

INCIDÊNCIA DOS GENÓTIPOS 16 E 18 DO HPV EM MULHERES DE CIDADE DA REGIÃO AMAZÔNICA.¹

INCIDENCE OF HPV GENOTYPES 16 AND 18 IN WOMEN IN CITY AMAZON REGION

Lacy Cardoso de BRITO JUNIOR², Ludmila Marcia Sousa do NASCIMENTO³, Bruna Pedroso TAMEGÃO LOPES⁴, Aldemir Branco de OLIVEIRA FILHO⁵, Claudio Guedes SALGADO⁶ e José Alexandre Rodrigues de LEMOS⁷

OBJETIVO: estudar a incidência dos genótipos 16 e 18 do HPV em mulheres, com ou sem citologia associada a efeito citopático compatível com HPV, provenientes do município de Barcarena - Pará. **MÉTODO:** participaram deste estudo 50 voluntárias, através de coleta cérvico-vaginal para realização de PCR-RT para HPV 16 e 18, e citologia convencional. **RESULTADOS:** a citologia mostrou prevalência de 02/50 casos de LSIL/NICI, associadas ao efeito citopático compatível com HPV. O genótipo 16 do HPV ocorreu em 04/05 casos e os genótipos 16/18 ocorreram em 01/05 casos, principalmente em mulheres que apresentavam lesões do tipo ASC-US ou LSIL/NIC I. **CONSIDERAÇÕES FINAIS:** a presença de alterações citológicas do tipo ASC-US ou LSIL/NIC I ($p=0,0166$) representou um importante alerta para a possível infecção pelos tipos 16 e 18 do HPV.

DESCRITORES: teste de Papanicolaou, sondas de DNA, HPV, PCR

INTRODUÇÃO

A Amazônia vem sendo alvo, nas últimas três décadas, de intensas transformações no seu ecossistema. Muitas decorrentes da atividade migratória de indivíduos em busca de oportunidades de emprego a partir da abertura de rodovias, exploração mineral, construções de hidrelétricas e instalação de grandes projetos agrícolas. Este êxodo resultou em crescimento populacional desordenado das áreas exploradas, e influenciou nas condições de saúde da população local com o aumentando de doenças sexualmente

transmissivas (DST)¹, como o Papiloma Vírus Humano (HPV).

Mundialmente, o HPV tem sido detectado em aproximadamente 10% a 20% da população feminina sexualmente ativa entre 15 e 49 anos de idade^{2,3,4,5,6}. Com os tipos de alto risco (genótipos 16 e 18), de reconhecida capacidade de transformação neoplásica, sendo detectados na grande maioria dos casos de câncer cervical invasivo^{3,7}.

A infecção pelos tipos virais de alto risco do HPV é uma das condições necessárias, porém, não a única para o

¹ Trabalho desenvolvido no Laboratório de Patologia Geral – Imunopatologia e Citologia do ICB da UFPA em parceria com a Fundação HEMOPA.

² Professor Doutor Adjunto IV do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA. Responsável Técnico pelo Laboratório de Patologia Geral - Imunopatologia e Citologia da UFPA.

³ Mestre em Neurociências e Biologia Celular pelo Instituto de Ciências Biológicas, UFPA, Belém, Pará, Brasil.

⁴ Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos Parasitários pelo Instituto de Ciências Biológicas, UFPA, Belém, Pará, Brasil.

⁵ Doutor em Genética e Biologia Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas, UFPA, Belém, Pará, Brasil.

⁶ Professor Doutor Associado I do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA. Membro do Laboratório de Micologia Médica da Fundação Marcelo Candio

⁷ Professor Doutor Associado I do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA. Membro do Laboratório de Biologia Molecular e Celular da Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – HEMOPA

Conflito de interesses: nenhum

desenvolvimento de uma neoplasia cervical^{2,3,4}. Outros fatores como a alta paridade, persistência da infecção, estado imunológico, uso prolongado de contraceptivos orais e o tabagismo⁸ tem sido associados à capacidade de transformação neoplásica deste vírus⁷.

Inúmeras são hoje as estratégias e metodologias disponíveis na saúde no sentido de aumentar a prevenção e rastreamento precoce do câncer de colo do útero. Dentre estas as mais importantes são as técnicas de rastreamento ou *screening* (exame de Papanicolaou ou de base líquida), a colposcopia, cervicografia e os testes de detecção do DNA de HPV por técnicas de PCR (Reação em Cadeia Polimerase)^{9,10,11,12,13,14,15}.

