

LUÍS OTÁVIO ZANATTA SARIAN

VARIAÇÃO NA DETECÇÃO DO DNA-HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO NO
SEGUIMENTO DE MULHERES PORTADORAS DE NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL
CERVICAL TRATADAS COM CONIZAÇÃO POR ALÇA DIATÉRMICA

Dissertação de Mestrado

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

**UNICAMP
2003**

LUÍS OTÁVIO ZANATTA SARIAN

**VARIAÇÃO NA DETECÇÃO DO DNA-HPV DE ALTO RISCO ONCOGÊNICO NO
SEGUIMENTO DE MULHERES PORTADORAS DE NEOPLASIA INTRA-EPITELIAL
CERVICAL TRATADAS COM CONIZAÇÃO POR ALÇA DIATÉRMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
À PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE
CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE CAMPINAS PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM TOCOTECOLOGIA,
ÁREA DE TOCOTECOLOGIA

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

**UNICAMP
2003**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

Sa73v Sarian, Luis Otávio Zanatta
Variação na detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico no segmento de mulheres portadoras de neoplasia intra-epitelial cervical tratadas com conização por alça diatérmica. / Luis Otávio Zanatta Sarian. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador : Sophie Françoise Mauricette Derchain
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Colo uterino - Cancer. 2. Neoplasia do colo uterino. 3. Biologia molecular. 4. Câncer. I. Sophie Françoise Mauricette Derchain. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: LUÍS OTÁVIO ZANATTA SARIAN

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. SOPHIE FRANÇOISE MAURICETTE DERCHAIN

MEMBROS:

1.

2.

3.

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TOCGINECOLOGIA DA FACULDADE DE
CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

DATA: 15/12/2003

Dedico esta dissertação...

*ao meu pai Libarit(in memoriam), minha mãe Mariza e ao meu
irmão Paulo Henrique.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a Sophie Françoise Mauricette Derchain, pela orientação exemplar.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Zeferino, pelo apoio didático, científico e institucional.

À Prof Dra. Kazue Panetta (in memorian) e Prof. Dr. Gustavo Antonio de Souza, pelo suporte da área de Oncologia Ginecológica do CAISM.

À Dra. Júlia Kawamura Tambascia e Profa. Dra. Liliana Andrade pela leitura das lâminas de colpocitologia e histologia, respectivamente.

Às biólogas Denise Pita Lima, Elizabete Campos e Lúcia Carvalho, pela processamento dos exames de Captura de Híbridos II.

Às estaticistas Sirlei Siani de Moraes e Gislaine Aparecida Fonsecchi-Carvasan pelo tratamento estatístico dos dados.

Aos Professores José Roberto Gabiatti e Eliana Amaral pelas avaliações no processo de qualificação.

Aos docentes da área de Oncologia Ginecológica e Patologia Mamária, Aurea Cairo, Jessé Jorge, Júlia Shinzato, Maria Salete Gurgel, Henrique Brenelli e Luiz Teixeira pela preparação médica, ética e acadêmica que me propiciaram.

Aos amigos da pós-graduação Priscila Figueiredo, Joana Bragança, Renata Gontijo, Samara Messias, pelo colaboração e companheirismo.

Aos médicos Antonio da Cruz Garcia, Cesar Cabello dos Santos, José Carlos Campos Torres, Júlio Cesar Teixeira e Sérgio Bruno Barbosa, pelo treinamento em Oncologia Ginecológica.

À Margarete Souza Donadon, secretária da pós-graduação, Nilvana Gomes Carmo, Angela Morellato e Sônia, secretárias da oncologia, pelo auxílio logístico.

Ao amigo Leandro Damião Rodrigues, pelo apoio na compreensão de ferramentas computacionais e pela editoração do texto.

À Enfermeira Nadir Salete Rosa de Paula, pelo auxílio na realização dos procedimentos no Ambulatório de Patologia do Trato Genital Inferior.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi parcialmente financiado por:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo
número 00/06394-0.

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo
número 300354/01-0.

SUMÁRIO

SÍMBOLOS , SIGLAS E ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	25
2.1. OBJETIVO GERAL	25
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
3. SUJEITOS E MÉTODOS	27
3.1. TIPO DE ESTUDO.....	27
3.2. CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL.....	27
3.3. SELEÇÃO DOS SUJEITOS	28
3.3.1. Critérios de inclusão	29
3.3.2. Critérios de exclusão	29
3.3.3. Critérios de exclusão a posteriori	29
3.4. COLETA DE DADOS.....	29
3.4.1. Procedimentos realizados na consulta.....	30
3.5. MÉTODOS	30
3.5.1. Colpocitologia oncológica (CO).....	30
3.5.2. Colposcopia.....	31
3.5.3. Captura de Híbridos tipo II (CHII).....	32
3.5.4. Conização por alça diatérmica	33
3.5.5. Diagnóstico histológico.....	35
3.5.6. Variáveis	35
3.5.7. Processamento dos dados.....	37
3.5.8. Análise estatística.....	38
3.5.9. Aspectos éticos	39
4. RESULTADOS	40
5. DISCUSSÃO	54
6. CONCLUSÕES.....	61
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
8. BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÕES	74
9. ANEXOS	75
9.1. ANEXO 1: FICHA PARA COLETA DE DADOS.....	75
9.2. ANEXO 2: CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	78
9.3. ANEXO 3: GENERALIZED ESTIMATING EQUATIONS (GEE)	80
9.4. ANEXO 4: DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES: VARIÁVEIS SÓCIO-DEMOGRÁFICAS E REPRODUTIVAS E DETECÇÃO INICIAL DO HPV	82
9.5. ANEXO 5: LISTAGEM DAS MULHERES INCLUÍDAS NA PESQUISA	83

SÍMBOLOS , SIGLAS E ABREVIATURAS

ACO	Anticoncepcional oral
ASCUS	<i>Atypical squamous cells of undetermined significance</i> (Atipia de células escamosas de significado indeterminado)
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CHII	Captura de Híbridos II
CO	Colpocitologia oncológica
DNA	Ácido desoxirribonucléico
et al.	E outro(s), e outra(s)
GEE	<i>Generalised estimating equations</i>
h	Horas
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i> (Vírus da imunodeficiência humana)
HPV	<i>Human papillomavirus</i> (Papiloma vírus humano)
HSIL	<i>High grade squamous intraepithelial lesion</i> (lesão escamosa intra-epitelial de alto grau)
IC	Intervalo de confiança

LSIL	<i>Low grade squamous intraepithelial lesion</i> (lesão escamosa intra-epitelial de baixo grau)
MI	Mililitro
Mm	Milímetro
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
OMS	Organização Mundial da Saúde
RNA	Ácido ribonucléico
OR	<i>Odds ratio</i>
Pg	Picograma
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
URL	Unidade relativa de luz

RESUMO

Objetivo: Avaliar a variação na detecção do Papiloma vírus humano (HPV) de alto risco oncogênico através da Captura de Híbridos II (CHII) e seu valor como fator preditivo de persistência ou recidiva de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) grau 2 ou 3 no seguimento de mulheres portadoras de lesões de alto grau, tratadas com conização por alça diatérmica. **Sujeitos e métodos:** Estudo clínico de coorte em que foram avaliadas 94 mulheres submetidas a conização por alça diatérmica entre março de 2001 e setembro de 2002 no ambulatório de Patologia Cervical do CAISM-UNICAMP. Foram incluídas apenas mulheres com, no mínimo, um retorno em 6 ou 12 meses após a cirurgia, em cujos espécimes cirúrgicos tenha sido encontrado NIC 2 ou NIC 3. Foram agendados retornos em 6 e 12 meses e em todas as consultas eram coletadas CHII e colpocitologia oncológica (CO). Nos retornos, quando necessário, eram realizadas biópsias colpodirigidas e as pacientes com recidiva da NIC submetidas a tratamento. Para fins estatísticos foram avaliadas associações através do *Odds ratio*, testes de McNemar, Qui-quadrado, exato de Fisher, análise multivariada através da regressão logística e *Generalized Estimating Equations*. **Resultados:** No momento da conização diatérmica, a CHII foi positiva em 92% das mulheres. O teste de McNemar mostrou associação

significativa entre a detecção do HPV inicial com as detecções em 6 e 12 meses, sendo que nestes momentos apenas 25% das mulheres mantinham HPV detectável. As detecções do vírus ao longo do seguimento não estiveram associadas entre si. A carga viral inicial não se relacionou significativamente com a detecção do vírus ao longo do seguimento. A análise multivariada mostrou associação do tabagismo (OR 2,41; IC 95% 1,01 a 5,75) e da positividade das margens do cone (OR 2,81; IC 1,24 a 6,36) com a detecção do HPV no seguimento. Quanto à ocorrência de persistência ou recidiva da NIC, ter idade maior que 40 anos esteve associado com maior frequência de doença histológica aos 6 meses (OR 12,36; IC 95% 1,03 a 147,40) e a positividade para o HPV se associou com maior frequência de persistência ou recidiva em 6 (OR 80,60; IC95% 5,25 a 1235,83) e 12 meses (OR 29,12; IC95% 1,91 a 443,61). A concordância entre CO e CHII foi moderada aos 6 meses ($kappa=0,40$; IC95% 0,18 a 0,64) e pobre aos 12 meses ($kappa=0,28$; IC 95% 0,02 a 0,54). Os desempenhos da CO e da CHII em detectar persistência ou recidiva da NIC foram semelhantes, com discreta superioridade da CO em algumas circunstâncias. **Conclusão:** A detecção do HPV declinou substancialmente após a conização diatérmica, assim permanecendo durante o seguimento, para a maioria das mulheres. A presença de HPV detectável ao longo do seguimento esteve significativamente associada com persistência ou recidiva da NIC, agindo como fator preditivo para doença histológica após o tratamento da NIC 2 ou 3.

SUMMARY

Objective: To evaluate the variation in high oncogenic risk human Papillomavirus (HPV) detection by Hybrid Capture II (HCII) and its predictive value in the persistence or recurrence of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2 or 3 during the follow-up of women submitted to diathermic conization. **Subjects and methods:** This was a clinical cohort study. A total of 94 women submitted to diathermic conization, between March 2001 and September 2002 in the Cervical Pathology Unit of Campinas State University (CAISM-UNICAMP) were included. Only women with at least one follow-up visit at 6 or 12 months and with confirmed CIN 2 or 3 in the cone specimens were considered. The follow-up visits were scheduled for 6 and 12 months and in each visit, all women undertook HCII and Pap smear specimens. Colposcopically guided biopsies were taken when necessary and patients with CIN recurrences were treated properly. Statistical analysis included the Odds ratios, McNemar's, Qui-squares, Fisher exact tests and multivariate analysis with logistic regression and Generalized Estimating Equations. **Results:** At the moment when diathermic conization was performed, almost 92% of women were HPV positive. McNemar's tests showed significant association between initial HPV detection and HPV positivity at 6 and 12 months, when only 25% of women maintained detectable HPV infection. HPV detection at 6 and 12 months showed

not to be related to each other. Initial viral load and HPV detection at 6 and 12 months were not significantly associated. Multivariate analysis showed that smoking (OR 2,41; CI 95% 1,01 a 5,75) and cone margins positivity (OR 2,81; CI 1,24 a 6,36) were associated to HPV detection during follow-up. Regarding CIN persistence or recurrence, age over 40 years was associated with histological disease at 6 months (OR 12,36; CI95% 1,03 a 147,40), but HPV positivity correlated to CIN persistence or recurrence at 6 (OR 80,60; CI95% 5,25 a 1235,83) and 12 months (OR 29,12; CI95% 1,91 a 443,61). The agreement between Pap and CHII results was moderate at 6 months (kappa= 0,40; CI95% 0,18 a 0,64) and poor at 12 months (kappa=0,28; CI 95% 0,02 a 0,54). Performance of Pap and CHII in detecting high-grade CIN persistence or recurrence was quite similar at 6 and 12 months, but Pap performed slightly better at some circumstances. **Conclusions:** HPV detection reduced substantially after CIN diathermic conization and persisted low at 6 and 12 months measurements for the majority of women. Detectable HPV during follow-up was significantly associated with CIN persistence or recurrence and was a predictive factor for histological disease after CIN 2 or 3 treatment.

1. INTRODUÇÃO

O carcinoma do colo uterino, sobretudo em países onde programas dedicados à sua prevenção não encontram efetividade, permanece como fonte de preocupação, sofrimento e dispêndios com tratamento. Se no Brasil vem havendo substancial redução da incidência e prevalência do carcinoma do colo, dados os esforços para sua prevenção, esta doença ainda permanece como a segunda neoplasia mais freqüente na mulher. A estimativa oficial é que o carcinoma de colo ocasione 3953 óbitos em 2003 ou 3,4% das mortes por câncer (BRASIL, 2003).

