 10%
Percentual de exames compatíveis com atipia de significado indeterminado em células escamosas (ASC)	3,11%	0,9%	No máximo 4 a 5 % de todos os exames
Razão Atipia escamosa de significado ficado indeterminado / Lesão intraepitelial escamosas (Razão ASC/SIL)	0,78%	1,0%	Não superior a 3%
Percentual de exames compatíveis com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL)	2,26%	0,2%	Variável

ASC-US - Atypical squamous cells of undetermined significance) . LSIL – Low grades squamous intraepithelial lesion
 ASC-H - Atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesions
 HSIL - High grade intraepithelial lesion

Fonte: SISCOLO/DATASUS, Acesso em: 26 out, 2015

Tabela 3. Índices e Razões de Prevalência encontrado no estudo, Maranhão - Brasil

Percentual e Razão			Índices	Índices Maranhão	Índices Brasil	Razão de Prevalência Maranhão	Razão de Prevalência Brasil
Percentual de exames compatíveis com células escamosas atípicas entre os exames satisfatórios – IP			7,08%	2,0%	2,8%	3,54	2,52
Percentual de exames compatíveis com atípia de significado indeterminado em células escamosas (ASC)			3,11%	0,9%	1,5%	3,35	2,07
Razão Atípia escamosa de significado indeterminado / Lesão intraepitelial escamosa (Razão ASC/SIL)			0,78%	1,0%	1,4%	0,78	0,55
Percentual de exames compatíveis com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL)			2,26%	0,2%	0,3%	11,3	7,53
ASC-US-(atypical squamous cells of undetermined significance) LSIL - (low grade squamous intraepithelial lesion) ASC-H (atypical squamous cells cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesions) HSIL - (high grade intraepithelial lesion)							

Fonte: SISCOLO/DATASUS, Acesso em: 26 out, 2015

Contribuições

J.E.Batista realizou proposta do artigo, redação e revisão da literatura, coleta de amostras, análise dos dados e redação do artigo. M.D.S.B.Nascimento realizou coletas das amostras e acompanhamento das pacientes. A.A. Ribeiro colaborou na formatação e análise dos dados. K.D.Segati orientou a proposta e redação do artigo. S.B.N.Tavares realizou instrumento de coleta dados. S.H.R.Santos orientou e coordenou a pesquisa de campo e fez a contribuição na revisão dos textos.

Agradecimentos

À equipe do Laboratório Rômulo Rocha da UFG, pelo apoio na leitura e revisão das lâminas. À FAPEMA/SES/MA/CNPq, Edital nº 012/2009 pelo financiamento e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Doutorado Institucional (DINTER).

Declaração de Conflito de Interesses : Nada a Declarar

Referências:

1. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. *Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: Inca; 2011. 118p.
2. Eversole GM, Moriarty AT, Schwartz MR, Clayton AC, Souers R, Fatheree LA, et al. Practices of participants in the college of american pathologists interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology, 2006. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134(3):331-335.
3. Bortolon PC, Silva MAF, Corrêa FM, Knupp VMAO, Assis M, et al. Avaliação da Qualidade dos Laboratórios de Citopatologia do Colo do Útero no Brasil. *Rev Bras Cancerol* 2012; 58(3):435-444.
4. BC Cancer Agency. Cervical Cancer Screening Program. 2009 Annual report [Internet]. Vancouver: Cervical Cancer Screening Program; 2010 [cited 2011 Dec 5]. 30 p. Available from: <http://www.bccancer.bc>. Annual_ReportFINALFeb1910.pdf
5. NHS Cancer Screening Programmes. NHS Cervical Screening Programme Statistical Bulletin (England 2010- 11) [Internet]. [cited 2011 Dec 2]. Available from: <http://www.cancerscreening.nhs.uk/cervical/statistics.html>
6. Nygård JF, Skare GB, Thoresen SØ. The cervical cancer screening programme in Norway, 1992-2000: changes in Pap smear coverage and incidence of cervical cancer. *J Med Screen* 2002; 9(2):86-91.
7. Nanda K, McCrory DC, Myers ER et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000; 132: 810 e 819.
8. Albert S, Oguntayo O, Samaila M. Comparative study of visual inspection of the cervix using acetic acid (VIA) and Papanicolaou (Pap) smears for cervical cancer screening. *Ecancermedicalscience* 2012; 6(262):1-8.
9. Zeferino LC, Derchain SF. Cervical cancer in the developing world. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* 2006; 20(3):339-354.
10. Consolaro MEL; Maria-Engler SS, Organizadoras. *Citologia clínica cérvico-vaginal (texto e atlas)*. São Paulo: Roca, 2012: 221-234.
11. Ministério da Saúde. *Nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos cervicais*. 3. ed. Rio de Janeiro: Inca, 2012: 10-11.
12. Cardoso LFC. Sobre imagens e quilombos: notas a respeito da construção da percepção acerca das comunidades quilombolas. *R Est Pesq Educ* 2010; 12(1):11-20.
13. Lopes F. Experiências desiguais ao nascer, viver, adoecer e morrer: tópicos em saúde da população negra no Brasil. In: Brasil, Fundação Nacional de Saúde. *Saúde da população negra no Brasil: contribuições para a promoção da equidade*. Brasília: Funasa; 2005. p 446.
14. Rodrigues W. C. 2010. Estatística aplicada. Copyright©. 8ª edição.62p.
15. Solomon D, Nayar, R. *Sistema Bethesda para citopatologia cervicovaginal*. 2. ed. São Paulo: Revinter; 2004.
16. *Manual de Gestão da Qualidade para Laboratório de Citopatologia*. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação-Geral de Prevenção e Vigilância,

- Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Rio de Janeiro: Inca, 2012. p. 23-28.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância (Conprev). Falando sobre Câncer do Colo Uterino. Rio de Janeiro: MS/Inca, 2002.
 18. Neto AR, Ribalta JCL, Focchi J, Baracat EC. Avaliação dos métodos empregados no Programa Nacional de Combate ao Câncer do Colo Uterino do Ministério da Saúde. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2001; 23(4):209-215.
 19. Tavares SBN, Sousa NLA, Manrique EJC, Zeferino, LC, Amaral RG. Improvement in the Routine Screening of Cervical Smears. A Study Using Rapid Prescreening and 100%. Rapid Review as Internal Quality Control Methods. *Cancer Cytopathol* 2011; 119:367-376.
 20. Martin-Hirsch P, Jarvis G, Kitchener H, Lilford R. Dispositivos de recolección de muestras citológicas cervicales (Revisión Cochrane Traducida). In: La Biblioteca. Cochrane Plus, 2008; 2. Oxford: Update Software Ltd. Available from: <http://www.update-software.com>.
 21. Dufloth RM, Silva SM, Andrade LAL, Zeferino L. Nuclear alterations of the cells and atypical metaplastic cells in cervical smears are predictive criteria of high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Eur J Gynecol Oncol* 2005; 26(2):186-90.
 22. Rama CH, Roteli-Martins CM, Derchain SFM, Longatto-Filho A, Gontiljo RC, Sarian LOZ., et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. *Rev. Saúde Pública* 2008; 42(1):123-130.
 23. VonZuben MV, Derchain SFF, Sarian LO, Westin MC, Zeferino LC. The impact of a community intervention to improve cervical cancer screening uptake in the Amazon region of Brazil. *São Paulo Med J* 2007; 125(1):42-45.

7. DISCUSSÃO

No Brasil, a população negra experimenta maiores taxas de mortalidade por câncer se comparada à população geral, sendo provavelmente um dos reflexos de desigualdades nos âmbitos social, econômico, político e na saúde. Essa população traz consigo experiências desiguais ao nascer, viver, adoecer e morrer (LOPES, 2005). Isso pode ser observado pela má qualidade de vida, pobreza extrema, baixa escolaridade, dificuldade de acesso aos serviços à saúde e a educação, aos bens duráveis e consumo em geral, taxas de morbimortalidade mais altas do que as registradas em nível nacional, fome, desnutrição, riscos ocupacionais e violência social e conflitos institucionais (GARRAFA et al., 2005). As comunidades quilombolas se inserem dentro desse contexto, pois são de presumida ancestralidade negra, e também experimentam situação de importante vulnerabilidade social, decorrente de um processo histórico de expropriação de cultura e de direitos, que acarretou desigualdade sociais e de saúde, cujo impacto tem reflexo nos indicadores de saúde desta população (VOLOCHKO, 2009). Assim, considerando que a não realização do exame Papanicolaou está associada dentre outras questões às desigualdades de acesso e utilização de serviços de saúde, é importante contemplar ações de prevenção para o câncer de colo uterino que envolvam melhoria das condições de vida e aumento da oferta e do acesso aos serviços de saúde em comunidades quilombolas (LOPES, 2005)

É possível também que falhas no programa de rastreamento para controle de câncer do colo do útero no Brasil contribuam para esta situação. Ao analisar este programa em regiões e municípios brasileiros, constata-se grandes discrepâncias com relação à sua cobertura e efetividade, provavelmente relacionadas à baixa disponibilidade de médicos e enfermeiros na rede de atenção básica e de laboratórios de citopatologia devidamente equipados para atender a população. Outra questão importante dentro deste contexto é a percepção da existência de limitações de acesso aos serviços de saúde por barreiras socioeconômicas, culturais e geográficas, sendo um problema a ser enfrentado pelos gestores do programa de controle do câncer de colo de útero (APPLEBY et al., 2006).