Destes métodos o exame de Papanicolaou continua sendo considerado hoje o mais efetivo e eficiente a ser aplicado, coletivamente, em programas populacionais de rastreamento do câncer cérvico-uterino^{9,16,17,18}.

Os testes de *screening* por citologia de base líquida^{5,19,20,21,22} e a detecção do DNA do HPV por PCR embora permitam uma melhor detecção deste patógeno ainda são muito caros e não estão totalmente disponíveis a população em geral^{4,5,23,12,23,24}.

OBJETIVO

Avaliar a incidência dos genótipos 16 e 18 do HPV em mulheres provenientes do município de Barcarena – Pará, sem lesões clínicas aparentes de cérvix uterina, com ou sem citologia ginecológica associada a efeito citopático compatível com HPV, juntamente com dados epidemiológicos como idade, escolaridade e tipo de ocupação.

MÉTODO

Amostra populacional

Participaram, voluntariamente, deste estudo 50 mulheres, provenientes das zonas urbanas e rurais da cidade de Barcarena e região, encaminhadas para Exame de

Papanicolaou de rotina na Unidade Mista de Saúde de Barcarena – Pará.

Todas as pacientes receberam informações quanto aos procedimentos realizados (Exame de Papanicolaou, convencional e de base líquida, PCR para a presença de HPV dos sorotipos 16 e 18) e da utilização dos dados para esta pesquisa, através de esclarecimentos verbais e por escrito na assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, promulgado pela Comissão de Ética do Hospital Universitário João de Barros Barreto da Universidade Federal do Pará (196/2004).

Coleta e análise do material biológico

Foi utilizado o Sistema DNA-CITOLIQU (DIGENE), de exame citológico de base líquida, para a coleta do material cérvico-vaginal, utilizando-se o quite composto de tubete com 1ml de solução Universal Collection Medium (UCM) e escova endocervical. Após a coleta, o material foi conservado a 4° C para posterior confecção das lâminas e extração do DNA viral.

A padronização das técnicas de confecção e coloração das lâminas de citologia de base líquida seguiram as indicações do fabricante e os resultados obtidos descritos segundo a Classificação de Bethesda, através de estudo duplo cego por citopatologistas do Laboratório de Patologia Geral – Imunopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA, sendo considerados positivos para alterações sugestivas de efeito citopático compatível com HPV aqueles concordantes pelos dois observadores.

Extração de DNA Viral e identificação dos genótipos 16 e 18

O DNA viral contido nas células armazenadas nos tubetes de coleta para citologia de base líquida foi extraído utilizando o quite comercial QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) seguindo as instruções do fabricante. A identificação dos genótipos 16 e 18 do HPV foi feita por PCR em tempo real,

em todas as pacientes deste estudo, empregando o sistema TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA) tendo como alvo o gene E1 do HPV.

As reações de genotipagem foram preparadas utilizando iniciadores (PF16, PR16, PF18 e PR18) e sondas específicas (PB16 e PB18) para os genótipos 16 e 18 do HPV (**Tabela 01**), e o conjunto de reagentes do kit comercial TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA), contendo nucleotídeos, tampão, UNG, AmpliTaq®, referência passiva (ROX), de acordo com as instruções do fabricante.

Tabela 01 Sequências nucleotídicas de iniciadores e sondas utilizadas para identificar os genótipos 16 e 18 do HPV

Iniciadores/ Sondas*	Sequências nucleotídicas (5'→3')
PF16	GCCTACGATAATGACATAGTAGACGATAG
PR16	ACAATCCTTTACAATTTTGCCTGTGAA
PF18	TGTCAGAAATGGTACAATGGGCATT
PR18	TGTTGCTGCTGCTAATAAGGCATA
PB16*	FAM-CAATTGGCAGACACTAATAG-TAMRA
PB18*	FAM-GATATGGCATTGAATATG-TAMRA

Cada reação foi composta por 15 µL de Master Mix, 10,5 µL de água, 1,5 µL de conjunto de iniciadores e sonda para cada genótipo (assay-by-design) e 3µL de DNA. A reação foi realizada na plataforma ABI PRISM 7000 (Applied Biosystems, Foster City, CA), com o seguinte protocolo de ciclagem: um ciclo de 50°C por 2 minutos; um ciclo de 95°C durante 10 minutos; 50 ciclos de 90°C durante 50 segundos e 60°C durante 1 minuto.