Os programas de prevenção do carcinoma do colo são embasados na detecção das neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC), precursores histológicos da lesão invasora. A evolução das NIC para câncer é relativamente lenta, o que favorece sua detecção em tempo hábil para o tratamento que, por sua vez, é mais simples e menos agressivo que o da forma invasora. Técnicas excisionais, em particular a conização do colo uterino, a frio ou com alça diatérmica, são as mais empregadas como tratamento das NIC. Estas técnicas permitem descartar neoplasias invasoras, avaliar margens de ressecção e preservar a fertilidade. Entre as modalidades de conização, aquela com alça diatérmica tem suas

vantagens: o custo é baixo, a realização é ambulatorial e com anestesia local. Também permite obter espécimes cirúrgicos de dimensões adequadas para englobar a totalidade da lesão na maior parte das vezes, erradicando a doença (EDUARDO et al., 1996; DUGGAN et al., 1999).

O objetivo do seguimento clínico das mulheres submetidas à conização é detectar persistência ou recidiva da NIC. Mesmo naquelas mulheres cujo espécime cirúrgico tinha suas margens livres, nada assegura a eliminação da doença. As taxas de recidiva variam de 1,9% a 30%, independentemente do método de conização aplicado (FLANNELLY et al., 1997; GARDEIL et al., 1997; MOHAMED-NOOR et al., 1997; ACLADIOUS et al., 2002). A colpocitologia oncológica (CO), técnica empregada nos programas de triagem do carcinoma do colo, é também a principal ferramenta para o seguimento das mulheres tratadas por NIC. A estratégia empregada pela maioria dos serviços para detectar a tempo eventuais persistências ou recidivas após a conização corresponde a consultas periódicas para exame ginecológico, incluindo colposcopia e coleta de CO. O principal inconveniente da CO no seguimento de mulheres tratadas da NIC é o grande número de falsos-negativos, uma característica inerente a este método (MONTZ, 2000). Os custos humanos e econômicos associados à falha na detecção de recidivas e ao tratamento de doenças que evoluíram, apesar do acompanhamento médico, mais que justificam a busca por outras técnicas que permitam melhor detectar mulheres com falha do tratamento da NIC.

As NIC estão causalmente associadas ao Papiloma vírus humano (HPV), dado que a presença do vírus é necessária para o desenvolvimento das lesões

pré-invasoras (FRANCO et al., 1996; SYRJÄNEN & SYRJÄNEN, 2000; KJAER et AL., 2002). A prevalência do HPV entre mulheres jovens, em idade reprodutiva, varia de 20% a 40%, a maior entre os vírus sexualmente transmissíveis. Nem todos os tipos de HPV, dentre os mais de 70 conhecidos, guardam características carcinogênicas. Aqueles com maior associação com o carcinoma cervical são classificados como de alto risco oncogênico, e compreendem os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 60 (LORINCZ et al., 2002).

Técnicas de detecção do HPV no colo uterino e vagina vêm sendo estudadas como ferramentas de rastreamento para lesões precursoras do carcinoma cervical ou, como sugerem alguns autores, instrumento adjuvante à CO. Em tese, a aplicação destas técnicas também poderia ser estendida ao seguimento de mulheres com NIC tratadas através da conização (ALMOG et al., 2003).

O conjunto de técnicas para detecção do HPV, ou melhor, de seu material genético (DNA), em amostras cervicais, é constituído pelas hibridizações moleculares de ácidos nucleicos tipo *Southern Blot*, a hibridização *in situ*, a Captura de Híbridos (CH) e a reação em cadeia da polimerase (PCR)(SYRJÄNEN & SYRJÄNEN, 2000). A hibridização *in situ* pode detectar seqüências nucleotídicas do genoma viral no interior da célula hospedeira ou em tecidos, mas é limitada pela exigência de alta carga viral a fim de que as reações sejam visibilizadas, reduzindo sua sensibilidade (LIZARD et al., 1998). Já a PCR tem por principal desvantagem, em contraponto à sua excepcional sensibilidade, o baixo valor preditivo positivo, levando muitas mulheres a exames complementares e tratamentos desnecessários. Ainda assim, a versatilidade da PCR em detectar DNA do HPV

(DNA-HPV) em vários tipos de materiais biológicos faz dela exame muito empregado, especialmente em protocolos de pesquisa.

A CH foi comercialmente introduzida há aproximadamente dez anos. Desenvolvida para detectar os vírus através da hibridização molecular do DNA desnaturado com sondas não radioativas de ácidos ribonucléicos ou desoxirribonucléicos, demonstrou boas sensibilidade e especificidade, rapidez no processamento dos exames e boa relação custo-benefício (LÖRINCZ et al., 1992).

Dois gerações da CH já chegaram ao mercado. Atualmente, a modalidade comercialmente disponível é a CH tipo II (CHII, Digene do Brasil Ltda). Na CHII, as reações de hibridização são realizadas em microplacas semelhantes às utilizadas para reações imunoenzimáticas tipo *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), com leitura rápida e confiável, permitindo o processamento de grandes amostras de uma só vez. Os equipamentos empregados são semelhantes aos utilizados na rotina dos laboratórios de patologia clínica (FERRIS et al., 1998). As sondas para hibridização contemplam os seguintes tipos de HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 60, considerados de alto risco para oncogênese e 6, 11, 42, 43 e 44, considerados de baixo potencial oncogênico.

A CHII e a PCR permitem quantificar o DNA-HPV, estimando o número de cópias virais na amostra (JOHNSTON, 2000; JOSEFSSON et al., 2000; YLITALO et al., 2000; SUN et al., 2001; LÖRINCZ et al., 2002; SUN et al., 2002). Na CHII, uma unidade relativa de luz (URL) corresponde a um picograma (pg) de DNA/ml, de maneira colinearmente progressiva. O limiar de detecção da CHII é de 0,2 a

1pg de DNA/ml (LÖRINCZ et al., 2002).

Após a excisão da NIC, a taxa de detecção do DNA-HPV é menor e, nas mulheres com HPV ainda detectável, a carga viral tende a ser inferior àquela encontrada antes da conização (ELFGREN et al., 1996; DISTEFANO et al., 1998; KJELLBERG et al., 2000; FIGUEIREDO et al., 2003). Este fenômeno pode ser explicado pela constatação de que as células de epitélio anormal, pré-neoplásicas ou francamente invasoras, são ricas em material genético do HPV, integrado ao núcleo e promovendo a proliferação anárquica. Todavia, mesmo a retirada completa das lesões induzidas pelo HPV não assegura a erradicação do vírus. Já na década de 1980, examinando epitélio normal circunjacente às lesões anogenitais previamente tratadas e decorrentes da infecção pelo HPV, alguns autores detectaram o vírus em 45% das amostras (FERENCZY, 1985). Mais recentemente, outros autores encontraram que, no colo uterino, lesões satélites com presença de HPV-DNA e distantes da zona de transformação podem ser as responsáveis por alguns casos de recidiva após conização. Nesses casos, a detecção do DNA-HPV poderia denunciar a presença de tais lesões (PARASKEVAIDIS et al., 2001).

A persistência do DNA-HPV após a conização com alça diatérmica pode ser um importante fator de risco para a recidiva da NIC. Não é sabido, ao certo, se os vírus persistem pois há lesão residual ou se a persistência viral faz emergirem novas NIC, mas as taxas de persistência acompanham as de recidiva. Usando PCR para detectar os tipos 16 e 18 do HPV, CRUICKSHANK et al. (2002) seguiram mulheres tratadas com sucesso para NIC por até cinco anos. Nas

mulheres em que o HPV havia sido detectado em amostras da CO houve risco estimado (*Odds ratio*) de cerca de 8,0 para recidivas em comparação àquelas HPV 16/18 negativas, sugerindo acompanhamento clínico mais rigoroso para este grupo de mulheres.

A CHII também já foi testada para avaliar a presença de lesões residuais após conização cervical, em mulheres com NIC3 (JAIN et al., 2000). Neste estudo, os autores sugerem ser a CHII um bom método para auxiliar na decisão entre indicar complementação cirúrgica ou optar pelo tratamento conservador em mulheres com margens de conização comprometidas.

No noroeste da Inglaterra, ACLADIIOUS et al. (2002) coordenaram um estudo multicêntrico prospectivo de coorte com 958 mulheres tratadas por NIC, seguidas então por dois anos após o tratamento, com coleta de exame para DNA-HPV aos seis meses de pós-operatório. Destas, 77 (8%) apresentaram recidiva e, com elas, aproveitou-se a ocasião para realizar um estudo de caso-controle aninhado. Dentre seus achados, destaca-se o fato de que a detecção do DNA-HPV no pós-operatório esteve substancialmente associada com a falha de tratamento (OR 23,3; 95%IC 3,15-172,1). De não menor realce, a combinação do teste de DNA-HPV com a CO, neste estudo, conseguiu predizer 72% dos casos de recidiva, sugerindo seguimento diferenciado para as mulheres que apresentassem DNA-HPV detectável em algum momento após terem sido tratadas.

ALMOG et al. (2003) aplicaram o teste de CH tipo I em mulheres com biópsias de alto grau que, no decorrer do seguimento, tiveram dois exames

citológicos, em seqüência, sugestivos de recidiva (atípias de alto grau). Estes autores, ressaltando o pequeno número de casos que estudaram, concluíram que a associação da detecção do DNA-HPV ao seguimento de mulheres tratadas por NIC pode aumentar a sensibilidade e os valores preditivos das consultas de reavaliação, como um todo, em detectar persistência, recidiva ou evolução de doença.

Entretanto, a infecção pelo HPV, ainda que diretamente ligada à NIC, pode remitir espontaneamente sem deixar qualquer marca histológica (CUZIK et al., 1999; KJAER et al., 2002). Há evidências, inclusive, que a grande maioria das mulheres apresenta infecções transitórias pelo vírus, que é naturalmente eliminado sem que haja o desenvolvimento de lesões. As NIC, sobretudo as de baixo grau, também remitem espontaneamente na maioria das mulheres, em especial nas mais jovens (PINTO e CRUM, 2000). Essas características da infecção pelo HPV e da história natural das NIC são complicadores para o clínico que segue mulheres submetidas à conização pois os exames eventualmente positivos para HPV após o procedimento podem não representar, em tese, evolução desfavorável, mas sim re-infecções transitórias sem repercussões clínicas.

Uma diferenciação importante a se fazer é entre mulheres portadoras crônicas do HPV sem lesões daquelas HPV positivas com lesões clínicas – ou subclínicas - induzidas pelo vírus. O primeiro grupo é formado por mulheres em que a persistência viral é atestada por técnicas de biologia molecular, mas não há mostras de lesões clínicas induzidas pelo HPV. O segundo é formado por aquelas em que anormalidades da CO, colposcopia ou em biópsias acompanham a detecção do vírus. A distinção destes grupos, obviamente, só é possível com a

combinação entre a biologia molecular e as técnicas morfológicas, aliando a avaliação de risco pela detecção do HPV com o efetivo diagnóstico da NIC pela tríade CO, colposcopia e histologia (COSTA et al., 2003).

Vários autores encontraram forte associação da carga viral do HPV com a gravidade das lesões escamosas da cérvix embora os resultados, em boa parte dos trabalhos, ainda sejam discrepantes (HOWARD et al., 2001; SUN et al., 2001). Alguns estudos que empregaram CHII revelaram ascensão da carga viral do HPV acompanhando o tamanho da lesão cervical ao exame colposcópico e a gravidade histológica dessas alterações (HOWARD et al., 2002). Outros autores, utilizando reação em cadeia da polimerase (PCR) (LIAW et al., 1999), demonstraram correlação da carga viral do HPV com a gravidade das NIC. Todavia, outros estudos já não concluíram o mesmo: FARTHING et al. (1994) e SUN et al. (1995) encontram quantidades maiores do DNA-HPV com CHII, em mulheres com NIC 1 quando comparadas com aquelas com NIC 2 e NIC 3.

HOWARD et al. (2002) encontraram o melhor balanço para o desempenho da CHII em valores de carga viral de 15,56URL. Já SUN et al. (2001) encontraram correlação positiva entre o tamanho da lesão colposcópica, lesões histológicas mais graves e a carga viral, ainda que considerando valores de corte muito diferentes quando comparados com os do presente estudo. SWAN et al. (2002) também confirmaram que o grau da lesão histológica está correlacionado com a carga viral, ascendendo esta em paralelo ao aumento da gravidade da neoplasia.