Também são conhecidos e amplamente apontados na literatura diversos fatores associados à não realização do exame de Papanicolaou, como a idade avançada, o baixo nível socioeconômico, certos grupos étnicos como afrodescendentes, não ter cônjuge (solteiras, separadas e viúvas) (AMORIM et al., 2006). O reconhecimento desses fatores como barreiras

para a realização do exame preventivo é parte fundamental no enfrentamento a esta problemática (AMORIM, et al., 2006).

As evidências citadas mostram que populações pertencentes a grupos étnicos apresentam maior tendência para apresentarem lesões de alto grau apesar dos avanços significativos nas últimas décadas sobre a saúde reprodutiva destas populações. Trata-se, portanto, de um cenário especialmente interessante para estudo de enfoque étnico racial nas populações quilombolas. Outro fator importante das populações em estudo é a sua própria condição de isolamento geográfico em seus quilombos, dificuldade de entendimento e aceitação por parte das mulheres, deficiência de infraestrutura, barreiras geográficas e logísticas relacionadas às dificuldades de acesso e a baixa inclusão das mulheres aos programas de prevenção do Câncer do Colo do Útero podem explicar a maior prevalência HSIL encontradas neste estudo.

Os resultados referentes à distribuição dos diagnósticos de anormalidades citológicas em relação a idade observados neste estudo são compatíveis com os de SILVEIRA et al., (2008), que observaram maior prevalência das anormalidades citológicas de baixo grau (ASC-US e LSIL) em mulheres na faixa de menos de 35 anos, enquanto que as anormalidades citológicas de alto grau (ASC-H e HSIL) foram mais frequentemente observadas em mulheres acima de 49 anos. Estes resultados reforçam a teoria de que mulheres em maior faixa etária tendem a apresentar lesões progressivas com maior frequência do que mulheres mais jovens, o que poderia ser explicado pelo caráter transitório das infecções das infecções pelo HPV em mulheres mais jovens (ZEFERINO; DERCHAIN, 2006).

A prevalência total de HPV, desconsiderando a idade, pode variar de acordo com a técnica utilizada, a população e a região estudadas. A metodologia utilizada neste estudo possibilitou detectar uma prevalência de HPV de 13% em mulheres quilombolas. A população neste estudo foi representada por mulheres assintomáticas sem história de neoplasia do colo do útero e outras doenças relacionadas ao HPV, e foram identificados 46 casos positivos para o HPV, sendo (74%) representados por infecções simples e (26%) por infecções por múltiplos tipos. No presente estudo foi encontrado uma prevalência de HPV de 36,9% em mulheres com menos de 30 anos e observou-se decréscimo dessa taxa com o avanço da idade.

Neste estudo, dos 25 genótipos de HPV encontrados, houve maior prevalência do HPV 68, com 24,2%, seguido de HPV 58 (19,8%), HPV 52 e HPV 31 (10,8% cada). Na amostra de mulheres quilombolas avaliada neste estudo, o vírus tipo 68 esteve presente somente em mulheres sem anormalidades citológicas, ou seja, com diagnóstico de inflamação. Os tipos virais encontrados em mulheres com diagnósticos citológicos de HSIL foram 16, 18,

58, IS39 e 73. Três destes são considerados como carcinogênicos para seres humanos e o tipo 73 é considerado como possivelmente carcinogênico para humanos (IARC, 2012). O conhecimento da distribuição do HPV na população quilombola é essencial para subsidiar o desenvolvimento de novos testes para o HPV e para avaliar os efeitos das vacinas introduzidas nos diferentes cenários de ocorrência da infecção.

Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 2012) o tipo 68 é considerado como provavelmente carcinogênico, contudo, este tipo não esteve presente em mulheres com anormalidades citológica deste estudo. Neste contexto, é importante considerar as diferenças regionais e o tipo de população estudada e seus hábitos. Considerando as infecções pelo HPV 68 identificadas neste estudo, 5 foram simples e 6 múltiplas. Entre as infecções múltiplas, 3 estavam associadas ao tipo 52, vírus este considerado oncogênico.

GOLDMAN et al., (2013) em uma população rastreada na Dinamarca observaram que a prevalência total de HPV 68 foi de 2%, contudo, observaram que a presença deste genótipo ocorreu numa taxa quatro vezes maior que a esperada em infecções múltiplas, indicando a existência de uma interação entre HPVs de alto risco oncogênico, especialmente entre os tipos 31/68, 51/68 e 33/68.

WANG et al., (2013), no Sul da China demonstraram em mulheres rastreadas entre os anos de 2006 a 2010 que o genótipo 68 associado a outros tipos de HPV ocorreu em 20 casos de câncer cervical com uma distribuição tipo-específica de 3,28%. GARLAND et al., (2011), em estudos com índias Australianas relatam 21 casos, 3,2% com o genótipo 68 e estão relacionados a tipos incomuns de HPV. Estes autores indicaram que estes genótipos incomuns, especialmente os HPV 51, 53, 68 e 70 podem incrementar as contribuições etiológicas para a carcinogênese cervical. Neste contexto, é importante considerar as diferenças regionais e o tipo de população estudada e seus hábitos, sendo o primeiro trabalho no Maranhão sobre as populações remanescentes dos quilombos.

Quanto aos fatores comportamentais analisados, a infecção por HPV foi o único estatisticamente significativo. Isso se deve às características da população estudada: isolada geograficamente, com hábitos conservadores e relações sexuais apenas entre membros do quilombo – o que demonstra que a infecção independe de fatores socioeconômicos ou demográficos, havendo variação apenas na prevalência e nos tipos virais encontrados. A prevalência de HPV aumenta de acordo com a gravidade do diagnóstico citológico. Este estudo mostrou uma prevalência de HSIL de 2,26%, considerada alta se comparada aos índices apresentados nacionalmente. Estas maiores taxas de HSIL podem ser resultado da dificuldade de acesso aos serviços de saúde, característica destas populações. Por outro lado,

maiores índices de HSIL também podem ser resultado de estratégias mais eficientes de controle de qualidade. Os percentual de exames compatíveis com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) detectados no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da – Universidade Federal de Goiás, utilizando a revisão rápida de 100% dos esfregaços como método de monitoramento interno de qualidade foi de 1,44%²² (Tavares et al. 2011)

Na literatura brasileira e no Maranhão são escassos os dados sobre a saúde das comunidades quilombolas, principalmente sobre o câncer do colo útero. Existem estudos isolados e específicos para determinadas patologias, que apesar de revelarem prevalência e incidência, abrangem um público mais restrito, provavelmente devido a fatores geográficos e de localização das comunidades quilombolas. Sobressalta-se também a importância de se estabelecer pesquisas sobre este grupo social, uma vez que se observa uma disparidade na atenção à saúde desta população quando comparada à população de modo geral. É necessário conhecer a cultura dessa população e assim adotar medidas de prevenção dessa doença para que se obtenham melhores indicadores da saúde na população remanescente de quilombos.

8. CONCLUSÃO

- A população quilombola estudada foi constituída prioritariamente por mulheres que iniciaram a atividade sexual após os 15 anos de idade (61%), tiveram mais de um parceiro sexual (57%), com idade da menarca acima dos doze anos (59%), tiveram mais de uma gestação (84%), não apresentaram sinais de DST (71%), não faziam uso de anticoncepcionais (82%), faziam higiene vaginal mais de uma vez ao dia (91,7%), já realizaram exame de Papanicolaou (86%), apresentaram colo do útero com aspecto normal (86%), não fumavam (92%) e não faziam uso de bebidas alcoólicas (62,6%).
- A prevalência global de HPV foi de 13,0%, sendo o HPV 68 foi o tipo mais prevalente (24%), seguido pelos tipos 58 (19,8%), 52 e 31 (10,8% cada um) e 62(8,8%). Os tipos de HPV presente em mulheres com anormalidade citológicas foram: 58, 52, 31, 18, 73, 16, IS39, 62 e 84 e em mulheres sem anormalidades citológicas foram: 68, 45, 70, 39, 56, 59, 66, 33, 61 e 72. Mulheres com diagnóstico de ASC-US e LSIL mostraram infecções por HPV de baixo risco oncogênico (HPV 62) e por tipos de alto risco oncogênico (HPV 31 e HPV 52). Mulheres com diagnósticos de ASC-H e HSIL, mostraram infecções por HPV de alto risco 58, 18, 73 e 16 e por tipos de baixo risco oncogênicos (HPV IS39 e 84)
- A infecção por HPV foi significativamente associada a detecção de anormalidades citológicas em mulheres quilombolas.
- Não houve uma associação estatisticamente significativa entre os fatores comportamentais com a infecção por HPV o diagnóstico de anormalidades citológicas.