Análise estatística

Os resultados citológicos e moleculares da infecção pelo HPV foram agrupados e analisados no programa BioEstat versão 5.0, utilizando o teste exato de Fisher e o "Screening Test" visando determinar a especificidade/sensibilidade dos métodos. Sendo considerado significativo para valor de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

A análise citologia realizada mostrou a maior prevalência (40/50) de casos associados a processos inflamatórios (Tabela 2), principalmente em mulheres com idades entre 20 e 37 anos (25/50).

Com apenas 02/50 mulheres apresentando no Exame de Papanicolaou Lesões Escamosas de Baixo Grau (LSIL) / Neoplasias Intraepiteliais Cervicais de Grau I (NIC I) associadas a efeito citopático compatível com HPV. As quais se encontravam na faixa etária de 20 a 25 anos, se declararam estudantes e tinham escolaridade compatível com o 2º Grau completo (Tabela 2).

TABELA 2 – Distribuição das características de mulheres provenientes do município de Barcarena - Pará (faixa etária, ocupação e grau de escolaridade) segundo os resultados de Exame de Papanicolaou.

Indicador	Resultado do Exame de Papanicolaou			HPV
	Normal	Inflamatória	Total	
Faixa Etária:				
<20	1	3	--	4
20-25	1	9	2	12
26-31	1	9	--	10
31-37	3	7	--	10
38-43	1	4	--	5
44-49	1	3	--	4
Acima 50	--	5	--	5
Total		08	40	50
02				
Ocupação				
Domestica	3	15	--	18
Lavradora	--	6	--	6
Comerciaría	--	1	--	1
Professora	1	4	--	5
Administrativ o	2	7	--	9
Artista	--	2	--	2
Estudante	2	5	2	9
Total		08	40	50
02				
Escolaridade:				
1ºG.incomple to	2	18	--	20
1º G.completo	1	5	--	6
2ºG.incomple to	--	1	--	1
2º G.completo	3	14	2	19
3ºG.incomple to	2	2	--	4
Total		08	40	02
50				

Fonte: Laboratório de Patologia Geral – Imunopatologia do ICB da UFPA.

Em relação ao diagnóstico molecular (PCR) para a presença dos genótipos 16 e 18, do HPV observou-se a presença de material viral em 05/50 casos. Com o genótipo 16 ocorrendo em 04/05 casos e a associação dos genótipos 16/18 ocorrendo em 01/05 dos casos. Principalmente em mulheres que apresentavam Lesões Celulares Escamosas de Significado Indeterminado (ASC-US) (02/05) ou LSIL/NIC I (03/05) (Tabela 3).

TABELA 3 – Distribuição das características moleculares e genótípicas do HPV encontrado em mulheres provenientes do município de Barcarena – Pará, segundo a presença de citologia característica de lesões celulares limítrofes e pré-malignas com ou sem associação a efeito citopático compatível com HPV.

Alteração Citologia	Agentes	PCR (genótipo)
ASC-H	B. curtos	Negativo
LSIL/NIC I**	B. curtos*	HPV 16
LSIL/NIC I**	HPV	HPV 16
ASC-US**	B. curtos*	HPV 16
LSIL/NIC I**	<i>G.vaginalis</i> *	HPV 16
LSIL/NIC I	<i>T.vaginalis</i> + HPV	Negativo
ASC-US**	<i>G.vaginalis</i> + <i>T.vaginalis</i> *	HPV 16/18
Total	07	07

*p=0,1075

**p=0,1075

Legenda: PCR – Reação em cadeia Polimerase; LSIL/NIC I - Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau / Neoplasia Intraepiteliais Cervicais; ASC-US (Atipias de Células Escamosas de Significado Indeterminado); HPV – Efeito Citopático compatível com HPV; HPV 16/18 – Genótipos 16 e 18 do Papiloma Vírus, ao mesmo tempo.