A carga viral pode ser influenciada por diversos fatores, entre os quais a

qualidade da amostra, local de sua coleta (endocérvice, ectocérvice ou fundo de saco), tamanho da lesão histológica e, principalmente, o número de células epiteliais obtidas (CLAVEL et al., 2000).

Mas a persistência viral após excisão das NIC, sobretudo em altas cargas virais, pode representar a existência de lesão de alto grau residual ou mesmo recidiva, inclusive nos casos em que anormalidades na CO não estejam presentes (KJAER et al., 2002). A persistência de altas cargas virais de HPV de alto risco oncogênico, em especial o tipo 16 e suas variantes, são forte indicativo de risco para surgimento, recidiva e até progressão da NIC para carcinoma invasor. Em contraste, mulheres em que a carga viral decresce a níveis indetectáveis após conização apresentam risco muito baixo de desenvolver câncer nos próximos anos (JOSEFSSON et al., 2000; SELLORS et al., 2000, YLITALO et al., 2000, ZUR HÄUSEN, 2000).

Alguns autores têm mostrado evidências da utilidade prática da detecção do HPV na monitorização do tratamento da NIC (NAGAI et al., 2000; NOBBENHUIS et al., 2001; JAIN et al., 2001; PARASKEVAIDIS et al., 2001; ACLADIOUS et al., 2002; COSTA et al., 2003). Mas restam muitas dúvidas sobre o melhor momento, a custo-efetividade e a escolha da técnica mais apropriada para a detecção do vírus.

Em face das novas modalidades propedêuticas disponíveis para detectar e identificar o HPV, a CHII figura apenas como mais uma opção ofertada pela biologia molecular para a avaliar o *status* virológico do sujeito, mas, pela simplicidade de aplicação, seu papel é dos mais relevantes e merece ser estudado.

Este trabalho faz parte de uma linha de pesquisa que avalia o papel do HPV no diagnóstico, tratamento e seguimento de mulheres com NIC. Particularmente, visa a responder às indagações sobre a utilidade da detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico através da CHII após o tratamento excisional da NIC, descrevendo a variação da positividade para o vírus, assim como a flutuação da carga viral e as implicações destes elementos nas repercussões clínicas relacionadas ao sucesso do tratamento. A aplicação da detecção do DNA-HPV seguramente soma custos ao seguimento de mulheres tratadas para NIC, daí a relevância em avaliar a contribuição da busca pelo vírus durante o seguimento e determinar os melhores momentos para aplicá-la.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a variação na detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico através da CHII e seu valor como fator preditivo de persistência ou recidiva de NIC 2 ou 3 no seguimento de mulheres portadoras de lesões de alto grau, tratadas com conização por alça diatérmica.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar a frequência de detecção do DNA-HPV e a variação da carga viral no seguimento de 6 e 12 meses após a conização por alça diatérmica segundo a detecção viral inicial.
2. Avaliar a associação do comprometimento das margens cirúrgicas do cone, idade e tabagismo com a detecção do DNA-HPV de alto risco oncogênico durante o seguimento.
3. Avaliar a relação da detecção do DNA-HPV e da variação da carga viral com a ocorrência de persistência ou recidiva da lesão histológica no seguimento.

4. Avaliar a relação do comprometimento das margens cirúrgicas do cone, idade e tabagismo com a ocorrência de persistência ou recidivas de lesão histológica durante o seguimento.
5. Comparar o desempenho da CHII e da CO na detecção de persistência ou recidiva de lesão histológica durante o seguimento.

3. SUJEITOS E MÉTODOS

3.1. TIPO DE ESTUDO

Este é um estudo clínico de coorte.

3.2. CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL

Mulheres com NIC 2 ou 3 apresentam taxa de detecção de DNA-HPV de alto risco oncogênico em torno de 90% por CHII (CLAVEL et al., 1998). Após a retirada da lesão, espera-se que 30% ainda apresentam DNA-HPV positivo (DISTEFANO et al., 1998). Entre as mulheres com recorrência, 95% devem ter DNA-HPV positivo sendo que nenhuma paciente sem recorrência deverá apresentar persistência do DNA-HPV. Por outro lado, o HPV é positivo em 30% das mulheres sem recidiva (BOLLEN et al., 1997; CHUA e HJERPE, 1997). Baseado nestes valores, para construir um intervalo de confiança de 95% (erro tipo alfa=5%) para a estimativa da proporção de detecção de DNA-HPV positivo, com uma tolerância $d = 8\%$, é exigido um tamanho amostral de 88 casos.

3.3. SELEÇÃO DOS SUJEITOS

Para este estudo, foram selecionadas 94 mulheres submetidas à conização por alça diatérmica, entre março de 2001 e setembro de 2002 e que compareceram a pelo menos um retorno com, no mínimo, 6 meses de seguimento após a cirurgia. Todas deveriam ter, no espécime cirúrgico, NIC 2 ou 3. A **figura 1** mostra a distribuição das mulheres conforme seu comparecimento às consultas de seguimento. Os retornos eram agendados em 6 e 12 meses. Quando a mulher faltava ao retorno era enviada uma carta convidando-a para novo horário. Assim, na primeira visita, agendada para cerca de 6 meses após a conização por alça diatérmica, cerca de três quartos das mulheres se apresentaram. Aos 12 meses, foram atendidas cerca de 79% das mulheres conizadas.

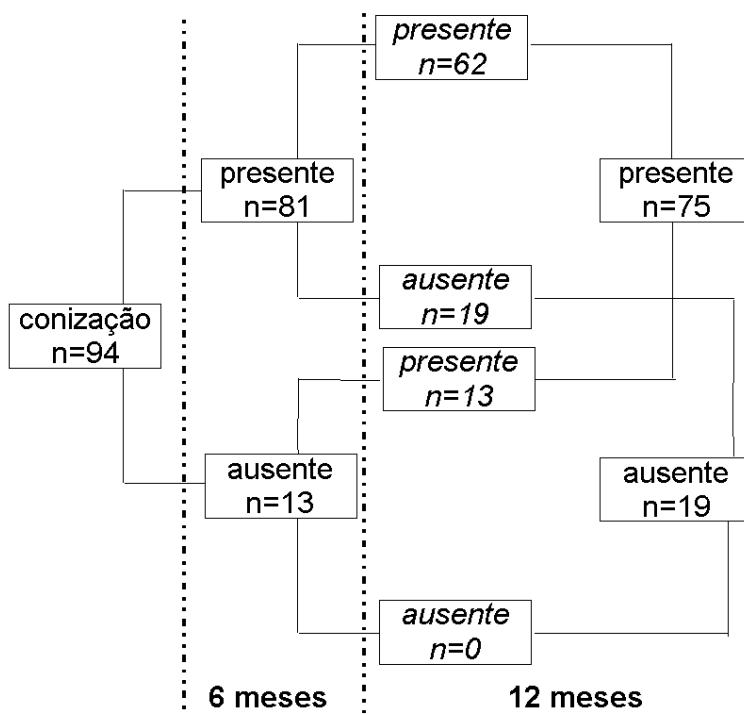


Figura 1: distribuição das mulheres segundo o comparecimento às consultas

3.3.1. Critérios de inclusão

Mulheres pelo menos um retorno em 6 ou 12 meses após a conização por alça diatérmica.

3.3.2. Critérios de exclusão

Mulheres grávidas, com sinais clínicos de imunossupressão ou com teste positivo para o vírus da imunodeficiência humana (HIV).

3.3.3. Critérios de exclusão *a posteriori*

As mulheres submetidas a histerectomia no retorno de 6 meses após a conização por alça diatérmica não foram incluídas no retorno seguinte.

3.4. COLETA DE DADOS

As mulheres deste estudo foram acolhidas, entrevistadas, examinadas e tratadas no Ambulatório de Patologia Cervical do Centro de Atenção Integral à Saúde da Universidade Estadual de Campinas (CAISM) pelos pesquisadores ou sob sua supervisão. Foi reservado período exclusivo para as consultas de seguimento e, em agenda comercial, nos dias acordados para consulta, se anotavam nome, registro hospitalar, telefone para contato e número de identificação da mulher na pesquisa. Em função da ordem de atendimento era atribuída numeração à ficha de coleta de dados (Anexo 1).

3.4.1. Procedimentos realizados na consulta

Após acolhimento pelo Ambulatório de Patologia Cervical e indicação de conização diatérmica, as mulheres eram devidamente orientadas quanto ao seu diagnóstico e tratamento proposto e, após breve explanação sobre os propósitos do estudo, convidadas a dele participar. Às que aceitavam, era apresentado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2) para assinar. Todas as mulheres foram submetidas a exame ginecológico e da região peri-anal. Seguia-se então o exame colposcópico com ácido acético diluído a 3% e, nos casos de suspeita de lesão invasora, era realizada biópsia dirigida pela colposcopia.

Estando indicada a conização, agendava-se o procedimento para a primeira fase do ciclo menstrual. Na consulta para conização, imediatamente antes de realizar a cirurgia, coletava-se amostra para CHII. O retorno para diagnóstico histológico era agendado em 45 dias e, após, os seguimentos eram realizados em cerca de 6 e 12 meses a contar do dia da conização.

3.5. MÉTODOS

3.5.1. Colpocitologia oncológica (CO)

No Laboratório de Citopatologia do CAISM, os esfregaços representativos do fundo de saco vaginal, ectocérvice e endocérvice eram avaliados, sob coloração de Papanicolaou. Para análise desses esfregaços, foram aplicados os

critérios de Bethesda (KURMAN & SOLOMON, 1994).

Alterações celulares benignas:

- infecção
- alterações reacionais

ASCUS (atypical squamous cells of unknown significance): alterações celulares mais acentuadas que aquelas atribuíveis à anormalidades reacionais mas quantitativamente insuficientes para determinar diagnóstico de lesão intra-epitelial escamosa (SIL)

LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion): anormalidades nucleares, como aumento de tamanho e da relação núcleo-citoplasmático, variação moderada da morfologia. Hiper cromasia uniforme; nucléolos raramente presentes.

HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesions): aumento nuclear semelhante a LSIL, mas área citoplasmática menor. Tamanho celular global menor que o LSIL. Hiper cromasia evidente, cromatina granular, nucléolos ausentes, bordos nucleares irregulares.

3.5.2. Colposcopia

O exame colposcópico foi realizado após aplicação de ácido acético a 3%, com colposcópico com luz branca e filtro verde, com aumento de seis a 40 vezes. Os achados foram classificados com base na Nomenclatura Internacional dos Achados Colposcópicos (STAFIL e WILBANKS, 1991), como segue:

1. Achados colposcópicos normais: epitélio escamoso normal (liso, róseo e sem traços característicos, originalmente sobre a cérvix e a vagina), epitélio colunar e zona de transformação (área estabelecida entre o epitélio escamoso original e o epitélio colunar) sem áreas suspeitas.

2. Achados colposcópicos anormais: alterações dentro da zona de transformação, descritas como epitélio acetobranco (plano ou micropapilar), pontilhado, mosaico, leucoplasia ou vasos atípicos. Estas alterações também são descritas fora da zona de transformação.

3. Suspeita colposcópica de câncer invasor franco.

4. Insuficientes: quando a junção escamo-colunar não foi visibilizada.

3.5.3. Captura de Híbridos tipo II (CHII)

A detecção do DNA-HPV foi obtida através do exame de CHII (*Digene Diagnostic Inc.*[®]). O material para análise consistia de raspado endocervical, coletado com escova fornecida pelo laboratório. Após a coleta, a escova contendo o material biológico era acondicionada em tubo com meio líquido especialmente desenvolvido para conservação das células com seu respectivo DNA. O processamento deste material se dava no Laboratório de Procedimentos Especializados do CAISM, conforme protocolos técnicos do fabricante.

A carga viral foi mensurada em URL, por quimioluminômetro, com intensidade de luz proporcional à carga de DNA-HPV. Com o propósito de

classificar os exames em *positivos* ou *negativos*, estabelecia-se, a cada processamento, um valor de corte para a intensidade de luz. Quando esta intensidade superava o valor de corte, considerava-se o exame como *positivo*; do contrário, era classificado como *negativo*. A proporção de URL/corte para considerar o exame como positivo era de 1,0, o que corresponde a 1pg/ml de DNA-HPV, ou 0,1 cópia de vírus/célula.

Nas mulheres com exame positivo, dada a concentração de valores de carga viral desviada para a direita, optamos por usar uma escala logarítmica de distribuição e agrupá-las graficamente em 1 a <10, 10 a <100, 100 a <1000 e \geq 1000URL (LÖRINCZ et al., 2002), após plotá-las em *box plot*, que se mostrou inadequada para esta distribuição. As sondas incluídas neste estudo eram dirigidas apenas aos tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 60, considerados de alto risco oncogênico (LÖRINCZ et al., 2002).