9. REFERÊNCIAS

ALBERT, S; OGUNTAYO, O; SAMAILA, M. Comparative study of visual inspection of the cervix using acetic acid (VIA) and Papanicolaou (Pap) smears for cervical cancer screening. **Ecancermedicalscience**, v. 6, n. 262, p. 1-8, 2012.

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

ARBYN M et al. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. **Obstet Gynecol.** 111(1):167-77, 2008;

ALMEIDA, A. W. B. Os quilombos e as novas etnias. In: Fundação Cultural Palmares. Quilombos no Brasil, **Revista Palmares**, n. 5, 2000.

ALVES, R. R. F. **Infecção do colo uterino por múltiplos tipos de Papillomavírus humano em adolescentes sexualmente ativas: prevalência, fatores associadas e anormalidades citológicas**. Tese de Doutorado. Goiás: Universidade Federal de Goiás, GPT/BC/UFG, 132 p. 2006.

AMORIM, V. M. S. L., et al. Fatores associados à não realização do exame de Papanicolaou: um estudo de base populacional no Município de Campinas, São Paulo, Brasil. **Cad. Saúde Pública** [online]. 22 (11): 2329-2338, 2006.

ANTUNES, A.A., et al. Prevalência de colicitose em biópsias penianas de parceiros de mulheres com lesões genitais induzidas pelo HPV. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 26, n. 7, p. 557-62, 2004.

APPLEBY P, et al. Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13.541 women with carcinoma of the cervix and 23.017 women without

carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. **International Journal of cancer**, **Genève**. 118(6): 1481-1495; 2006

ARBYN, A; DILLNER, M; UNGER, E. L, Monitoring of human papillomavirus vaccination. **Clin Exp Immunol**, v. 163, n. 1, p. 17-25, 2010.

ARUHURI B, et al. Prevalence of cervical human papillomavirus (HPV) infection in Vanuatu. **Cancer Prev Res (Phila)** v.5: 746-53; 2012

AYER, B. S; PARCEY, N. F; GREENBERG, M. L. The cytological features of invasive adenocarcinoma of the cervix uteri. **Cytopathology**, v. 2, n. 4, p. 181-91, 1991.

ASSIS, A.P; AMARAL, M.F; SAMPAIO, M.C. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.4, n.2, p.11-14, 2007.

BÄFVERSTEDT, B. *Condyloma acuminata* past and present. **Acta Derm Venereol.**, n. 47, p. 376-81, 1967.

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

BARROS N.K.S., et al. Neoplasias intraepiteliais cervicais: faixa etária no momento do diagnóstico citológico. **RBAC** 43(3):180-2; 2011

BARROS, N. K. S; COSTA, M. C; ALVES, R. F. F. Association of HPV Infection and *Chlamydia trachomatis* Seropositivity in Cases of Cervical Neoplasia in Midwest Brazil. **J Med Virol**, n. 84, p. 1143-50, 2012.

BERNARD, H. U; BURK, R. D.; CHEN, Z. Classification of papillomavíruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. **Virology**, v. 401, n. 1, p. 70-9, 2010.

BONANNI P, BOCCALINI S, BECHINI A. Efficacy, duration of immunity and cross protection after HPV vaccination: a review of the evidence. **Vaccine** 27(Suppl. 1): A46–53; 2009.

BOSHART, M.; GISSMANN, L.; IKENBERG, H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer in cell derived from genital cancer. **Embo J**, n. 3, p. 1151-7, 1984.

BOSCH, F. X. et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 87, n 11, p. 796-802, 1995.

BOSCH, F. X.; BURCHELL, A. N.; SCHIFFMAN, M, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infection and type-specific implications in cervical neoplasia. **Vaccine**, n. 26S (Suppl 10), p. K1-K16, 2008.

BOULET, G. A. V.; HORVATH, C. A. J.; BERGHMANS, S. J. Human Papillomavirus in Cervical Cancer Screening: Important Role as Biomarker. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, n. 17, p. 810-7, 2008.

BOUVARD, V; BENBRAHIM-TALLAA, L. Carcinogenicity of malaria and of some polyomaviruses. **Lancet Oncol**, v.13, n.4, p.339-40, 2012.

BOUVARD V, BAAN R, STRAIF K, et al. A review of human carcinogens – Part B: biological agents. **Lancet Oncol**, 10(4): 321-2; 2009

BISHOP B, et al. Crystal structures of four types of human papillomavirus L1 capsid proteins: understanding the specificity of neutralizing monoclonal antibodies. **J Biol Chem**; 282: 31803–11; 2007

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. **Estimativa 2008: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2010

BRASIL. 60 Territórios. PRGRAMA TERRITÓRIOS DA CIDADANIA. Matriz de Ações do Governo Federal / Ministério da Saúde, Funasa/MS, 2005. Disponível em: WWW.territoriosdacidadania.gov.br.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Homepage do Banco de Dados do Sistema Único de Saúde-DATASUS. Disponível em: www.datasus.gov.br. 2006.

BROWN DR. The humoral response to Gardasil over four years as defined by total IgG and competitive luminex immunoassay. **Hum Vaccin February** 7(2):230–8; 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. **Estimativa 2008: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2010

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Conselho Nacional de Saúde, 2010b. **Resolução 196 de 10 de outubro de 1996**. Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/reso_96.htm>. Acesso em 20 out., 2013.

BRASIL, 2007, Política Nacional de Saúde Integral da População Negra. Brasília: **SEPPIR**, 2007. Disponível em:<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_saude_populacao_negra.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. *Uma história do povo Kalunga*. Brasília: Secretaria de Educação Fundamental, **Revista Linguagem** – 15º Edição, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA CULTURA. Fundação Cultural Palmares (Internet). Comunidades Quilombolas, 2012. Disponível em: http://www.palmares.gov.br/?page_id=88.

BROWN, D. R.; KJAER, S. K.; SIGURDSSON, K. et al.. The impact of quadrivalent human Papillomavirus (HPV; types 6, 11, 16, and 18) virus-like particule vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naïve women age 16-26 years. **The Journal Infections Diseases** 199: 926-935, 2009.

BRUNI L, DIAZ M, CASTELLSAGUE X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. **J Infect. Dis.** 202(12) 1789-1799; 2010

BUCK, C. B.; CHENG, N.; THOMPSON, C. D. Arrangement of L2 within the papillomavírus capsid. **J Virol.**, v. 82, n. 11, p. 5190-7, 2008.

BUENO K S; Atipias escamosas de significado indeterminado: novas qualificações e importância na conduta clínica. **RBAC**, v. 40, n. 2, p. 121-128, 2008.

BZHALAVA D, EKSTROM J, LYSHOLM F, HULTIN E, FAUST H, et al. (2012) Phylogenetically diverse TT virus viremia among pregnant women. **Elsevier Virology** 432: 427–434. doi: 10.1016/j.virol.2012.

BROTHERTON JM, LIU B, DONOVAN B. Human Papillomavirus (HPV) vaccination coverage in young Australia in women is higher than previously estimated: independent estimates from a nationally representative mobile phone survey. **Vaccine**. 2013. Dec5. [E-pub ahead of print].

CARESTIATO, F.N. et al. Analysis of molecular biology techniques for the diagnosis of human papillomavírus infection and cervical cancer prevention. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 5, p. 428-432, 2006.

CARMO, E. F. S.; FIORINI, A. Principais técnicas moleculares para detecção do papillomavírus humano. **Sabio -Revista de Saúde e Biologia**, v. 2, n. 1 p. 29-31, 2007.

CARDOSO LFC. Sobre imagens e quilombos: notas a respeito da construção da percepção acerca das comunidades quilombolas. **R. Est. Pesq. Educ.** 2010;12(1):11-20.

CATTANI, P., et al. Clinical performance of human papillomavirus E6 and E7 mRNA testing for high-grade lesions of the cervix. **J Clin Microbiol.**, n. 47, p. 3895-901, 2009.

CAVALCANTI, A.; CARESTIATO, F. N. Infecções causadas pelos Papilomavírus Humanos: atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnóstico. **Jornal Brasileiro de Doenças Transmissíveis**, v. 18, n. 1, p. 73-9. 2006.

CALHEIROS FP, STADTLER HHC. Ethnic identity and power: quilombos in Brazilian public policy. **Rev. Katálisis** 13(1): 133-9; 2010

COLEMAN N, BIRLEY HD, RENTON AM. Immunological events in regressing genital warts. **Am J Clin Pathol**;102:768–74. 1994

CERVANTES, J., et al. Prevalence of Human Papillomavirus infection in rural villages of the Bolivian Amazon. **Rev. Inst. Méd. Trop. S. Paulo**, v. 45, n. 3, p. 131-5, 2003.

COX JT. History of the use of HPV testing in cervical screening and in the management of abnormal cervical screening results. **J Clin Virol.** 45 (Suppl 1):S3-S12. 2009

CHAN, P.K., et al. Biases in human papillomavirus genotype prevalence assessment associated with commonly used consensus primers. **Int Journal of Cancer**, v.118, p.243-5, 2006.

CERVANTES J, et al. Prevalence of Human Papillomavirus infection in rural villages of the Bolivian Amazon. **Ver. Inst. Méd. Trop. S. Paulo**; 45(3): 131-135,2003.