Quanto à análise, segundo o "Screening Test" e o Teste Exato de Fisher (p<0,05), foi evidenciado que o efeito citopático compatível com HPV (Teste Exato de Fisher - p=0,1075) não é um achado que represente especificidade e/ou mesmo sensibilidade para o Exame de Papanicolaou em relação ao PCR para os tipos 16 e 18 do HPV. Enquanto que, a observação de alterações citológicas dos tipos ASC-US ou LSIL/ NIC I (Teste Exato de Fisher - p=0,0166) são achados que representam um alerta para a possível infecção pelos genótipos 16 e/ou 18 do HPV. Mesmo sem a evidência de efeito citopático compatível com HPV no exame citológico.

DISCUSSÃO

Neste estudo observamos que a presença de PCR positivo para os genótipos 16 ou 16/18 de HPV esteve diretamente relacionado a mulheres adultas-jovens, com média de idade 27,4 anos, início da vida

sexual em torno dos 17 anos, escolaridade compatível com 2º grau completo, que se declaravam estudantes (dados não mostrados) e que apresentavam alterações citológicas dos tipos ASC-US ou LSIL/NIC I, mesmo sem a evidência de efeito citopático compatível com HPV.

Dados concordantes com a literatura que aponta o início precoce da vida sexual e a presença de Lesões do tipo LSIL/NIC I como alguns dos principais fatores associados a presença de HPV dos tipos 16 e 18^{4,6,7,8,10,16,25,26}.

A presença de PCR positivo para os genótipos 16 ou 16/18 do HPV associado a co-infecção com outros agentes infecciosos, como *G. vaginalis*, bacilos curtos e *T. Vaginalis*, também observados neste estudo, é um achado freqüente na literatura^{6,8,24,26}.

Murta et al²⁷ e Cox²² em seus estudos esclarecem que a presença de co-infecções genitais é um fator importante, e facilitador, para a proliferação celular para o vírus HPV.

Discacciati et al²⁸ e Rama et al⁷ em seus estudos, por sua vez, referem ainda que a freqüência de anormalidades citológicas cervicais associadas ao HPV, após a conização, eram maiores em pacientes com vaginose bacteriana anteriores a conização. Sugerindo que esta associação de HPV em co-infecção com outros agentes aumenta os riscos de anormalidades citológicas cervicais.

Freitas et al²³ em seus estudos com mulheres de Belo Horizonte, Minas Gerais - Brasil, relataram que o HPV 16 foi o genótipo viral mais freqüentemente associado a lesões do tipo LSIL/ NICI.

Rama et al⁷, em seus estudos demonstraram que existe uma associação

importante entre mulheres com histórico de infecção antiga por HPV de alto risco e alterações celulares do tipo ASC-US, idade inferior a 25 anos, tabagistas e com maior número de parceiros sexuais durante a vida.

Santos et al¹⁷ descreveram também a mesma relação entre a presença de HPV de alto risco e a presença de ASC-US em achados histológicos cervicais de 59 mulheres. Assim, estes autores recomendam a utilização de exames moleculares para detecção do HPV para todas as pacientes que apresentarem alterações citológicas do tipo ASC-US, mesmo sem a associação de efeito citopático compatível com o HPV.

CONCLUSÃO

Observou-se que a incidência dos genótipos 16 e 18 do HPV por PCR-RT, esteve diretamente relacionada a mulheres jovens da cidade de Barcarena, com início precoce da vida sexual, que se declaravam estudantes e que apresentavam alterações celulares dos tipos ASC-US e LSIL/ NIC I, sem a associação a efeito citopático compatível com HPV.

AGRADECIMENTOS

A todos da Unidade Mista de Saúde de Barcarena, em especial a Dra. Maria Cibele e a SECTAM/FUNTEC atual SEDECT (Secretaria de Desenvolvimento, Ciência, e Tecnologia), pelo apoio financeiro ao desenvolvimento deste projeto.