3.5.4. Conização por alça diatérmica

Realizada no Ambulatório de Patologia Cervical do CAISM/UNICAMP, a conização por alça diatérmica foi feita com transformador elétrico de alta frequência (modelo SS-200, WEM®). Para remoção dos gases produzidos durante o corte e coagulação era utilizado aspirador com filtro biológico (Wavevac; Loctal e posteriormente Smoke Evacuator, da WEM). O gerador de correntes de alta frequência era regulado em configuração monopolar, com potência de corte entre 50-60 watts e potência de coagulação em 50 watts, com mistura das ondas de

cutte e coagulação (*Blend*). Após a retirada do espécime cirúrgico, a hemostasia era realizada com o aparelho configurado a apenas gerar ondas contínuas, com potência de 50-60 watts. O isolamento elétrico era feito com espéculos tamanhos 2 ou 3, revestidos com tinta epoxi não condutora de eletricidade. Para aumentar a segurança, o espéculo era revestido com preservativo seccionado em sua extremidade, o que conferia proteção às paredes vaginais não recobertas pelo espéculo.

O procedimento era efetuado com bloqueio anestésico loco-regional com cloridrato de lidocaína a 2% e norepinefrina 1:50000. Os fármacos eram inoculados nas porções anterior, posterior, direita e esquerda do colo uterino, através de seringa odontológica, acoplada a agulha gengival longa, 27G. Em cada um dos quadrantes cervicais descritos, aplicava-se 0,4 a 0,5ml da combinação de medicamentos.

Durante a conização, o colo era mantido sob estrita observação através do colposcópico, e o corte era realizado com alças de tungstênio (WEM) de 15x15mm, 20x15mm ou 20x20mm, curvas. Quando se considerava necessário realizar excisão adicional de área endocervical, alças quadradas de 5x5mm ou 10x10mm estavam disponíveis. As peças cirúrgicas eram marcadas às 12h para orientação do patologista. A cauterização da ferida cirúrgica era conseguida com eletrodo esférico de 5mm e com aplicação de solução hemostática de percloroeto férrico a 80%.

Encerrado o procedimento, as pacientes recebiam orientações quanto aos cuidados pós-operatórios, higiene e abstinência sexual por cerca de 40 dias. Finalmente, eram informadas quanto ao dia do retorno para resultado do exame histológico.

3.5.5. Diagnóstico histológico

Toda a análise histológica foi realizada no Laboratório do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da UNICAMP. Macroscopicamente, foram estabelecidas as medidas de cada espécime em sua largura, comprimento e profundidade. A margem ectocervical era discernida com tinta nanquim preta, enquanto a margem endocervical com o azul de Alcian. Após o recorte e inclusão na parafina, foram corados pela técnica da hematoxilina-eosina. Os patologistas, além do diagnóstico histológico, sempre que possível estabeleceram a situação das margens cirúrgicas em função da doença como: livres ou comprometidas. A classificação histológica seguiu os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS), conforme descritos por SCULLY et al. (1994) e declinados abaixo:

- Processo reacional, cervicite, metaplasia escamosa, NIC 1, 2 ou 3, adenocarcinoma *in situ*, carcinoma escamoso microinvasor e invasor, adenocarcinoma invasor e outras anormalidades.

3.5.6. Variáveis

- DNA-HPV inicial: DNA-HPV de alto risco para oncogênese em amostras do raspado cervical coletadas no dia da conização por alça diatérmica, detectados pelo teste de CHII - classificado de forma contínua em URL. Considerado *negativo* quando <1URL. Os casos *positivos* foram categorizados em 1 a <10, 10 a <100, 100 a <1000 e \geq 1000URL.

- Comprometimento neoplásico das margens do cone: presença de neoplasia nos limites do espécime cirúrgico - *comprometidas* quando da ocorrência de atipias celulares na margem endocervical. *Livres* quando da ausência de atipias nas margens;
- DNA-HPV no seguimento: DNA-HPV de alto risco para oncogênese em amostras do raspado cervical coletadas em 6 e 12 meses após a conização por alça diatérmica, detectado pelo teste de CHII - classificados de forma contínua em URL. Considerados negativos quando <1URL. Os casos *positivos* foram categorizados em 1 a <10, 10 a <100, 100 a <1000 e ≥ 1000 URL.
- CO em 6 e 12 meses após a conização com alça diatérmica – *sem atipia* quando normal ou inflamatória; *com atipia* quando foram encontradas atipias decorrentes de ASCUS, LSIL ou HSIL.
- Persistência ou recidiva da doença: NIC 2, NIC 3 ou carcinoma microinvasor histologicamente confirmado em material de biópsia ou de novo cone, no seguimento de 6 ou 12 meses – *ausente*, quando na presença de colposcopia normal ou biópsia cervicite e metaplasia ou NIC 1; *presente*, NIC 2, NIC 3 ou carcinoma microinvasor.
- Idade: número de anos completos da data de nascimento ao dia da conização por alça diatérmica – *variável contínua, posteriormente agrupada em menor que 40 anos e 40 anos ou mais.*

- IAS: idade ao início da atividade sexual referida pela mulher – *menor ou igual a 17 anos ou 18 ou mais.*
- ACO: uso de anticoncepcional hormonal oral com estrogênio referido pela mulher no dia da conização– *sim ou não.*
- Paridade: número de partos referidos pela mulher no dia da conização – *menor ou igual a dois ou três ou mais.*
- Número de parceiros: quantidade de parceiros com os quais a paciente referiu ter tido relações sexuais desde o início da sua atividade sexual até o dia da conização – *menor ou igual a dois ou três ou mais.*
- Tabagismo: hábito de fumar referido pela mulher no dia da conização – *positivo ou negativo.*

3.5.7. Processamento dos dados

Os dados coletados foram ordenados em fichas classificadas numericamente. Para manipulação e análise, foram transcritos para planilha de dados especialmente desenhada para o estudo, em plataforma OpenOffice Calc v. 1.0.1. A análise estatística foi realizada com o auxílio dos programas EpiInfo 2002 (Centers for Disease Control, Atlanta, EUA) e SAS.

3.5.8. Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o auxílio do setor de estatística do CAISM-UNICAMP. As relações entre a detecção do DNA-HPV em diferentes momentos foi avaliada pelo teste de McNemar. A associação entre as faixas de carga viral inicial e a detecção do DNA-HPV ao longo do seguimento foram calculadas através do Qui-quadrado. A implicação do estado das margens excisionais, da idade e do tabagismo na detecção do DNA-HPV durante o seguimento foi estimada, na análise univariada, pelo *Odds Ratio (OR)* (BLAND e ALTMAN, 2000). A seguir, estas associações entre as margens do cone, tabagismo e idade com a detecção do HPV ao longo do seguimento foram testadas pelo modelo de análise multivariada *Generalized Estimating Equations (GEE)*, descrita no anexo 3 (LIANG e ZEGER, 1986; ZEGER et al., 1988; LIANG et al., 1992). Também foram avaliadas, por análise univariada com OR e com análise multivariada por regressão logística, as associações entre a detecção do DNA-HPV durante o seguimento, o comprometimento das margens cirúrgicas do cone, a idade e o tabagismo com a ocorrência de recidiva ou persistência de lesão histológica durante o seguimento. O grau de concordância entre a CO e a CHII foi estimada pelo cálculo do índice *kappa* e qui-quadrado. Foram calculados sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo para CO e CHII em diagnosticar recidiva de alto grau da NIC em 6 e 12 meses de seguimento. Todos os cálculos foram efetuados com intervalo de confiança de 95%

3.5.9. Aspectos éticos

Sem fugir ao princípio de beneficência, este projeto de pesquisa, ao mesmo tempo que visou a estudar técnica ainda não consagrada de seguimento de lesões precursoras do carcinoma cervical (a detecção e quantificação do DNA-HPV), tentou manter todas as mulheres sujeitos em rigoroso programa de acompanhamento. Deve-se lembrar que, ao lado da coleta de exame para detecção do DNA-HPV, todas as mulheres também foram submetidas a CO semestral e exame colposcópico. Não houve incômodo adicional às mulheres por conta do exame de CHII, que era coletado durante as consultas de rotina.

Todas as pacientes aceitaram participar e foram informadas que recusar a inclusão no estudo não afetaria a qualidade de seu tratamento e acompanhamento. A paciente era considerada como participante apenas após a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2). As recomendações do *Guiding Medical Doctors in Biomedical Research Involving Human Subjects*, da declaração de Helsinki (DECLARAÇÃO DE HELSINKI III, 2000) e da resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996) foram totalmente respeitadas. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, assim como as modificações realizadas no termo de consentimento no transcorrer do estudo.

4. RESULTADOS

Entre as 94 mulheres avaliadas, 12 (13%) apresentaram NIC 2 no espécime cirúrgico e 82 (87%) apresentaram NIC 3. A CH II foi maior ou igual a 1URL em 86 (92%) mulheres.

Na **tabela 1** é mostrada a distribuição das mulheres conforme a detecção do DNA-HPV inicial, coletado no momento da conização e os resultados do exame em 6 e 12 meses após a conização. O teste de McNemar apontou significativa redução da detecção do DNA 6 meses após a conização, fenômeno que se sustentou em 12 meses. Entre as mulheres que tiveram CHII inicial negativa, nenhuma apresentou positividade para este exame coletado aos 6 e 12 meses.

Tabela 1: Distribuição das mulheres segundo a detecção do DNA-HPV inicial e durante o seguimento.

DNA-HPV	DNA-HPV pré conização				p (McNemar)
	<1URL		≥1URL		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
<1URL	7	(100)	58	(78)	<0,001
≥1URL	0	(0)	16	(22)	
TOTAL	7	(100)	74	(100)	
12 meses					
<1URL	6	(100)	53	(77)	<0,001
≥1URL	0	(0)	16	(23)	
TOTAL	5	(100)	64	(100)	

Na **tabela 2** são mostradas as distribuições das mulheres comparando a positividade para DNA-HPV entre 6 e 12 meses após a conização. Entre as 51 mulheres cujo DNA-HPV não foi novamente detectado em 6 meses, 4 (8%) apresentavam teste positivo em 12 meses. O teste de McNemar não apontou redução da detecção viral ao longo do seguimento, após o retorno de 6 meses.

Tabela 2: Distribuição das mulheres segundo a detecção do DNA-HPV entre intervalos de 6 e 12 meses.

DNA-HPV	DNA-HPV 6 meses				p (McNemar)
	<1URL		≥1URL		
	N	(%)	N	(%)	
12 meses					
<1URL	47	(92)	3	(27)	
≥1URL	4	(8)	8	(73)	0,7055
TOTAL	51	(100)	11	(100)	

A **tabela 3** mostra que a carga viral inicial não se relacionou significativamente com a detecção do DNA-HPV durante o seguimento. A carga viral inicial desloca-se acentuadamente para a direita, com mais de 80% apresentando mais de 10URL na primeira medição.

Tabela 3: Distribuição das mulheres conforme a carga viral inicial em função da detecção do DNA-HPV ao longo do seguimento

DNA-HPV	Carga viral inicial				
	< 1URL N(%)	1 a <10URL N(%)	10 a <100URL N(%)	100 a < 1000URL N(%)	≥ 1000URL N(%)
6 meses					
< 1URL	7 (100)	11 (85)	16 (84)	22 (73)	9 (75)
≥ 1URL	0 (0)	2 (15)	3 (16)	8 (27)	3 (25)
TOTAL	7 (100)	13 (100)	19 (100)	30 (100)	12 (100)
12 meses					
< 1URL	6 (100)	10 (91)	14 (78)	22 (76)	5 (56)
≥ 1URL	0 (0)	1 (9)	4 (22)	7 (24)	4 (44)
TOTAL	6 (100)	11 (100)	18 (100)	29 (100)	9 (100)

p 6meses(Δ^2)=0,30; p 12 meses(Δ^2)=0,54

Entre as 94 mulheres avaliadas, 27 (29%) apresentaram margens endocervicais do espécime cirúrgico comprometidas com NIC.

Vinte e sete (28,7%) mulheres apresentaram margens de conização comprometidas com NIC. Quando foi avaliada a importância do comprometimento das margens cirúrgicas do cone, de forma univariada, observou-se que não houve associação entre a presença de doença nas margens cirúrgicas e a detecção do DNA-HPV ao longo do seguimento, conforme mostrado na **tabela 4**.