CIUFFO, G. Innesso positive con filtrado di verruca volgare. **G. Ital. Mal. Vem. Pelle**, n. 48, p. 12-17, 1907.

CLIFFORD, et al. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, n. 14, p. 1157-64, 2005.

CLIFFORD, G.M., et al. Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. **Vaccine**, Holanda, v. 24, n. 3, p. S3/26-34, Feb. 2006.

CLIFFORD., et al. In: HPV type distribution in women with cervical neoplastic diseases. **Vaccine** **24**, Suppl 3: S3/26-34, 2006.

CIUFFO G. Innesto positive con filtrado di verruca volgare. **G. Ital. Mal. Vem. Pelle.** 48:12-17. 1907

COIMBRA C.E.A, SANTOS RV. Saúde, minorias e desigualdade: algumas teias de inter-relações, com ênfase nos povos indígenas no Brasil. **Cienc Saude Colet.**(5):125-132.2005.

CRAWFORD, L. V. A study of human papilloma virus DNA. **J Mol Biol.**, n. 13, p. 362-72, 1965

CRAWFORD N.W, CLOTHIER H.J, ELIA S. Syncope and seizures follow-ing humanpapillomavirus vacci-nation: a retrospective case series. **Med J Aust.**194:16–18.2011

CRONJÉ, H. S.; PARHAM, G. P.; COOREMAN, B. F. A comparison of four screening methods for cervical neoplasia in a developing country. **Am J Obstet Gynecol**, n. 188, p. 395-400, 2003.

CRUM, C. P.; CIBAS, E. S. Patology of early cervical neoplasia. New York, **Churchill Livingstone**, 1997.

CUZICK J et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. **Vaccine.** 26 (Suppl 10):K29-41. 2008.

DAVEY, D. D., et al. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion: review of acillary testing modalities and implications for flollow-up. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, Estados Unidos da América, v. 4, n. 3, p. 201-214. 2013.

DEMAY, R. M. 1993. The Pap smear. In: The art and the science of cytopathology. Chicago: **ASCP Press**, p. 61-185, 1993.

DENNY, L.; KUHN, L.; POLLACK, A. Direct visual inspection for cervical cancer screening: an analysis of factors influencing test performance. **Cancer**, n. 94, p. 1699-1707, 2002.

DIDELOT-ROUSSEAU, M. N.; et al. Study Group Human papillomavirus genotype distribution and cervical squamous intraepithelial lesions among high-risk women with and without HIV-1 infection in Burkina Faso. **Br J Cancer**. v. 95, p. 355-62, 2006.

DE SANJOSE., et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **Lancet Infectious Diseases**, 7(7), p. 453-459, 2007.

DE SANJOSE, S., et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. **Lancet Oncol.**, v. 11, n. 11, p. 1048-56, 2010.

DE VILLIERS E.M., et al. Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology. **Lancet**. 2: 703- 6.1987.

DE VILLIERS, E. M, et al. Classification of papillomaviruses. **Virology**, n. 324, p. 17-27, 2004.

DERCHAIN SF, ZEFERINO LC. Cervical cancer in the developing world. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2006;20(3):339-54

DO CARMO, E. F. S.; FIORINI, A. Principais técnicas moleculares para detecção do Papillomavírus humano. **Revista de Saúde Pública**, v. 2, n. 1, p. 29-31, 2007.

DOORBAR, J. The papillomavirus life cycle. **Journal of Clinical Virology**, v. 32, p. 7-15, 2005.

DOOBAR J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. **Clin Sci (Lond)**, v. 110, n. 5, p. 525-41, 2006.

DOORBAR, J. et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. **Vaccine, Holanda**, v.30, n.05, p. F55-70. Nov. 2012.

D'OTTAVIANO-MORELLI, M. G. L.; ZEFERINO, L.; CECATTI, J. G. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma based on cytological screening in the region of Campinas, São Paulo, Brazil. **Cadernos Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p. 153-159, 2004.

DÜRST, M.; GISSMANN, L.; IKENBERG, H.; ZUR HAUSEN, H. A Papillomavírus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. **Proc. Natl Acad Sci USA**, n. 80, p. 3812-5, 1983.

DUNNE EF., et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. **JAMA** 297:813–819. 2007.

EINSTEIN, M. H.; BARON, M.; LEVIN, M. J. et al. Comparison of the immunogenicity and safety of Cervarix TM and Gardasil® Human papillomavirus (HPV) cervical cancer vaccines in healthy women aged 18-45 years. **Human Vaccines**, v. 5, n. 10, p. 705-19, 2009.

EVANS, M.F., et al. Distribution of human papillomavirus types in thinprep papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes. **Cancer, Estados Unidos da América**, v. 106, n.5, p. 1054-1064, Mar. 2006.

ELUF-NETO, J. et al. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. **British Journal of Cancer**, v. 69, p. 114-119, 1994.

ERALI M, PATTISON D.C, WITTEWER C.T. Human papillomavirus genotyping using an automated film-based chip array. **J Mol Diagn** 2009; 11(5): 439-45.

FERLAY J, BRAY F, PISANI P, PARKIN DM. Globocan 2002 cancer incidence. Mortality and prevalence worldwide. **IARC Cancer Base**; 5: 123-9.2004.

FERLAY, J.; et al., 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: **IARC Cancer Base** n° 10 (Internet). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010.

FERLAY J. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: **GLOBOCAN, IARC**, v.1.0 Cancer Base No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2012. Available from <http://globocan.iarc.fr>.

FERNANDES, J. V.; MEISSNER, R. V.; CARVALHO, M. G. F. et al.. Prevalence of HPV infection by cervical status in Brazil. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, n. 105, p. 21-24, 2009.

FERNANDES, J. V.; MEISSNER, R. V.; CARVALHO, M. G. F. Prevalence of human papillomavirus in archival samples obtained from patients with cervical pre-malignant and malignant lesions from Northeast Brazil. **BMC Research Notes**, n. 3, p. 96, 2010.

FRANCESCHI, S.; HERRERO, R.; CLIFFORD, G. M.; SNIJDERS, P. J.; ARSLAN, A.; ANH, P. T. et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. **Int J Cancer**, v. 119, n. 11, p. 2677-84, 2006.

GARGIULO, F.; DE FRANCESCO, M. A.; SCHREIBER, C. et al. Prevalence and distribution of single and multiple HPV infections in cytologically abnormal cervical samples from Italian women. **Virus Res**, n. 125, p. 176-82, 2007.

GARCIA, M. et al. Global Cancer Facts & Figures. Atlanta, GA: **American Cancer Society**, 2007.

GARCÍA E.B, et al. Genotypes distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with cervical lesions in Bioko, Equatorial Guinea. **Diagn Pathol**. (3):1-8.2009.

GARLAND S.M, SKINNER S.R, BROTHERTON J.M. Adolescent and young adult HPV vaccination in Australia: achievements and challenges. **Prev Med**.53(Suppl1):S29–S35. 2011.

GARLAND S.M, BROTHERTON J.M.L, CODON J.R, et al. Human papillomavirus prevalence among indigenous and non-indigenous Australia women prior to a national HPV vaccination program. **BMC Medicine**.(9):7-13.2011

GARRAFA, V inclusão social no contexto político da bioética. **Revista Brasileira de Bioética, Brasília**, v.1, n.2, p.122-32, 2005.

GERTIG D.M; BROTHERTON J.M; BUDD A.C, et al. Impact of a population-based HPV vaccination program on cervical abnormalities and linkage study. **BMC Med**.11:227;2013

GHITTONI, R.; et al. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. **Virus Genes**, 40 (1): 1-13, 2010.

GISSMANN L., et al., Human papillomavirus type 6 and 11 sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. **Proc Nat Acad Sci USA**80:560-3, 1983.

GOODMAN M.T., et al. Prevalence, acquisition, and clearance of cervical human papillomavirus infection among women with normal cytology: Hawaii Human Papillomavirus Cohort Study. **Cancer Res**, n. 68, p. 8813-24, 2008.

GOLDMAN B, REBOLJ M, RYGAARD C, et al. Patterns of cervical coinfection with multiple human papilloma virus types in a screening population in Denmark, *Vaccine* j.elsevier, 2013 Mar 15; 31 (12) :1604-9. doi:10.1016.

GRAVITT, P.E., et al. Improved amplification of genital human papillomaviruses. **J Clin Microbiol**, n. 38, p. 357-61, 2007.

GRAVITT, P. E., et al. A comparison between real-time polymerase chain reaction and hybrid capture 2 for human papillomavirus DNA quantitation. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 12, n. 6, p. 477-84, 2003.

GRAVITT PE et al. New technologies in cervical cancer screening. **Vaccine** 26 (Suppl 10):K42-52.2008.

GRAVITTE., et al. Improved Amplification of Genital Human Papillomaviruses. **J Clin Microbiol.** 38(1): 357-361. 2000.

GUIMARÃES J.V., et al. Frequência de alterações cérvico-vaginais em mulheres submetidas ao exame citopatológico. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 9, n. 3, p. 815-820; 2007.