SUMMARY

INCIDENCE OF HPV GENOTYPES 16 AND 18 IN WOMEN IN CITY AMAZON REGION

Lacy Cardoso de BRITO JUNIOR, Ludmila Marcia Sousa do NASCIMENTO, Bruna Pedroso TAMEGÃO LOPES, Aldemir Branco de OLIVEIRA FILHO, Claudio Guedes SALGADO e José Alexandre Rodrigues de LEMOS

OBJECTIVE: studying the incidence of HPV genotypes 16 and 18 in women, with or without cytology associated with HPV, living in the municipality of Barcarena, Pará. **METHOD:** fifty

volunteers participated in the study through cervicovaginal sampling for PCR-RT to test for HPV 16 and 18 and for conventional cytology of smears. **RESULTS:** cytology showed an incidence of 02/50 cases of LSIL/CINI associated with a cytopathic effect compatible with HPV. Genotype 16 of HPV occurred in 04/05 cases and genotype 16/18 in 01/05 cases, mainly in women who showed lesions of the ASC-US or LSIL/CINI type. **CONCLUSIONS:** the presence of cytological changes of the ASC-US or LSIL/CINI type ($p=0.0166$) represents an important flag for possible infection by HPV types 16 and 18.

KEY WORDS: Vaginal Smears, DNA Probes, PCR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodovias federais têm 2 mil pontos de prostituição. Diário do Pará, Belém, 06 out 2010. Disponível em: <http://diariodopara.diarioonline.com.br/N-114858-RODOVIAS+FEDERAIS+TEM+2+MIL+PONTOS+DE+PROSTITUICAO.html>. Acesso em: 19 nov 2010.
2. American Cancer Society (ACS). ACS Guideline for the Early Detection of Cervical Neoplasia and Cancer. *CA Cancer J Clin* 52(6):342-362, 2002.
3. Fernandes, TAAM; Meissner, RV; Bezerra, LF; Azevedo, PRM; Fernandes, LV. Human Papillomavirus Infection in women attended at a cervical cancer screening service in Natal, Brazil. *Braz Jour Microb* 39:573-578, 2008.
4. Chauhan, SC; Jaggi, M; Bell, MC; Verma, M; Kumar, D. Epidemiology of Human Papilloma Virus (HPV) in Cervical Mucosa. *Methods Mol Biol* 471:439-456, 2009.
5. Nonnenmacher, B; Breitenbach, V; Villa, LL; Prolla, JC; Bozzetti, MC. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. *Rev Saúde Pública* 36(1):95-100, 2002.
6. Christopoulos, P; Papadias, K; Panoulis, K; Deligeoroglou, E. Human papilloma virus in adolescence. *Clin Exp Obstet Gynecol* 35(4):248-251, 2008.
7. Rama, CH; Roteli-Martins, CM; Mauricette, SF; Longatto-Filho, DA; Gontijo, RC; Sarian, LOZ; Syrjänen, K; Aldrighi, JM. Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. *Rev Saúde Pública* 42(1):123-130, 2008.
8. Hoory, T; Monie, A; Gravitt, P; Wu, TC. Molecular Epidemiology of Human Papillomavirus. *J Formos Med Assoc* 107: 198-217, 2008.
9. Nanda, K; McCrory, DC; Myers, ER; Bastian, LA; Hasselblad, V; Hickey, JD; Matchar, DB. Accuracy of the Papanicolaou Test in Screening for and Follow-up of Cervical Cytologic Abnormalities: A Systematic Review. *Ann Intern Med* 132:810-819, 2000.
10. Coutlee, F; Rouleau, D; Ferenczy, A; Franco, E. The laboratory diagnosis of genital human papillomavirus infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 16(2):83-91, 2005.
11. Adams, AL; Eltoum, I; Roberson, J; Chen, J; Connolly, K; Chhieng, AC. Negative Colposcopic Biopsy After Positive Human Papilloma Virus (HPV) DNA Testing: False-Positive HPV Results or False-Negative Histologic Findings? *Am J Clin Pathol* 125:413-418, 2006.
12. Carestiato, FN; Silva, KC; Balthazar, DS; Silva, L; Marinho, M; Oliveira, LHS; Cavalcanti, SMB. Analysis of molecular biology techniques for the diagnosis of human papillomavirus infection and cervical cancer prevention. *Rev Soc Bras Med Trop* 39(5):428-432, 2006.
13. Waheed, S; Linthacum, TA. Role of adjuvant HPV testing and continued Pap smear screening in women over age 66. *Journal of Clinical Oncology, ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition)* 26 (May 20 Supplement): 1531, 2008.
14. Milutin-Gasperov, N; Sabol, I; Matovina, M; Spaventi, S; Grace, M. Detection and typing of human papillomaviruses combining different methods: polymerase chain reaction, restriction fragment length polymorphism, line probe assay and sequencing. *Pathol Oncol Res* 14(4):355-363, 2008.