Tabela 4: Distribuição das mulheres segundo a detecção do DNA-HPV em 6 e 12 meses e as margens endocervicais do cone

DNA-HPV	Margens				OR (IC95%)
	Livres		Comprometidas		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
<1URL	49	(84)	16	(70)	2,4 (0,6 a 8,7)
≥1URL	9	(16)	7	(30)	
TOTAL	58	(100)	23	(100)	
12 meses					
<1URL	44	(83)	15	(68)	2,3 (0,6 a 8,3)
≥1URL	9	(17)	7	(32)	
TOTAL	48	(100)	21	(100)	

Na **tabela 5** são declinados os resultados da detecção do DNA-HPV aos 6 e 12 meses em função da idade, sem que houvesse associação entre estas duas variáveis.

Tabela 5: Distribuição das mulheres conforme o DNA-HPV em função da idade

DNA-HPV	Idade				OR (IC95%)
	< 40 anos		≥ 40 anos		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
<1URL	42	(76)	23	(88)	0,4 (0,1 a 8,3)
≥1URL	13	(24)	3	(12)	
TOTAL	55	(100)	26	(100)	
12 meses					
<1URL	39	(89)	20	(83)	0,6 (0,1 a 2,7)
≥1URL	12	(11)	4	(17)	
TOTAL	44	(100)	24	(100)	

Na **tabela 6** é mostrado como se distribuíram as mulheres conforme a detecção do DNA-HPV em 6 e 12 meses em função do tabagismo. Na análise univariada houve associação, aos 12 meses, do tabagismo com a positividade para o vírus (OR 5,4; IC95% 1,4 a 21,5).

Tabela 6: Distribuição das mulheres conforme o DNA-HPV em função do tabagismo

DNA-HPV	Tabagismo				OR (IC95%)
	Não		Sim		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
<1URL	42	(82)	23	(77)	1,4 (0,4 a 4,9)
≥1URL	9	(18)	7	(23)	
TOTAL	51	(100)	30	(100)	
12 meses					
<1URL	42	(89)	17	(60)	5,4 (1,4 a 21,5)
≥1URL	5	(11)	11	(40)	
TOTAL	47	(100)	28	(100)	

Na análise multivariada (GEE) foram avaliadas as associações da idade, hábito do tabagismo e margens da conização com a detecção do DNA-HPV no transcorrer do seguimento. Os resultados são mostrados na **tabela 7**. Por esta metodologia, tiveram relação com a positividade para o HPV o tabagismo (OR=2,41; IC95% 1,01 a 5,75) e a presença de doença residual nas margens de conização (OR=2,81; IC95% 1,24 a 6,37) corroborando, em parte, os resultados da análise univariada.

Tabela 7: Resultados da análise multivariada (GEE) para associação de características epidemiológicas e da margem de conização com as medidas para DNA-HPV durante o seguimento

Características	OR	IC95%
Idade	1,16	0,43 a 3,11
Tabagismo	2,41	1,01 a 5,75
Margens	2,81	1,24 a 6,37

Observa-se na **tabela 8** que 11 mulheres apresentaram lesão cervical histológica sugestiva de NIC 2 ou 3 durante o seguimento (uma mulher apresentou persistência ou recidiva em 6 e 12 meses) sendo que 10(90%) apresentavam CH II \geq 1URL. Entre as mulheres que apresentaram doença persistente ou recidivada, em 6 meses, cinco fizeram novo cone e duas histerectomia (sendo estas últimas descontinuadas do seguimento). Em doze meses, das 3 mulheres com NIC 2 ou 3 persistente e uma com foco de microinvasão, duas fizeram nova conização e outra histerectomia. A quarta paciente está grávida e aguarda o término da gestação

para tratamento. Houve associação significativa entre a detecção do DNA-HPV e presença de recidivas aos 6 (OR 49,7; IC95% 5,0 a 1213,9) e 12 meses (OR 12,7; IC 95% 1,1 a 345,5).

Tabela 8: Distribuição das mulheres segundo a detecção do DNA-HPV e a ocorrência de persistência ou recidiva da NIC

Persistência ou recidivas	DNA-HPV 6 meses				OR (IC95%)
	< 1URL		≥ 1URL		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
Não	65	(93)	9	(82)	49,7 (5,0 a 1213,9)
Sim	0	(07)	7*	(18)	
TOTAL	65	(100)	16	(100)	
	DNA-HPV 12 meses				
12 meses					
Não	55	(96)	13	(90)	12,7 (1,1 a 345,5)
Sim	1	(04)	3*	(10)	
TOTAL	56	(100)	16	(100)	

Uma mulher apresentou NIC 3 em 6 meses sendo submetida a nova conização por alça diatérmica, apresentando novamente a lesão em 12 meses, optando-se nesta ocasião pela histerectomia. As demais foram tratadas com conização por alça.

Na **figura 2** são mostradas as trajetórias, individualmente, da carga viral após a conização e até 12 meses de seguimento. São mostrados em vermelho os casos em que ocorreu persistência ou recidiva da NIC aos 6 ou 12 meses.

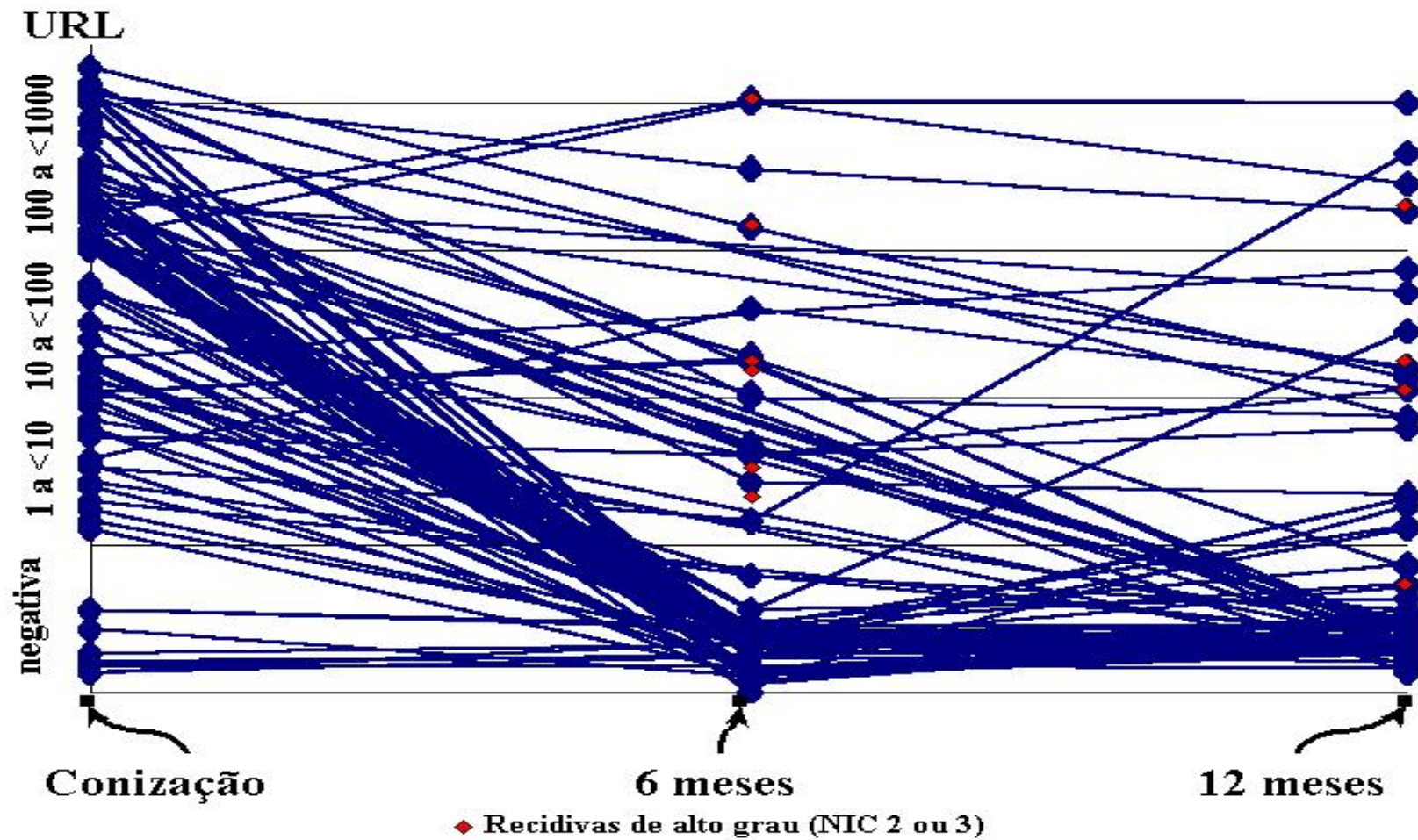


Figura 2: Trajetória da carga viral após a conização e durante o seguimento

Na **tabela 9** são elencadas as distribuições das mulheres conforme o comprometimento das margens excisionais e o aparecimento de recidivas de alto grau histológico em 6 e 12 meses após a conização com alça diatérmica. Não houve associação entre o estado das margens e a frequência das recidivas, em nenhum dos dois momentos.

Tabela 9: Distribuição das mulheres segundo as margens do cone e a presença de persistência ou **recidiva da NIC**

Persistência ou recidivas	Margens				OR (IC95%)
	Livres		Comprometidas		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
Não	55	(93)	19	(82)	3,8 (0,6 a 24,4)
Sim	3	(07)	4	(18)	
TOTAL	58	(100)	23	(100)	
12 meses					
Não	50	(96)	19	(90)	2,6 (0,2 a 28,8)
Sim	2	(04)	2	(10)	
TOTAL	52	(100)	21	(100)	

Na **tabela 10** são dispostas as proporções de persistência ou recidivas aos 6 e 12 meses em função da idade. Houve associação entre a presença de recidivas aos 6 meses (OR 11,7; IC 95% 1,7 a 99,9) e ter mais de 40 anos, o que não se repetiu em 12 meses.

Tabela 10: Distribuição das mulheres segundo idade e a presença de persistência ou recidiva da NIC

Recidivas	Idade				OR (IC95%)
	< 40 anos		≥ 40 anos		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
Não	61	(97)	13	(81)	11,7 (1,7 a 99,9)
Sim	2	(03)	5	(19)	
TOTAL	63	(100)	18	(100)	
12 meses					
Não	55	(94)	14	(93)	1,3 (N/A)
Sim	3	(06)	1	(07)	
TOTAL	58	(100)	15	(100)	

Na **tabela 11** é mostrado o comportamento da persistência ou recidiva em relação ao tabagismo. Não houve associação entre estas variáveis durante o seguimento.

Tabela 11: Distribuição das mulheres segundo o tabagismo e a presença de persistência ou recidiva da NIC

Persistência ou recidivas	Tabagismo				OR (IC95%)
	Não		Sim		
	N	(%)	N	(%)	
6 meses					
Não	49	(96)	25	(83)	4,9 (0,7 a 39,5)
Sim	2	(04)	5	(17)	
TOTAL	51	(100)	30	(100)	
12 meses					
Não	43	(89)	26	(60)	0,5 (0,1 a 6,1)
Sim	3	(11)	1	(40)	
TOTAL	46	(100)	27	(100)	

Na **tabela 12** são apresentados os resultados da análise, pela regressão logística, das associações entre a idade, tabagismo, estado das margens de conização e detecção do DNA-HPV com a ocorrência de recidivas. Embora a análise multivariada tenha apontado associação discreta entre ter mais de 40 anos (OR=12,37; IC95% 1,03 a 147,40) e apresentar doença persistente ou recidivada, a positividade para o DNA-HPV (OR=80,60; IC95% 5,25 a 1235,83) aos 6 meses foi o fator preponderante na atribuição de risco. Já aos 12 meses apenas a detecção do DNA-HPV se manteve associada com a ocorrência de recidivas.

Tabela 12: Resultados da análise multivariada para associação de idade, tabagismo, margem do cone com as persistência ou recidivas durante o seguimento

Características – 6 meses	OR	IC95%
Idade	12,37	1,03 a 147,40
Tabagismo	3,88	0,38 a 39,14
Margens	1,80	0,17 a 18,36
DNA-HPV	80,60	5,25 a 1235,83
Características – 12 meses		
Idade	0,53	0,02 a 10,57
Tabagismo	0,13	0,01 a 1,97
Margens	1,58	0,12 a 19,56
DNA-HPV	29,12	1,91 a 443,61

O grau de concordância entre a CO e CH II durante o seguimento, estimado pelo índice *kappa*, foi moderado aos 6 meses mas pobre aos 12 meses (**tabela 13**). Como os exames avaliam, respectivamente, alterações morfológicas e a presença do vírus, foi aplicado o teste do qui-quadrado, que apontou relação entre a positividade da CO e CHII nos dois momentos.