GUTIÉRREZ-XICOTÉNCATL, LOURDES et al. Molecular diagnosis of human papillomavirus in the development of cervical cancer. **Salud pública Méx**, vol.51, suppl.3, p.s479-s488, 2009.ISSN 0036-3634.

GUAN, P., et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. **Int. J. Cancer**, n. 131, p. 2349-59, 2012.

HASSAN, R.; HO, M. Mesothelin targeted cAncer immunotherapy. **Eur J. Cancer**, v. 44, n. 1,Jan, p. 46-53, 2008.

HARPER D.M 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. **Lancet** 367:1247–55,.2006.

HERRERO, R., et al. Epidemiologic profile of type specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. **J Infect Dis**, v. 191, n. 11, p. 1796-807, 2005.

HODA, R. S.; HODA, S. A. **Atypical Squamous Cells**. In: Fundamentals of Pap Test Cytology, Humana Press, New Jersey, p. 81-94, 2007.

HOORY, T., MONIE, A.; GRAVITT, P. et al. Molecular Epidemiology of Human Papillomavirus. **Jornal da Associação Médica de Formosa**, v. 107, n. 3, p. 198-217, 2008.

HUBBARD, R. A. Human papillomavirus testing methods. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 127, p. 940-5, 2003.

IARC Monographs: A review of human carcinogens Part B: biological agents. **Lancet Oncol.**10:321-2.2009.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (**IARC**). Chapter 2: An introduction to cervical intraepithelial neoplasia (CIN). Disponível em: <http://screening.iarc.fr/colpochap.php?lang=4&chap=2>. Acesso em 20 de dezembro de 2010.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (**IARC**). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 100B: A Review of Human Carcinogens: Biological Agents. Lyon: **International Agency for Research on Cancer**, 2012.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2010 – **Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde**; 2009.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2012 – **Incidência de Câncer no Brasil. Ministério da Saúde**; 2012.

JUCKETT, G.; HARTMAN-ADAMS, H. Human Papillomavírus: clinical manifestations and prevention. **Am F Physician**, v. 82, n. 10, p. 1209-14, 2010.

KANODIA, S; FAHEY, L. M.; KAST, W. M. Mechanisms used by Human Papillomaviruses to escape the host immune response. **Current Cancer Drug Targets**, n. 7, p. 79-89, 2007.

KLUG, A.; FINCH, J.T. Structure of viruses of the papilloma polyoma type. I. Human wart virus. **J Mol Biol.**, N. 11, p. 403-23, 1965.

KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Papillomavirus**. In: Fields Virology 5th ed. Lippincott Williams & Wilking, 2007.

KOIDL, C. et al. Comparison of molecular assays for detection and typing of human papillomavirus. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 199, n. 2, p. 144. e1-6, 2008.

KOSS, L. G.; GOMPEL, C. Introdução a Citopatologia Ginecológica com correlações Histológicas e Clínicas. São Paulo: **Roca**; p.84-99.2006.

KORNEGAY, J. R., et al. International Proficiency Study of a Consensus L1 PCR Assay for the Detection and Typing of Human Papillomavirus DNA: Evaluation of Accuracy and Intralaboratory and Interlaboratory Agreement. **J Clin Microbiol.**, v. 41, n. 3, p. 1080-6, 2003.

KURMAN, R.; SOLOMON, D.; MORIARTY, A. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **Jama**, n. 287, p. 2114-9, 2002.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Robbins – Patologia Básica. Rio de Janeiro: **Elsevier**; p. 782-784.2008.

LAX S. Histopathology of cervical precursor lesions and cancer. **Acta Dermatoven APA**, 20 (3): 125-133.2011.

LEASK J et al., 2009. Implementation of the Australian HPV vaccination program for adult women: Qualitative key informant interviews. *Vaccine*. 2009;27(40):5505-12

LEFEVER, S., et al. Estructured language and reporting guidelines for real-time quantitative PCR data. **Nucleic Acids Res**, v. 37, n. 7, p. 2065-9, 2009.

LEITE, I B. Os quilombos no Brasil: questões conceituais e normativas. **Etnográfica**, Vol. IV (2), pp. 333-354, 2000.

LEITE IK. O projeto político quilombola: desafios, conquistas e impasses atuais. **Est. Fem.** 16(3)965-77, 2008.

LEVI, J. E. et al. Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. **Gynecologic Oncology**, v. 92, p. 225-231, 2004.

LEVI, J. E. et al. High presence of human papillomavirus (HPV), infections and high frequency of multiple HPV genotypes in Human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 9, p. 3341-3345, 2002.

LEINONEN M et al. Age-specific evaluation of primary human papillomavirus screening vs conventional cytology in a randomized setting. **J Natl Cancer Inst.** 101(23):1612-23.2009.

LI, N., et al. Human Papillomavirus type distribution in 30.848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication. **Int J Cancer**, n. 128, p. 927-35, 2011.

LORENZATO, F. et al. The use of human papillomavirus typing in detection of cervical neoplasia in Recife (Brazil). **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 10, p. 143-150, 2000.

LOPES, F. Experiências desiguais ao nascer, viver, adoecer e morrer: tópicos em saúde da população negra no Brasil. In: Brasil, Fundação Nacional de Saúde. Saúde da população negra no Brasil: contribuições para a promoção da equidade. Brasília: **FUNASA**. p 446.2005.

MASSAD, L. S.; EINSTEN, M.; MYERS, E. The impact of human papillomavírus vaccination on cervical cancer prevention efforts. **Gynecologic Oncology**, n. 114, p. 360-4.2009.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428-435, 2008.

MELO M.M. Mocambo: antropologia e história no processo de formação quilombola. **Mana** vol.15(2):585-603 no.2 Rio de Janeiro Oct .2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Plano de ações estratégias para enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil, 2011-2012. http://portal/saúde/area.cfm.id_area= 1818.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional do Cancer (INCA). **Estimativa da incidência e mortalidade e por Câncer no Brasil**. 2012. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/epidemiologia/estimativa/2012/2013>>.

MIDDLETON, K., 2003. Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. **J Virol.**, v. 77, n. 19, p. 10186-201, 2003.

MOLIJIN, A.; KLETER, B.; QUINT, W. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infection. **Journal of Clinical Virology**, 32S: S43-S51, 2005.

MONSONEGO, J.; POLLINI, G.; EVRARD, M. J. Detection of human papillomavirus genotypes among high-risk women: a comparison of hybrid capture and linear array tests. **Sex Transm Dis.**, n. 35, p. 21-7, 2008.

MOSCICKI, A. B. HPV vaccines: today and in the future. **J Adolesc Health** 43(4): S26-S40, 2008.

MUÑOZ, N., et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. **N Engl J Med.**, n. 348, p. 518-27, 2005.

MCLAUGHLIN-DRUBIN, M.E.; MUNGER, K. The human papillomavirus E7 oncoprotein. **Virology**, v. 384, n. 2, p. 335-344, 2009.

NASCIMENTO, M.D.S.B., et al. Programa Nacional de Combate ao Câncer de Colo Uterino no Estado do Maranhão: análise de aspectos e epidemiológicos. **Acta Oncol. Bras.**, v. 23, n. 3, p. 530-5, out/dez., 2003.

NARVAI PC. Saúde bucal coletiva: caminhos da odontologia sanitária à bucalidade. **Rev Saúde Pública**; 40(N Esp): 141-7, 2006.

NONNENMACHER, B; BREITENBACH, V; VILLA, L. L. Identificação do papillomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. **Rev. Saúde Pública**, v. 36, n. 1, p. 95-100, 2002.

NORONHA, V.; MELLO, W.; VILLA, L. L. A. Human papillomavirus associated with uterine cervix lesions. **Rev Soc Bras Med Trop.**, n. 32, p. 235-40, 1999.

OLIVEIRA, M.; GUERRA, M.; BERNARDO, F. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in silages assessed by fluorescent in situ hybridization. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 267-9, 2008.

OLIVEIRA F. Saúde reprodutiva, etnicidade e políticas públicas no Brasil. In: Monteiro S. Sansone O, organizadores. *Etnicidade na América Latina: um debate sobre raça e direitos reprodutivos*. Rio de Janeiro: **FIOCRUZ**; p.344.2004.

PAAVONEN, J., et al. 2009. Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types (PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. **Lancet**, n. 374, p. 301-14, 2009.

PAGLIUSI, S. R; DILLNER, J; PAWLIA, M. International Standard reagents for harmonization of HPV serology and DNA assays-an update. **Vaccine**, n. 24, S3, p. 193-200. 2006.

PANATTO D, et al. Prevalence of human papillomavirus in young Italian women with normal cytology: how should we adapt the national vaccination policy. **BMC Infectious Diseases** 2013, 13:575 <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/13/575>.

PASSOS, M.R et al. GENITAL HUMAN PAPILOMAVIROSIS; *DST* – **J. Bras Doenças Sex Transm.** 20(2): 108-124, 2008 – ISSN:0103-4065.