15. Ginocchio, CC; Barth, D; Zhang, F. Comparison of the Third Wave Invader Human Papillomavirus (HPV) Assay and the Digene HPV Hybrid Capture 2 Assay for Detection of High-Risk HPV DNA. *J Clin Microbiol* 46:1641-1646, 2008.
16. Noronha, VL; Noronha, R; Carmona, B; Macedo, LA; Cruz, EM; Naum, C et al. Papilomavírus Humano (HPV) em mulheres com citologia oncológica dentro dos limites da normalidade. *DST – J Bras Doenças Sex Transm* 17(1): 49-55, 2005.
17. Santos, ALF; Derchain, SFM; Sarian, LO; Campos, EA; Santos, MR; Fonsechi-Carvasan, GA. Resultados Histológicos e Detecção do HPV em Mulheres com Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado e Lesão Escamosa Intra-epitelial de Baixo Grau na Colpocitologia Oncológica. *RBGO* 26(6):457-462, 2004.
18. Castle, PE; Sadorra, M; Garcia, F; Holladay, EB; Kornegay, J. Pilot Study of a Commercialized Human Papillomavirus (HPV) Genotyping Assay: Comparison of HPV Risk Group to Cytology and Histology. *Jour Clin microbiology* 44:3915–3917, 2006.
19. Pereira, SMM; Utagawa, ML; Pittoli, JE; Aguiar, LS; Maeda, MYS; Longatto Filho, A; Loreto, CD et al - Avaliação da celularidade citológica em preparados de base líquida *Rev Inst Adolfo Lutz* 62(1):35-39, 2003.
20. Sherman, ME. Chapter 11: Future Directions in Cervical Pathology. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 31:72–9, 2003.
21. Wong, NKS; Fy, NG; Leung, G. Cytological distinction between high-risk and low-risk human papillomavirus infections in SurePath liquid-based cell preparations. *J Clin Pathol* 61(12):1317-1322, 2008.
22. Cox, JT. Epidemiology and natural history of HPV. *J Fam Pract Suppl*:3-9, 2006.
23. Freitas, TP; Carmo, BB; Paula, FDF; Rodrigues, LF; Fernandes, AP; Fernandes, PA. Molecular detection of HPV 16 and 18 in cervical samples of patients from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 49(5):297-301, 2007.
24. Agarossi, A; Ferrazzi, E; Parazzini, F; Perno, CF; Ghisoni, L. Prevalence and type distribution of high-risk human papillomavirus infection in women undergoing voluntary cervical cancer screening in Italy. *J Med Virol* 81(3):529-535, 2009.
25. Wu, Y; Chen, Y; Li, L; Yu, G; Zhang, Y; He, Y. Associations of high risk HPV types and viral load with cervical cancer in China. *J Clin Virol* 35:264-9, 2006.
26. Wetzel, C; Tissot, A; Kollar, LM; Hillard, PA; Stone, R; Kahn, JA. Development of an HPV educational protocol for adolescents. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 20(5):281-287, 2007.
27. Murta, EFC; Souza, MAH; Adad, SJ; Araújo Júnior, E. Infecção pelo Papilomavírus Humano em Adolescentes: Relação com o Método Anticoncepcional, Gravidez, Fumo e Achados Citológicos. *RBGO* 23(4):217-221, 2001.
28. Discacciati, MG; Rabelo-Santos, SH; Campos, EA; Simões, JÁ; Derchain, SFM; Sarian, LOZ; Zeferino, LC. Vaginose Bacteriana e DNA de Papilomavírus Humano de Alto Risco Oncogênico em Mulheres Submetidas a Conização com Alça Diatérmica para Tratamento de Neoplasia Intra-epitelial Cervical de Alto Grau. *RBGO* 26(9):721-725, 2004.

Correspondência:

Prof. Dr. Lacy Cardoso de Brito Junior

Universidade Federal do Pará/ Instituto de Ciências Biológicas/ Lab. de Patologia Geral - Imunopatologia e Citologia

Av. Augusto Corrêa n 01.

Bairro Guamá - CEP 66075-900

Belém – Pará Fones: (091) 32336728

e-mail: lcdbrito@ufpa.br ou lcdbrito@bol.com.br

Recebido em 20.09.2011 – Aprovado em 23.04.2013