Tabela 13: Correlação da detecção do DNA-HPV com os achados da colpocitologia em 6 e 12 meses

CO	DNA-HPV 6 meses				kappa	IC 95%	p(Δ^2)
	<1URL		\geq 1URL				
6 meses	N	(%)	N	(%)			
Normal	54	(83)	6	(37)			
Anormal	11	(17)	10	(63)	0,40	0,18 a 0,64	<0,01
TOTAL	65	(100)	16	(100)			
	DNA-HPV 12 meses						
	<1URL		\geq 1URL				
12 meses	N	(%)	N	(%)			
Normal	57	(96)	12	(75)			
Anormal	2	(04)	4	(25)	0,28	0,02 a 0,54	<0,01
TOTAL	59	(100)	16	(100)			

Com relação ao desempenho da CO e da CHII em detectar recidivas de alto grau (NIC 2 ou 3) durante o seguimento, a **tabela 14** mostra que ambos os exames, aos 6 meses, detectaram as recidivas, enquanto a CHII teve discreta superioridade em relação à CO em excluir as mulheres não doentes. Neste momento, os valores preditivos negativos dos exames se equivaleram, mas o valor preditivo positivo da CHII foi superior ao da CO. Aos 12 meses, a sensibilidade da CO e da CHII também se comensuraram. Neste momento, entretanto, a CO teve maior especificidade e valor preditivo positivo que CHII.

Tabela 14: Desempenho da CH II e da CO na detecção de NIC 2 ou 3 no seguimento

Seguimento	Sensibilidade	(IC 95%)	Especificidade	(IC 95%)	VPP	VPN
6 meses (N=65)						
CO com atipia	100%	(100 a 100%)	81%	(80 a 82%)	33%	100%
CH II \geq 1URL	100%	(100 a 100%)	90%	(89 a 91%)	56%	100%
12 meses (N=69)						
CO com atipia	75%	(74 a 76%)	95%	(94 a 96%)	50%	98%
CH II \geq 1URL	75%	(74 a 76%)	80%	(80 a 82%)	19%	98%

5. DISCUSSÃO

Neste estudo clínico de coorte, a remoção da NIC foi acompanhada do declínio, para mais de 75% das mulheres, da detecção e da carga viral do DNA-HPV. Durante o seguimento, as mulheres que tiveram margens de conização comprometidas pela neoplasia e aquelas que eram tabagistas apresentaram maior detecção do vírus. Nas mulheres em que se detectou persistência do vírus, a frequência de recidivas foi significativamente maior do que no grupo de sujeitos em que não se evidenciou o HPV aos 6 e 12 meses após conização diatérmica e a idade superior a 40 anos se associou com persistência ou recidiva da NIC.

Entre as mulheres deste estudo, mais de 90% apresentavam DNA-HPV detectável antes do conização. Um fato que chama a atenção em nossa casuística é que nenhuma das mulheres inicialmente negativas para DNA-HPV tenha se tornado positiva no decorrer do acompanhamento. A redução acentuada da proporção de positividade para DNA-HPV, de 90% para cerca de 20% após a conização, pode ser imputada à remoção das áreas com NIC, repletas de células ricas em DNA-HPV. Todavia, o grupo das mulheres que apresentavam DNA-HPV persistente durante o seguimento não foi composto, essencialmente, por pacientes

cujos espécimes de conização apresentassem doença nas margens, ainda que a positividade das margens tenha se mostrado associada à maior proporção de exames positivos para DNA-HPV durante o seguimento.

Reinfecções, a persistência do vírus em células normais ou existência de doença residual não detectada são, intuitivamente, explicações para a persistência de vírus em mulheres teoricamente tratadas da NIC. A identificação do tipo viral com técnicas, a exemplo da PCR, que não foram empregadas no presente estudo, poderia apontar mulheres que foram infectadas pelo HPV após a remoção da NIC, caso os tipos virais diferissem antes e após a conização. Já a persistência de vírus em células que resguardaram a normalidade morfológica já foi descrita há mais de 15 anos, enquanto que focos de doença residual não detectados pelas técnicas empregadas pelos pesquisadores complementam o conjunto de justificativas para a permanência do vírus durante o seguimento (FERENCZY et al., 1985, TATE et al., 1996).

A elevada proporção da detecção inicial de DNA-HPV está em consonância com estudos anteriores, por outros autores, sobretudo considerando que estas mulheres apresentavam, concomitantemente, anormalidades colpocitológicas e histológicas (HERBST et al, 2001; PARASKEVAIDIS et al., 2001; GAMZU et al., 2002; SYRJÄNEN et al., 2002). Neste estudo, variáveis sócio demográficas e reprodutivas, como idade, uso de anticoncepcional oral, paridade, número total de parceiros ao longo da vida e a idade ao início da atividade sexual, não se mostraram associadas à detecção inicial do DNA-HPV (anexo 4). Estas associações são objeto de estudo há cerca de quinze anos, com resultados

controversos. Seguramente, entretanto, o comportamento sexual e início da atividade sexual, em estudos populacionais, estão associados ao aumento do risco para neoplasia cervical (MUNOZ et al., 2003).

Considerando a trajetória da carga viral ao longo do seguimento, nota-se consonância desta com a detecção do vírus. Após a retirada da NIC, a carga viral na cérvix uterina cai. A tendência se mostra não apenas naquelas mulheres cuja carga veio a níveis baixos (<1URL), mas também entre as mulheres que permaneceram com o vírus detectável, mas com número de cópias, na maioria das vezes, em uma ordem de grandeza inferior. Mais uma vez, associa-se a redução do volume de células alteradas com a quantidade de vírus detectável, mas os mesmos questionamentos referentes à simples positividade para o HPV vêm à tona quando se tenta justificar a variação da carga viral, por vezes ascendente, em mulheres que não apresentaram doença residual localizável (LIN et al., 2001).

A carga viral inicial não se associou à detecção do DNA-HPV no seguimento. Mesmo mulheres com cargas virais acima de 100URL demonstraram proporção de exames negativos no seguimento semelhante à daquelas com cargas inicialmente menos elevadas, assim como a trajetória descendente, para a maioria dos casos, não diferiu com relação à carga inicial.

A análise multivariada demonstrou maior positividade para a infecção viral, em 6 e 12 meses após a conização diatérmica, em mulheres cujos cones tinham margens comprometidas por NIC. Previamente, outros autores já haviam

encontrado semelhante associação (GARDEIL et al.,1997; PARASKEVAIDIS et al., 2001). Apesar da frequência de exames para DNA-HPV ter sido superior, durante o seguimento, em mulheres com margens comprometidas, a ocorrência de recidivas de alto grau não foi maior entre essas mulheres. Possivelmente, a relação temporal entre a infecção e o aparecimento da lesão histológica responde pela ausência de recidivas em concomitância à presença do vírus.

As recidivas da NIC ocorreram, na maior parte dos casos e de forma indiferente quanto ao momento do seguimento, em mulheres com cargas virais bem acima do ponto de corte da CHII. Houve apenas um caso em que a recidiva ocorreu e o vírus não era detectável, no momento do diagnóstico. Não obstante, mesmo nesse caso a CHII inicial era positiva, podendo-se supor característica específica da amostra coletada no momento do diagnóstico da recidiva, possivelmente em decorrência de carga muito baixa, mau processamento ou coleta inadequada. O que é relevante, então, é que a persistência do vírus conduz a maior risco de NIC recidivante, a princípio (NAGAI et al., 2000). A presença de neoplasia residual e não detectada pelo exame clínico poderia ser outra explicação para a associação da persistência viral e do insucesso do tratamento da NIC (KANAMORI et al., 1998).

Manter sem novo tratamento mulheres com margens excisionais do cone comprometidas por NIC pode parecer uma temeridade, mas esse tema já foi objeto de estudo e a conduta é segura, até evidência em contrário (MURDOCH et al., 1992; FLANNELLY et al., 1997; MOHAMED-NOOR et al., 1997; PARASKEVAIDIS et al., 2000). Até o momento, como já mencionado, também

em nossa amostra o comprometimento das margens não mostrou associação com a frequência das recidivas, ainda que mais tempo de seguimento seja recomendável para assegurar que o seguimento clínico após comprovação de margens excisionais comprometidas não tenha sido prejudicial.

A detecção do DNA-HPV, nas consultas de 6 e 12 meses se mostrou associada ao tabagismo. Em paralelo, a idade não esteve associada à detecção do DNA após a exérese da NIC. Como previamente comentado, outros autores já encontraram relação entre o hábito de fumar e a falha do tratamento excisional da NIC. O mecanismo proposto para essa associação são as alterações epiteliais impostas por componentes inalados pelos fumantes (COKER et al., 2002)

O presente estudo tem a propriedade de ter acompanhado expressivo número de mulheres (anexo 5), submetidas à conização com alça diatérmica e com comprovação histológica da NIC, por até 12 meses. A maioria dessas mulheres teve amostragens cervicais para detecção do DNA-HPV e CO, bem como exame clínico da cérvix com colposcopia por duas ocasiões. O achado referente à detecção inicial do vírus antecipando as detecções subseqüentes, bem como a falta de associação entre a positividade do DNA-HPV no seguimento, são relevantes. Da mesma forma, a observação das trajetórias da carga viral pode auxiliar no entendimento da infecção pelo HPV e sua relação com a NIC. A persistência do vírus em cérvices sãs fica sob questionamento, posto que a contagem viral decai acentuadamente com a remoção total ou parcial da NIC e, ainda mais relevante, permanece em patamares menos elevados ou simplesmente indetectável.

Quando os resultados da CO e CHII são postos lado a lado, se depreende que a concordância entre as duas metodologias foi moderada, aos 6 meses, e pobre aos 12 meses. Ainda assim, ao observarmos o desempenho de ambos os exames em detectar as recidivas de alto grau histológico, nota-se que tanto a biologia molecular como a análise morfológica das células cervicais convergiram. O desempenho da CO superou o da CHII em algumas circunstâncias, como a especificidade e o valor preditivo positivo aos 12 meses, mas as diferenças não foram acentuadas.

Quando se recorre ao que outros autores já estudaram, FAIT et al. (2000), a partir da aplicação da CHII em 503 mulheres com dois exames colpocitológicos anormais (226 com ASCUS e 277 sugestivos de lesão de baixo grau) e posteriormente submetidas a biópsia tissular ou excisão da zona de transformação com alça diatérmica, detectaram que um teste positivo para DNA-HPV teve sensibilidade de 88% e especificidade de 93% em predizer NIC 2 e 3. Mesmo assim, se levada em conta a associação colpocitologia com CHII, ainda 13% das pacientes com NIC 2 e 3 teriam passado sem tratamento. PARASKEVAIDIS et al. (2001), avaliaram 1000 mulheres submetidas a colpocitologia e testes para detecção de DNA-HPV através de PCR semiquantitativa. Submeteram essas mulheres à colposcopia em caso de colpocitologia ou PCR anormal e não puderam apontar melhora significativa nos valores preditivos positivo e negativo da citologia quando associada à detecção de DNA-HPV.

O passo seguinte a este estudo é a aplicação de outras técnicas de biologia molecular, em especial a amplificação do DNA por PCR, com o fito de interpretar a

relevância das variantes do HPV em relação às medições da carga viral e as repercussões clínicas da associação destas variáveis. O material coletado e estocado pode ser aproveitado, após processamento específico, para a determinação dos tipos virais e de suas quantidades. Também a comparação de técnicas é sempre salutar e os custos e facilidades para aplicação variam em função do desenvolvimento tecnológico.

A concentração de eventos relevantes na consulta de seis meses, como a crucial e permanente redução da carga viral e o adensamento do número de recidivas, leva a crer ser este um momento adequado para aplicar o teste de detecção do DNA-HPV. Afinal, o comportamento da carga viral em 12 meses pouco variou com relação ao sexto mês do seguimento e a grande maioria dos casos de persistência ou recidiva, inclusive aqueles detectados apenas tardiamente, tiveram teste de DNA-HPV positivo seis meses após a conização. A CO e a CHII praticamente se equivaleram quanto ao desempenho para detectar recidivas; a colposcopia, no entanto, foi indispensável para a localização e avaliação de áreas suspeitas. Mais notório, a persistência viral foi marcadamente associada à falha do tratamento excisional da NIC, caracterizando-se como sinal de alerta que prenunciava o reaparecimento da neoplasia.