PITTA, D. R.; SARIAN, L. O.; CAMPOS, E. A. et al. Phylogenetic classification of human papillomavirus genotypes in high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women from a densely populated Brazilian urban region. **São Paulo Medical Journal**, v. 127, n. 3, p. 122-7, 2009.

QIAO YL et al. A new HPV-DNA test for cervical-cancer screening in developing regions: a cross-sectional study of clinical accuracy in rural China. **Lancet Oncol**; 9 (10):929-36.2008.

RABELO-SANTOS, S. H. et al. Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiania, Brazil. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 2, p. 181-4, 2003.

RAMA, C. H., et al. Prevalência do HPV em mulheres rastreada para o câncer cervical. **Rev Saúde Pública**, v. 42, n. 1, p. 123-30, 2008.

RAMAS V., et al. Human Papillomavirus Genotypes Distribution in Cervical Samples From Uruguayan Women, **Journal of Medical Virology** 85:845–851. 2013

RIBEIRO, A. A. Prevalência de tipos específicos de Papilomavírus humano (HPV) e relação com a severidade da lesão em mulheres com exame citopatológico anormal. Goiânia, GO: Universidade Federal de Goiás, 2009.

RIBEIRO, A. A., et al. Association between HPV types and species groups and cervical neoplasia from a highrisk área for Cervical Cancer, Goiânia, Brazil. **Int J Gynecol Pathol.**, v. 30, n. 3, p. 288-94, 2011.

RODRIGUES, A. D., et al. Comparação das técnicas de captura de híbridos e PCR para detecção de HPV em amostras clínicas. **J Bras Med Lab.**, v. 45, n. 6, p. 457-62, 2009.

SAIKI, R. K. et al. Departments of Human Genetics and Microbial Genetics, Cetus Corporation, 1400 Fifty-Third Street, Emeryville, California 94608, USA. For more information, fill in reader service number 100, **Science**, n. 239, p. 487-491, 1988.

SASLOW D., et al. American Cancer Society Guideline for Human Papillomavirus (HPV) Vaccine Use to Prevent Cervical Cancer and Its Precursors. **CA Cancer J Clin** 2007;57:7-28.

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

SCHUTZBANK TE, GINOCCHIO CC. Assessment of clinical and analytical performance characteristics of and HPV genotyping test Diagn Cytopathol; 40(4): 367-73. 2012

SCHIFFMAN, M.; CLIFFORD, G.; BUONAGURO, F.M. Classification of weakly carcinogenic human papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline. **Infect. Agent Cancer** 4,8, 2009.

SCHIFFMAN M, HERRERO R. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology*;337:76–84.2005.

SCHIFFMAN M, KHAN M.J, SOLOMON D et al., A study of the impact of adding HPV types to cervical cancer screening and triage tests, **J Natl Cancer Inst** 97, 147-150; 2005.

SHEPARD, A.; BOYLE, S.; KOSARIKOV, D. The Roche Linear Array® HPV Test: Improved performance over previous research prototypes. In: **21st International Papillomavirus Conference**, México City, 2004.

SHIN, H.; FRANCESCHUI, S.; VACCARELA, S. Prevalence and determinants of genital infection with Papillomavírus, in female and male university students in Busan, South Korea. **International Journal of Infectious Diseases**, 190; 3: 468-76, 2004.

SOLOMON D, DAVEY D, Kurman R, Moriarty A. O' Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, Wilbur D, Wright T, Young N. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. **JAMA**.287:2114-9; 2002.

SANTOS R.V, MAIO M.C. Qual “retrato do Brasil”? Raça, biologia, identidades e política na era da genômica. **Mana**,10(1):61-95.2004.

SOLOMON, D.; NAYAR, R. Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal. **Revinter**. 2. ed. 89-90, 2004.

SMITH, J. S.; LINDSAY, L.; HOOTS, B. et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesion: a meta-analysis update. **In J Cancer** borderline. *Infect. Agent Cancer* 4,8, 2009.

SNIJDEERS, P. J. F.; STEENBERGEN, R. D. M.; HEIDEMAN, D. A. M. et al. HPV-mediated cervical carcinogenesis: concepts and clinical implications. **Journal of Pathology**, n. 208, p. 152-64, 2006.

STEENBERGEN, R. D.; DE WILDE, J.; WILTING, S. M. et al. HPV-mediated transformation of the anogenital tract. **J Clin Virol.**, 32 Suppl 1:S25-33.1, 2005.

STANLEY M. Immune responses to human papillomavirus. **Vaccine**;24(Suppl. 1): S16–22.2006.

STANLEY M. Potential mechanisms for HPV vaccine-induced long-term protection. **Gynecol Oncol.** Jun;118(1 Suppl.):S2–7.2010.

SILVEIRA, L. M. S.; CRUZ, A. L. N.; FARIA, M. S. Atipias cervicais detectadas pela citologia em mulheres atendidas em dois hospitais da rede pública de São Luís-MA. **Rev. Bras. de Anál. Clín.**, 40 (2): 115-119, 2008.

SILVA, M. J. P. M. A, GONÇALVES A, KATHERINE S. A eficácia da vacina profilática contra o HPV nas lesões HPV induzidas. **Femina** 2009;37(10):1-8.

SILVA DO, GUERRERO AFH, GUERRERO CH, TOLEDO L.M. Rev. A rede de causalidades da insegurança alimentar e nutricional de comunidade quilombolas com a construção da rodovia BR-163, Pará, Brasil. **Rev. De Nutr.**;(Suplemento):83s-97s.2008.

STRAUSS, M. J.; SHAW, E. V.; BUNTING, H.; MELNICK, J. L. “Crystalline” virus-like particles form skin papillomas characterized by intranuclear inclusion bodies. **Proc Soc Exp Biol Med.**, n. 72, p. 46-52.1949.

STOLER, M. H. Human papillomavirus biology and cervical neoplasia. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 127, p. 935-939, 2003.

SZAREWSKI, et al. Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic HPV types

(PATRICIA): final analysis of a double-blind, randomised study in young women. **Lancet**, n. 374, p. 301-14, 2009.

TONON A.S, et al. Human papillomavirus cervical infection in Guaraní Indians from the rainforest of Misiones, Argentina. *International Journal of Infectious Diseases*; 10: 2-7, 2003.

THOMAS, J. O., et al.. Prevalence of Papillomavirus infection in women in Ibadan, Nigeria: a population-based study. **Br J Cancer**, n. 90, p. 638-45, 2004.

TROTTIER, H.; MAHMUD, S.; COSTA, M. C. Human papillomavirus infections with multiple types and risk of cervical neoplasia. **Cancer Ep Biomarkers Prev**, v. 15, n. 7, p. 1274-1280, 2006.

TROTTIER H, FRANCO E.L. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006;24 Suppl 1:S1-15.

THULER L.C.S. Lesões precursoras do câncer do colo uterino – Aspectos epidemiológicos. Rio de Janeiro: Figueiredo EMA, editor. *Ginecologia oncológica*. 2004; p. 3-6.

TOTA J, et al. Epidemiology and burden of HPV infection and related diseases: implications for prevent strategies. *Preventive Medicine* 2011; 53 (2011) S12–S21.

WANG Y.M., 2013. Human Papillomavirus (HPV) infection in women participating in cervical cancer screening from 2006 to 2010 Shenzhen City, South China. *Asian Pacific J of Cancer Prev*. Vol 14(12), 7483-7487.2013.

WALBOOMERS, J. M., et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cancer worldwide. **J Pathol.**, n. 189, p. 12-9, 1999.

WENTZENSEN, N.; VINOKUROVA, S.; VON KNEBEL, D.M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. **Cancer Res**, v. 64, p. 3878-84, 2004.

WOODMAN, C. B.; COLLINS, S. I.; YOUNG, L.S. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. **Nat Rev Cancer**, v. 7, n. 1, p. 11-22, 2007.

WRIGHT, T. C; COX, J. T; MASSAD, L. S. Consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. **Journal Of the American Medical Association**, n. 287, p. 2120-2129, 2006.

WRIGHT JR, T. C. HPV-DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer. **Jama**, n. 283, p. 81-86, 2000.

WRIGHT, T. C.; GATSCHA, R. M.; LUFF, R. D. Epithelial cell abnormalities: Squamous. In D Solomon & R Nayar. **The Bethesda system for Reporting Cervical Cytology**, Springer-Verlag, New York, p. 89-121, 2004.

WU R.F, DAI M, QIAO Y.L. Human papillomavirus infection in women in Shenzhen City, People's Republic of China, a population typical of recent Chinese urbanisation. **Int J Cancer**, **121**, 1306-11.2007

VINODHINI K., et al. Prevalence of high-risk HPV and associated risk factors in cases of cervical carcinoma in Tamil Nadu, India. **Int. J Gynecol & Obstet**. 2012.

VICENTE JP. Quilombos do Vale do Ribeira. **R.Pediatrics**; 26(1):63-5.2004

VOLOCHKO A. A saúde nos quilombos. In: VOLOCHKO A, BATISTA LE, organizadores. Saúde nos quilombos. São Paulo: **Instituto de Saúde**; p. 147-168. Temas em Saúde Coletiva. 9), 2009.