6. CONCLUSÕES

1. A detecção do DNA-HPV e a carga viral declinaram substancialmente, para a maioria dos casos, entre a conização com alça diatérmica e o retorno de seis meses. A redução da detecção e da carga se manteve em níveis semelhantes aos 12 meses.
2. O comprometimento das margens cirúrgicas do cone e o tabagismo estiveram associados com a detecção do DNA-HPV no transcorrer do seguimento, enquanto a idade não mostrou associação com a positividade para o vírus.
3. A detecção do DNA-HPV se relacionou positivamente com a ocorrência de doença persistente ou recidivada aos 6 e 12 meses e a maior parte das mulheres que apresentaram persistência ou recidiva tinham carga viral superior a 1URL.
4. Houve associação entre ter mais de 40 anos e maior frequência de persistência ou recidiva da NIC aos 6 meses. Já o tabagismo e o comprometimento das margens do cone pela neoplasia não se relacionaram com persistência ou recidiva da NIC aos 6 e 12 meses.
5. A correlação entre a CO e CHII foi moderada aos 6 meses e pobre aos 12 meses; não obstante, o desempenho de ambos os exames em detectar persistência ou recidiva da NIC foram semelhantes, com discreta superioridade da CO em algumas circunstâncias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACLADIOUS, N.N.; SUTTON, C.; MANDALL, D.; HOPKINS, R.; ZAKLAMA, M.; KIRTCHENER, H. Persistent human Papillomavirus infection and smoking increase risk of failure of treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). *Int J Cancer*, 98:435-9, 2002.

ALMOG, B.; GAMZU, R.; KUPERMINC, M.J.; LEVIN, I.; FAINARU, O.; NIV, J. et al. Human Papillomavirus testing in patient follow-up post cone biopsy due to high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol*, 88:345-50; 2003.

BLAND, J.M.; ALTMAN, D.G. Statistic Notes: The odds ratio. *BMJ*, 320:1468, 2000.

BOLLEN, L.J.; TJONG-A-HUNG, S.P.; VAN DER VELDEN, J.; MOL, B.W.; TEM KATE, F.W.; TER SCHEGGET, J. et al. Prediction of recurrent and residual cervical dysplasia by human Papillomavirus detection among patients with abnormal cytology. *Gynecol Oncol*, 72:1999-201, 1999.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos. *Inf Epidemiol do SUS-Brasil*, v.5, p.2, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer - INCA, **Estimativas da Incidência e mortalidade por câncer**. 2003, Rio de Janeiro: INCA. 92p.

CHUA, K.L.; HJERPE, A. Human Papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri. **Gynecol Oncol**, 66:108-13, 1997.

CLAVEL, C.; MASURE, M.; PUTAUD, I.; THOMAS, K.; BORY, J.P.; GABRIEL, R. et al. Hybrid capture II, a new sensitive test for human Papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR result in cervical lesions. **J Clin Pathol**, 51:737-40, 1998.

CLAVEL, C.; MASURE, M.; LEVERT, M.; PUTAUD, I.; MANGEONJEAN, C.; LORENZATTO, M. et al. Human Papillomavirus detection by hybrid capture II assay: a reliable test to select women with normal cervical smears at risk for developing cervical lesions. **Diagn Mol Pathol**, 9:145-50, 2000.

COKER, A.L.; BOND, S.M.; WILLIAMS, A.; GERASIMOVA, T.; PIRISI, L. Active and passive smoking, high-risk human Papillomavirus and cervical neoplasia. **Cancer Detct. Prev** 26:121-8, 2002.

COSTA, S.; DE SIMONE, P.; VENTUROLI, S. CRICCA, M.; ZERBINI, M.L.; MUSIANI, M. et al. Factors predicting human Papillomavirus clearance in cervical intraepithelial neoplasia lesions treated by conization. **Gynecol Oncol**, 90:358-365, 2003.

CRUICKSHANK, M.E.; SHARP, L.; CHAMBERS, G.; SMART, L.; MURRAY, G. Persistent infection with human Papillomavirus following the successful treatment of high grade cervical intraepithelial neoplasia. **BJOG**, 109:579-81, 2002.

CUZICK, J.; SASIENI, P.; DAVIES, P.; ADAMS, J.; NORMAND, C.; FRATER, A. et al. A systematic review of the role of human Papillomavirus testing within a cervical screening programme. *Health Technol Assess*, 3:1-196, 1999.

DECLARAÇÃO DE HELSINKI III. Sobre os princípios éticos para pesquisa em seres humanos. (on line) Edimburgo, Escócia, 2000. Disponível em <http://www.ibemol.com.br/declarações/helsinque>. Acesso em 7 out 2000.

DISTEFANO, A.L.; PICCONI, M.A.; ALONIO, L.V.; DALBERT, D.; MURAL, J.; BARTT, O. et al. Persistence of human Papillomavirus DNA in cervical lesions after treatment with diathermic large loop excision. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 6:214-9,1998.

DUGGAN, B.D.; FELIX, J.C.; MUDERSPACH, L.I.; GEBHARDT, J.A.; GROSHEN, S.; MORROW, C.P. et al. Cold-knife conization versus conization by the loop eletrosurgical excision procedure: a randomized, prospective study. *Am J Obstet Gynecol*, 180:276-82, 1999.

EDUARDO, A.M.; DINH, T.V.; HANNIGAN, E.V.; YANDELL, R.B.; SCHNADIG, V.J. Outpatient loop eletrosurgical excision procedure for cervical intraepithelial neoplasia. Can it replace cold knife conization? *J Reprod Med*, 41:729-32, 1996.

ELFGREN, K.; BISTOLETTI, P.; DILLNER, L.; WALBOOMERS, J.M.; MEIJER, C.J.; DILLNER, J. Conization for cervical intraepithelial neoplasia is followed by disappearance of human Papillomavirus deoxyribonucleic acid and a decline in serum and cervical mucus antibodies against Papillomavirus antigens. *Am J Obstet Gynecol*, 174:397-42, 1996.

FAIT, G.; KUPFERMINC, M.J.; DANIEL, Y.; GEVA, E.; RON, I.G.; LESSING, J.B. et al. Contribution of human Papillomavirus testing by hybrid capture in the triage of women with repeated abnormal Pap smears before colposcopy referral.

Gynecol Oncol, 79:177-180, 2000.

FARTHING, A.; MASTERSON, P.; MASON, W.P.; VOUSDEN, K.H. Human Papillomavirus detection by hybrid capture and its possible clinical use. ***J Clin Pathol***, 47:649-652, 1994.

FERENCZY, A.; MITAO, M.; NAGAI, N.; SILVERSTEIN S.J.; CRUM, C.P. Latent Papillomavirus and recurrent genital warts. ***N Engl J Med***, 313:784-8, 1985.

FERENCZY, A. Viral testing for genital human papillomavirus infections: recent progress and clinical potentials. ***Int J Gynecol Cancer***, 5:321-8, 1995.

FERRIS, D.G.; WRIGHT, T.C.; LITAKER, M.S.; RICHART, R.M.; LORINCZ, A.T.; SUN, X.W. et al. Triage of women with ASCUS and LSIL on Pap smear reports: Management by repeat Pap smear, HPV-DNA testing or colposcopy? ***J Fam Pract***, 46:125-134, 1998.

FIGUEIREDO, P.G.; DERCHAIN, S.F.M.; SARIAN, L.O.Z; GONTIJO, R.C.; ANDRADE, L.A.A.; CAMPOS, E.A. et al. Detecção do DNA do Papillomavírus Humano após excisão da zona de transformação com alça diatérmica para tratamento de neoplasia intra-epitelial cervical. ***Rev Bras Gin Obstet***, 25:9-16, 2003.

FLANNELLY, G.; LANGHAN, H.; JANDIAL, L.; MANA, E.; CAMPBELL, M.;

KITCHENER, H. A study of treatment failures following large loop excision of the transformation zone for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Obstet Gynecol*, 104:718-22, 1997.

FRANCO, E.; SYRJANEN, K.; DE WOLF, C.; PATNICK, J.; MCGOOGAN, E.; BOSH, X. et al. New developments in cervical cancer screening and prevention. Geneva, Switzerland, June 17-19 1996. Workshop. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 853-6, 1996.

GAMZU, R.; ALMOG, B.; LEVIN, I.; FAINARU, O.; NIV, J.; LESSING, J.B.; BAR-AM, A. Clinical and economic implications of adding HPV tests to the routine cytology follow-up and management of patients with histologically defined cervical intraepithelial neoplasia grade 1. *Gynecol Oncol*, 86:129-133, 2002.

GARDEIL, F.; BARRY-WALSH, C.; PRENDIVILLE, W.; CLINCH, J.; TURNER, M.J. Persistent intraepithelial neoplasia after excision for cervical intraepithelial neoplasia grade III. *Obstet Gynecol*, 89:419-22, 1997.

HALL, S.; LÖRINCZ, A.; SHAH, F.; SHERMAN, M.E.; ABBAS, F.; PAULL, G. et al. Human Papillomavirus DNA detection in cervical specimens by hybrid capture: correlation with cytologic and histologic diagnoses of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Gynecol Oncol*, 62:353-359, 1996.

HERBST, A.L.; PICKETT, K.E.; FOLLEN, M.; NOLLER, K.L. The management of ASCUS cervical cytologic abnormalities and HPV testing: a cautionary note. *Obstet Gynecol*, 98:849-51, 2001.

HOWARD, M.; SELLORS, J.; KACZOROWSKI, J. Optimizing the hybrid capture II human Papillomavirus test to detect cervical intraepithelial neoplasia. **Obstet Gynecol**, 100:972-80; 2002.

JAIN, S.; TSENG, C.; HORNG, S.; SOONG, Y.; PAO, C.C. Negative predictive value of human Papillomavirus test following conization of the cervix uteri. **Gynecol Oncol**, 82:177-180, 2001.

JOHNSTON, C. Quantitative tests for human Papillomavirus. **Lancet**, 355:2179-80, 2000.

JOSEFSSON, A.M.; MAGNUSSON, P.K.; YLITALO, N.; SORENSEN, P.; QWARFORTH-TUBBIN, P.; ANDERSEN, P.K. et al. Viral load of human Papillomavirus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case control study. **Lancet**, 355:2189-93, 2000.

KANAMORI, Y.; KIGAWA, J.; MINAGAWA, Y.; IRIE, T.; OISHI, T.; ITAMOCHI, H. et al. Residual disease and presence of human Papillomavirus after conization. **Oncology**, 55:517-520, 1998.

KJAER, S.K.; VAN DEN BRULE, A.J.C.; BOCK, J.E.; POLL, P.A.; ENGHOLM, G.; SHERMAN, M.E. Human Papillomavirus: the most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia. **Int J Cancer**, 65:601-6, 1996.

KJAER, S.K.; VAN DEN BRULE, A.J.; PAULL, G.; SVARE, E.I.; SHERMAN, M.E.; THOMSEN, B.L. et al. Type specific persistence of high risk human Papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow-up study. *BMJ*, 325:572-8, 2002

KJELLBERG, L.; WADELL, G.; BERGMAN, F.; ISAKSSON, M.; ANGSTRÖM, T.; DILLNER, J. Regular disappearance of human Papillomavirus genome after conization of cervical dysplasia by carbon dioxide laser. *Am J Obstet Gynecol*, 183:1238-42, 2000.

KURMAN, R.J.; SOLOMON, D. **The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses.** Springer-Verlag, 1994.

LIANG, K.Y.; ZEGER, S.L. Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika*, 73:13-22, 1986.

LIANG, K.Y., ZEGER, S.L.; QAQISH, B. Multivariate regression analyses for categorical data. *J R Statis Soc B*, 54:3-40, 1992.

LIAW, K.L.; GLASS, A.G.; MANOS, M.M.; GREER, C.E.; SCOTT, D.R.; SHERMAN, M. et al. Detection of human Papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. *J Natl Cancer Inst*, 91:954-960, 1999.

LIN, C.; TSENG, C.; LAI, C.; HSUEH, S.; HUANG, K.; CHAO, A. Value of human Papillomavirus deoxyribonucleic acid testing after conization in the prediction of residual disease in the subsequent hysterectomy specimen. *Am J Obstet*

Gynecol, 184:940-5, 2001.

LIZARD, G.; ROIGNOT, P.; BRUNET-LECOMTE, P.; CHARDONNET, Y.

Morphological analysis of in situ hybridization signals in cervical intraepithelial neoplasia containing human Papillomaviruses type 16 or 18: relationship with histological grade and DNA content. **Cytometry**, 34:180-6, 1998.

LÖRINCZ, A.T.; REID, R.; JENSON, A.B.; GREENBERG, M.D.; LANCASTER, W.; KURMAN, R.J. Human Papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. **Obstet Gynecol**, 79:328-337, 1992.

LÖRINCZ, A.T.; CASTLE, P.E.; SHERMAN, M.E.; SCOTT, D.R.; GLASS, G.; WACHOLDER, S. et al. Viral load of human Papillomavirus and risk of CIN3 or cervical cancer. **Lancet**, 360:288-9, 2002.