YUK-CHING; et al. **Journal of Medical Virology** vol. 82 issue 9 September. p. 1600 – 1605.2010

YUGAWA, T.; KIYONO, T. Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. **Reviews in Medical Virology**, n. 19, p. 97-113, 2009.

ZEFERINO, L. C.; DERCHAIN, S. F. Cervical cancer in the developing world. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 20, n. 3, p. 339-54, 2006.

ZACHOW, R.K., et al. Detection of human papillomavirus DNA in anogenital neoplasias. **Nature** 300, 771–773.1982.

ZUR HAUSEN, H. 1976. Condyloma acuminata and human genital cancer. **Cancer Res.**, n. 36, p. 794, 1976.

ZUR HAUSEN, H 1977. Human papilloma viruses and their possible role in squamous cell carcinomas. **Curr. Top. Microbiol. Immunol**, n. 78, p. 1-30, 1977.

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA - UFG

Você esta convidada a participar desta pesquisa como voluntária, a qual tem por finalidade de analisar as anormalidades citológicas no colo do útero, a infecção por Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres quilombolas, visando a epidemiologia, diagnóstico e profilaxia da infecção.

No caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória e, a qualquer momento, você poderá retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em relação a você e ao pesquisador.

Você receberá uma cópia deste termo onde constam os telefones e endereços dos pesquisadores, podendo tirar suas dúvidas sobre a pesquisa a qualquer momento. Sendo assim eu, **Prof. José Eduardo Batista** (pesquisador responsável), resolvi escrever um Projeto de Pesquisa tendo como objetivo encontrar anormalidades citológicas no colo uterino e infecções por HPV em mulheres quilombolas na faixa de 15 a 59 anos.

Sua participação é importante e nos ajudará aprofundar nossos conhecimentos na prevenção do câncer do colo de útero e HPV. Não há riscos e o desconforto será mínimo, permitindo a utilização de aparelhos ginecológicos esterilizados, descartáveis e adequados. Nós poderemos oferecer a você mais informações sobre o câncer do colo do útero e tirar quaisquer dúvidas, a fim de orientar no tratamento precoce. Não haverá nenhum gasto com sua participação e também não receberá nenhum pagamento. Garantimos que suas informações pessoais tais como nome, identidade e endereço não serão divulgados. Os dados serão colocados em pesquisas científicas, mantendo-se o sigilo, buscando, dessa forma, uma melhoria na qualidade de sua vida.

Para qualquer informação, a Sr.^a poderá entrar em contato com o pesquisador (Rua de São Pantaleão, .nº 02 – Bairro Madre Deus, CEP-65.000-000 – Departamento de Patologia/UFMA, Telefone – (98) 3231-3644 – São Luís-Maranhão, ou poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa – HU/UFMA – Unidade Presidente Dutra – Rua

Barão de Itapary s/n – Centro – São Luís-Maranhão – CEP: 65020-070 – Fone: (98) 2109-1250.

Se você se encontra suficientemente esclarecida e concorda em participar da pesquisa, assine abaixo.

São Luís (MA), ____ / ____ / ____

Nome e assinatura do sujeito responsável
ou do seu representante legal menor de 18 anos

RG: _____ SSP/UF- _____

Assinatura do Pesquisador Responsável

APÊNDICE B - Ficha Protocolo

**PROJETO DE PESQUISA PARA DOUTORADO – FICHA PROTOCOLO****Alterações morfológicas, tipos de HPV e carga viral em mulheres quilombolas**

N.º Ficha _____

DATA: ____/____/____

Nome: _____

End.: _____

Ponto de referência: _____

Cidade: _____ UF: _____ Tel: _____

Idade: _____ Profissão: _____

Naturalidade: _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

1. Escolaridade:

☐ Analfabeta

Ensino fundamental

☐ Completo☐ Incompleto

Ensino superior

☐ Completo☐ Incompleto

2. Estado Civil:

☐ Solteira☐ Casada☐ Viúva☐ Divorciada☐ União Consensual

3. Cor: _____

4. Etilismo

☐ Sim☐ Não

Frequência: _____

Tipo de bebida: _____

Tabagismo

☐ Sim☐ Não

Ex-fumante: _____

Nº cigarros/dia: _____

Tempo de consumo: _____

5. Idade da Menarca: _____

Idade do 1.º Coito: _____

Menopausa

☐ Sim☐ Não

Idade: _____

Nº cigarros/dia: _____

Tempo de consumo: _____

6. N.º de Gestações: _____

Idade na primeira gestação: _____ Partos Vaginais: _____ Cesáreos: _____

7. Abortamento: ☐ Sim☐ Não. E _____ P _____Curetagens: ☐ Sim☐ Não

8. Número de parceiros sexuais na vida:

☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ou mais

9. Atualmente tem parceiro fixo:

☐ Sim ☐ Não

Tempo: _____ Número de coitos/semana: _____

10. Você atualmente apresenta alguma queixa genital?

☐ Sim ☐ Não

Qual? _____

11. Faz uso de método contraceptivo:

☐ Sim ☐ Não
☐ Camisinha masculina ☐ Anticoncepcional oral ☐ Adesivo dérmico
☐ Camisinha feminina ☐ Método sintodérmico ☐ Dispositivo intrauterino
☐ Injeção trimestral ☐ Laqueadura tubária

12. Utilizou camisinha na primeira relação com o parceiro fixo:

☐ Sim ☐ Não

13. Utiliza/ou camisinha com parceiros não fixos:

☐ Sim ☐ Não

14. Utiliza(utilizou)ACO: ☐ sim ☐ não

☐ Sim ☐ Não Tempo: _____

Qual o fármaco utilizado? _____

15. Orientação sexual:

☐ Heterossexual ☐ Homossexual ☐ Bissexual

16. Pratica outra modalidade de penetração peniana, além do vaginal:

☐ Oral ☐ Anal ☐ Outro: _____

17. Parceiro atual é tabagista:

☐ Sim ☐ Não

Nº cigarros por dia: _____

18. Tem conhecimento da idade de início da atividade sexual do parceiro atual? _____

19. Tem conhecimento se o parceiro atual visitava e/ou visita profissionais do sexo:

☐ Sim ☐ Não

20. O parceiro atual teve episódios prévios de DST?

☐ Sim ☐ Não Qual? _____

21. Dieta:

☐ Fígado bovino ☐ Cenoura ☐ Abóbora

☐ Espinafre ☐ Frutas cítricas

Frequência: _____

22. Água encanada em casa:

() Sim () Não

23. Frequência da higiene genital:

() Por dia () Por semana Produto: _____

24. Método diagnóstico que encontrou a lesão intraepitelial cervical:

() Exame Papanicolaou () Colposcopia () Conização diagnóstica

25. Como foi diagnosticada a lesão neoplásica intraepitelial cervical:

() Sintomas () Consulta de rotina ao ginecologista
() Campanha de preventivo () Outro: _____

26. Visitava com frequência o ginecologista antes do diagnóstico de NIC:

() Sim () Não Frequência: _____

Antecedentes pessoais:

27. DST:

() Sim () Não
() Há quanto tempo? _____

() DM () HAS () Tireoidopatias
() Cardiopatia () Obesidade () Câncer

Localização das lesões: _____

28. Antecedentes familiares

() DM () HAS () Tireoidopatias
() Cardiopatia () Obesidade () Câncer

Localização do câncer: _____

Parentesco: _____

29. Queixas:

() Prurido () Leucorreia Cor: _____
() Dispareunia () Queimação () Verrugas

Outros. Quais? _____

EXAMES GINECOLÓGICOS

COLPOCITOLOGIA: Data: ____/____/____

RESULTADO () Normal () Inflamatório
() HPV () ASCUS () ASCH
() LSIL () HSIL () CA
() Gardnerella () Candida () Trichomonas
() Herpes
Outros. Quais? _____

COLPOSCOPIA: Data: ____/____/____

RESULTADO () Normal () Anormal () Insatisfatório
() Susp. Invasão () Cond. Exofítico () Miscelânea

HISTOPATOLOGIA: Data: ____/____/____

RESULTADO

() Crônica

() HPV

() NIC I

() NIC II

() NIC III

() CA

Outros. Quais? _____

GENOTIPAGEM PARA HPV:

Data: ____/____/____

Material obtido por:

() Swab

() Raspado

() Biópsia

Local:

() Colo

() Vagina

() Vulva

() Ânus

() Cavidade oral

Resultado: _____

PARCEIRO REALIZOU GENOTIPAGEM ?

() Sim

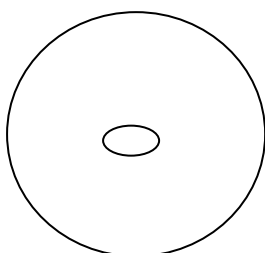
() Não

Data: ____/____/____

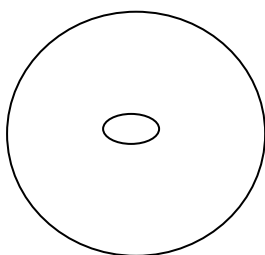
Resultado: _____

EVOLUÇÃO/CONDUTA

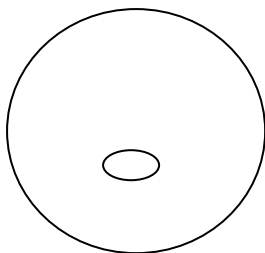
Colposcopia; Data: ____/____/____



Colposcopia; Data: ____/____/____



Colposcopia; Data: ____/____/____



ANEXO A – Requisição de exame citopatológico colo do útero (ficha do SUS).

REQUISIÇÃO DE EXAME CITOPATOLÓGICO - COLO DO ÚTERO	
Viva Mulher - Programa Nacional de Controle do Câncer do Colo do Útero e de Mama	
UF	Cartão SUS
Código da Unidade de Saúde	
Unidade de Saúde	
Município	Prontuário
Informações Pessoais	
Nome completo da mulher	
Nome completo da mãe	
Apelido da mulher	UF
Identidade	CPF
Orgão emissor	Idade
Data de nascimento	
Dados residenciais	
Logradouro	
Número	Complemento
Bairro	UF
Município	
CEP	DDD
Telefone	
Ponto de referência	
ESCOLARIDADE: ☐ Analfabeta ☐ 1º grau incompleto ☐ 1º grau completo ☐ 2º grau completo ☐ 3º grau completo	
Dados da Anamnese	
1. Fez o exame preventivo (papanicolau) alguma vez? ☐ Sim. Quando fez o último exame? Ano ☐ Não ☐ Não sabe	
2. Usa DIU? ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe	
3. Está grávida? ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe	
4. Usa pílula anticoncepcional? ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe	
5. Usa hormônio / remédio para tratar a menopausa? ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe	
6. Já fez tratamento por radioterapia? ☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe	
7. Data da última menstruação / regra: ☐ Não sabe / não lembra	
8. Tem ou teve algum sangramento após relações sexuais? (não considerar a primeira relação sexual na vida) ☐ Sim ☐ Não / não sabe / não lembra	
9. Tem ou teve algum sangramento após a menopausa? (não considerar o(s) sangramento(s) na vigência de reposição hormonal) ☐ Sim ☐ Não / não sabe / não lembra / não está na menopausa	
Exame Clínico	
10. Inspeção do colo ☐ Normal ☐ Ausente (anomalias congênitas ou retirado cirurgicamente) ☐ Alterado ☐ Colo não visualizado	
11. Sinais sugestivos de doenças sexualmente transmissíveis? ☐ Sim ☐ Não	
Data da coleta	Coletor

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

Identificação do Laboratório	
CNPJ do laboratório 	Número do exame
Nome do laboratório 	Recebido em:
Resultado do Exame Citopatológico - Colo do Útero	
Tipo da amostra: ☐ Convencional ☐ Em meio líquido	
AVALIAÇÃO PRÉ-ANALÍTICA: AMOSTRA REJEITADA POR: ☐ Ausência ou erro na identificação da lâmina, frasco ou formulário ☐ Lâmina danificada ou ausente ☐ Causas alheias ao laboratório; especificar: _____ ☐ Outras causas; especificar: _____ EPITÉLIOS REPRESENTADOS NA AMOSTRA: ☐ Escamoso ☐ Glandular ☐ Metaplástico	ADEQUABILIDADE DO MATERIAL: ☐ Satisfatória Insatisfatória para avaliação oncótica devido a: ☐ Material acelular ou hipocelular em menos de 10% do esfregaço ☐ Sangue em mais de 75% do esfregaço ☐ Plócitos em mais de 75% do esfregaço ☐ Artefatos de dessecação em mais de 75% do esfregaço ☐ Contaminantes externos em mais de 75% do esfregaço ☐ Intensa superposição celular em mais de 75% do esfregaço ☐ Outros (especificar): _____
DIAGNÓSTICO DESCRITIVO: ☐ Dentro dos limites da normalidade, no material examinado ALTERAÇÕES CELULARES BENIGNAS REATIVAS OU REPARATIVAS: ☐ Inflamação ☐ Metaplasia escamosa imatura ☐ Reparação ☐ Atrofia com inflamação ☐ Radiação ☐ Outros; especificar: _____ MICROBIOLOGIA: ☐ <i>Lactobacillus</i> sp ☐ Cocus ☐ Sugestivo de <i>Chlamydia</i> sp ☐ <i>Actinomyces</i> sp ☐ <i>Candida</i> sp ☐ <i>Trichomonas vaginalis</i> ☐ Efeito citopático compatível com vírus do grupo <i>Herpes</i> ☐ Bacilos supracitoplasmáticos (sugestivos de <i>Gardnerella/Mobiluncus</i>) ☐ Outros bacilos ☐ Outros; especificar: _____	CÉLULAS ATÍPICAS DE SIGNIFICADO INDETERMINADO: Escamosas: ☐ Possivelmente não neoplásicas ☐ Não se pode afastar lesão de alto grau Glandulares: ☐ Possivelmente não neoplásicas ☐ Não se pode afastar lesão de alto grau De origem indefinida: ☐ Possivelmente não neoplásicas ☐ Não se pode afastar lesão de alto grau ATIPIAS EM CÉLULAS ESCAMOSAS: ☐ Lesão intra-epitelial de baixo grau (compreendendo efeito citopático pelo HPV e neoplasia intra-epitelial cervical grau I) ☐ Lesão intra-epitelial de alto grau (compreendendo neoplasias intra-epiteliais cervicais graus II e III) ☐ Lesão intra-epitelial de alto grau, não podendo excluir micro-invasão ☐ Carcinoma epidermóide invasor ATIPIAS EM CÉLULAS GLANDULARES: ☐ Adenocarcinoma "in situ" Adenocarcinoma invasor: ☐ Cervical ☐ Endometrial ☐ Sem outras especificações ☐ OUTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS: ☐ PRESENÇA DE CÉDULAS ENDOMETRIAIS (NA PÓS-MENOPAUSA OU ACIMA DE 40 ANOS, FORA DO PERÍODO)
Data da Liberação 	Responsável pelo resultado
CNPJ (CPF) 	

ANEXO B – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do HU-UFMA.

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DIRETORIA ADJUNTA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	
PARECER CONSUBSTANCIADO INICIAL	Nº. do Parecer: 233/11 (2ª via) Registro do CEP: 224/09-01	
PROJETO DE PESQUISA	Nº do Protocolo: 005722/2009-00 Parecer: APROVADO	

I - Identificação:

Título do projeto: Alterações Morfológicas, Tipos de HPV, Carga Viral em Mulheres Quilombola	
Identificação do Pesquisador Responsável: José Eduardo Batista	
Identificação da Equipe executora: M ^a do Desterro Soares B. Nascimento, Sílvia Helena Rabelo dos Santos, Reydson Rafael R. Reis, José Eduardo Batista Filho	
Instituição onde será realizado: Universidade Federal do Maranhão e Universidade Federal de Goiás	
Área temática: III	Multicêntrico: Não
Cooperação estrangeira: Não	Patrocinador: Não

II - Objetivos:**Geral:**

Detectar e identificar os tipos específicos de HPV, determinar a carga viral e o padrão de disposição do genoma e correlacionar com anormalidades citológicas presentes em esfregaços cervicais de mulheres quilombolas.

Específicos:

Avaliar os fatores de risco associados à infecção do HPV e anormalidades citológicas em mulheres quilombolas;

Determinar os tipos específicos de HPV em mulheres quilombolas com anormalidades citológicas;

Determinar os tipos específicos de HPV em mulheres quilombolas sem anormalidades citológicas;

Avaliar a carga e estado físico do genoma viral em mulheres quilombolas com anormalidades citológicas;

Avaliar a carga e estado físico do genoma viral em mulheres quilombolas sem anormalidades citológicas;

Avaliar a associação entre os tipos específicos do HPV, a carga viral e o estado físico do DNA do HPV e o diagnóstico de NIC 2 e NIC 3 em mulheres portadoras de anormalidades citológicas.

III- Sumário do projeto:

Trata-se de um estudo de corte transversal, a população será constituída de mulheres quilombolas na faixa etária de 12 a 59 anos usuárias do Sistema Único de Saúde do município de Codó – Maranhão, e Região dos Cocais para rastreamento do câncer do colo uterino, onde serão, ainda, coletados materiais que possibilitem o diagnóstico do câncer de colo de útero ou de lesões precursoras e da presença de HPV. Os materiais coletados serão encaminhados ao laboratório do Hospital Universitário e ao Laboratório do Núcleo de Pesquisa Básica e Aplicada – NIBA, ambos da Universidade Federal do Maranhão, para a realização dos exames.

IV - Comentários do relator frente à resolução 196/96 e complementares:

No projeto são apresentados os elementos indispensáveis à sua realização como introdução, objetivos, revisão teórica, metodologia, orçamento, cronograma, instrumento para coleta dos dados, TCLE e referências.

V - Parecer Consubstanciado do CEP

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

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

São Luís, 02 de maio de 2013


Profª Drª Rita da Graça Carvalho Frazão Corrêa
Vice-Coordenadora do CEP-HUUFMA
Ethica homini habitat est