MOHAMED-NOOR, K.; QUINN, M.A.; TAN, J. Outcomes after surgical cold knife conization with complete and incomplete excision of abnormal epithelium: a review of 699 cases. **Gynecol Oncol**, 67:34-8, 1997.

MONTZ, F.J. Management of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and low-grade squamous intraepithelial lesion and potential complications. **Clin Obstet Gynecol**, 43:394-409, 2000.

MUNOZ, N.; BOSH, F. X.; DE SANJOSE, S.; HERRERO, R.; CASTELLSAGUE, X.; SHAH, K.V. et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. **N Engl J Med**, 348:518-527, 2003.

MURDOCH, J.B.; MORGAN, P.R.; LOPES, A.; MONAGHAN, J.M. Histological incomplete excision of CIN after large loop excision of the transformation zone (LLETZ) merits careful follow-up, not retreatment. *Br J Obstet Gynecol*, 99:990-3, 1992.

NAGAI, Y.; MAEHAMA, T.; ASATO, T.; KANASAWA, K. Persistence of human Papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol Oncol*, 79:294-9, 2000.

NOBBENHUIS, M.A.; MEIJER, C.J.; VAN DEN BRULE, A.J.; ROZENDAAL, L.; VOORHORST, F.J.; VERHEIJEN, R.H.M. et al. Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer*, 84:796-801, 2001.

PARASKEVAIDIS, E.; LOLIS, E.D.; KOLIOPOULOS, G.; ALAMANOS, Y.; FOTIOU, S.; KITCHENER, H.C. Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after large loop excision with clear margins. *Obstet Gynecol*, 95:828-31, 2000.

PARASKEVAIDIS, E.; KOLIOPOULOS, G.; ALAMANOS, Y.; MALAMOU-MITSI, V.; LOLIS, E.D.; KITCHENER, H.C. Human Papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol*, 98:833-6; 2001a.

PARASKEVAIDIS, E.; MALAMOU-MITSI, V.; KOLIOPOULOS, G.; PAPPA, L.; LOLIS, E.; GEORGIU, I. et al. Expanded cytological referral criteria for colposcopy in cervical screening: comparison with human Papillomavirus testing. *Gynecol Oncol*, 82:355-359, 2001b.

PINTO, A.P.; CRUM, C.P. Natural history of cervical neoplasia: defining progression and its consequence. ***Clin Obstet Gynecol***, 43:352-62, 2000.

SCHIFFMAN, M.H.; BAUER, H.M.; HOOVER, R.N.; GLASS, A.G.; CADELL, D.M.; RUSH, B.B. et al. Epidemiologic evidence showing that human Papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. ***J Natl Cancer Inst***, 85:958-964, 1993.

SCULLY, R.E.; BONFIGLIO, T.A.; KURMAN, R.I.; SILVERBERG, S.G.; WILKINS, E.J. **Histological typing of female genital tract tumors – World Health Organization – International histological classification of tumors. 2nd Ed.**, 1994 Springer-Verlag, Berlin.

SELLORS, J.W.; MAHONY, J.B.; KACZOROWSKI, J.; LYTWYN, A.; BANGURA, H.; CHONG, S. et al. Prevalence and predictors of human Papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. Survey of HPV in Ontario Women (SHOW) Group. ***CMAJ***, 163:503-8, 2000.

STAFL, A.; WILBANKS, G.D. An international terminology of colposcopy: report of the Nomenclature Committee of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy. ***Obstet Gynecol***, 77:313-4, 1991.

SUN, C.A.; LAI, H.C.; CHANG, C.C.; NIEH, S.; YU, C.P.; CHU, T.Y. The significance of human Papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix. ***Gynecol Oncol***, 52:95-9, 2001.

SUN, C.A.; LIU, J.F.; WU, D.M.; NIEH, S.; YU, C.P.; CHU, T.Y. Viral load of high-risk human Papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. ***Int J Gynaecol Obstet***, 76:41-7, 2002.

SUN, X.W.; FERENCZY, A.; JOHNSON, D.; KOULOS, J.P.; LUNGU, O.; RICHARD, R.M. et al. Evaluation of the hybrid capture human Papillomavirus deoxyribonucleic acid detection test. ***Am J Obstet Gynecol***, 173:1432-7, 1995.

SWAN, D.C.; TUCKER, R.A.; TORTOLERO-LUNA, G.; MITCHELL, M.F.; WIDEROFF, L.; UNGER, E.R. et al. Human Papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV type. ***J Clin Microbiol***, 37:1030-4, 1999.

SYRJÄNEN, K.J.; SHABALOVA, I.P.; PEROVICHEV, N.; KOZACHENCO, V.P.; ZAKHAROVA, T.; PAJANID, A. et al. Human Papillomavirus testing and conventional PAP smear cytology as optional screening tools of women at different risk for cervical cancer in countries of former Soviet Union. ***J Lower Genital Tract Dis***, 6:97-110, 2002.

SYRJÄNEN, K.J.; SYRJÄNEN, S.M. **Papillomavirus infections in human pathology**. 2000; Chichester: John Willey & Sons LTD. 615p

TATE, J.E.; RESNICK M.; SHEETS, E.E.; CRUM C.P. Absence of Papillomavirus DNA in normal tissue adjacent to most cervical intraepithelial neoplasms. ***Obstet Gynecol***, 88:257-60, 1996.

WALLBOOMERS, J.M.; JACOBS, M.V.; MANOS, M.M.; BOSCH, F.X., KUMMER, J.A.; SHAH, K.V. et al. Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189:12-9, 1999.

YLITALO, N.; SORENSEN, P.; JOSEFSSON, A.M.; MAGNUSSON, P.K.; ANDERSEN, P.K.; PONTEN, J. et al. Consistent high viral load of human Papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case control study. *Lancet*, 355:2194-8, 2000.

ZERBINI, M.; VENTUROLI, S.; CRICCA, M.; GALLINELLA, G.; DE SIMONE, P.; COSTA, S. et al. Distribution and viral load of type specific HPVs in different cervical lesions as detected by PCR-ELISA. *J Clin Pathol*, 54:377-80, 2001.

ZEGER, S.L.; LIANG, K.Y.; ALBERT, P.S. Models for longitudinal data: a generalized estimating equation approach. *Biometrics*, 44:1049-60, 1988.

ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst*, 92:690-8, 2000.

8. BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÕES

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas. Normas para Apresentação de Documentos Científicos. Curitiba, UFPR, 2001, v.(1-10).

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP . Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98 (alterada 2002).

9. ANEXOS

9.1. ANEXO 1: FICHA PARA COLETA DE DADOS

Projeto CAF – Primeira consulta

I. IDENTIFICAÇÃO – Iniciais _____ Ficha: _____

1.1. Data nascimento ___/___/___ 1.2. Idade _____
1.3. Estado conjugal III solteira I2I casada I3I amasiada I4I viúva I5I separada

II. ANTECEDENTES PESSOAIS E OBSTÉTRICOS

2.1. G _____ P _____ A _____ C _____
2.2. Início atividade sexual ___ anos 2.3. Nº de parceiros _____
2.4. MAC III sem I2I DIU I3I ACO I4I Laque I5I Condom I6I Outros
2.5. Menarca ___ anos DUM ___/___/___
2.6. Fumou no último ano IOI não III sim
Quantos cigarros/dia _____ Tempo total de tabagismo em anos _____
2.7. Assinou o termo de consentimento IOI não III sim

III. CONDUTA DIAGNÓSTICA

3.1. Encaminhamento

3.1.1. C.O. Data ___/___/___ Nº _____ Resultado _____

3.2. Revisão C.O. Data ___/___/___ Nº _____ Resultado _____

3.1.2. Biópsia IOI não I1I sim Data ___/___/___ Nº _____

Resultado _____

3.3. CAF Data ___/___/___ DUM ___/___/___

3.3.1. C.O. Sim Não Nº _____ Resultado _____

3.3.2. Captura híbrida II _____ RLU

3.3.3. Colposcopia

I - Achados Colposcópicos

I01 Não fez I11 AIS I21 Epitélio branco a) tênue b) denso I31 Mosaico a) tênue b) denso

I41 Vasos atípicos I51 Pontilhado I61 Leucoplasia I71 Insatisfatória I81 Outros

II – Critérios de avaliação das margens colposcópicas em relação ao canal, segundo Prendiville:

I11 Grau I

I21 Grau II

I31 Grau III



IV. CAF (verso da primeira consulta)

4.1. Nº de fragmentos	I11	I21	I>21		
4.2. Artefatos térmicos das margens	I01 não	I11 sim	_____		
4.3. Potência de coagulação?	_____ watts				
4.4. Potência de corte?	_____ watts				
4.5. Complicações imediatas	I01 não	I11 sim			
4.5.1. Hemorragia	I01 sem	I11 Leve	I21 Moderada	I31 Grave	4.9.2. Outras _____
4.6. Complicações tardias	I01 não	I11 sim			
I11 Hemorragia _____			I21 Infecção _____		
I31 Estenose cervical		I41 Infertilidade		I51 Outras	

V. PRIMEIRO RETORNO PÓS CAF

Diagnóstico histológico: Nº _____ Resultado _____

5.1. Margens

5.1.1. Margem ectocervical I01 Livre I11 Comprometida Resultado _____

5.1.2. Margem endocervical I01 Livre I11 Comprometida Resultado _____

5.2. Comprometimento glandular? I01 Não I11 Sim _____

5.3. Características do espécime _____ X _____ X _____ cm

5.4. Segundo procedimento

I01 não (passe para seguimento) I11 sim Data ___/___/___

5.4.1. I11 Cone a frio I21 CAF I31 HTA I41 WM I51 RTx

5.4.2. Resultado _____

5.4.3. Margens Ecto I11 ML I21 MC resultado _____

Endo I11 ML I21 MC resultado _____

SEGUIMENTO - CADA RETORNO

Iniciais _____ Ficha _____
 _____ meses Data ___/___/___

Exame clínico

Captura híbrida II I0I Não I1I Sim
 Citologia oncológica I0I Não I1I Sim

Colposcopia

I – Achados Colposcópicos

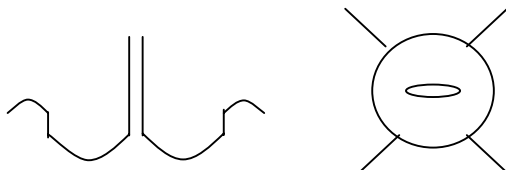
I0I Não fez I1I AIS I2I Epitélio branco a) tênue b) denso I3I Mosaico a) tênue b) denso
 I4I Vasos atípicos I5I Pontilhado I6I Leucoplasia I7I Insatisfatória I8I Outros

II – Critérios de avaliação das margens colposcópicas em relação ao canal, segundo Prendiville:

I1I Grau I
 I2I Grau II
 I3I Grau III

Extensão _____ mm

Biópsia I0I não I1I sim



Virá para resultado em: ___/___/___

Observações referentes a estas consulta _____

RESULTADOS DE CADA RETORNO (no verso do retorno)

Data ___/___/___ DUM: ___/___/___

CH II I _____ RLU

CO Número _____ Resultado: _____

Biópsia Número _____ Resultado: _____

Conduta: I0I Seguimento I1I novo tratamento Data ___/___/___

I1I Cone a frio I2I CAF I3I HTA I4I WM

I5I outro _____

Doença residual I0I não I1I Sim Resultado _____

Observação: _____

Próximo retorno data: ___/___/___

Conduta proposta no próximo retorno:

9.2. ANEXO 2: CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Persistência do DNA-HPV após a Conização com Cirurgia de Alta Frequência (CAF) em mulheres com NIC 2 ou 3

Eu, Sra _____, portadora do RG _____, atendida no Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) no ambulatório de Patologia Cervical, fui convidada a participar desta pesquisa porque o resultado do meu exame de prevenção mostrou alterações nas células do colo do útero e necessito de tratamento.

Sei que este estudo tem como objetivo avaliar a presença do HPV de alto risco oncológico no meu colo uterino antes e após a conização por cirurgia de alta frequência com alça.

Sei que serei submetida a uma entrevista sobre informações pessoais que ficarão de posse dos Drs. Luís Otávio Zanatta Sarian e Sophie F M Derchain, que manterão o sigilo destas.

Sei também, que serão realizados alguns exames: colposcopia, que é a visualização do colo do útero com uma lente de aumento, um teste para saber se eu tenho ou não o vírus que causa o câncer do colo uterino. Fui informada de que estes exames apresentam risco mínimo de complicações.

O tratamento da lesão do colo do útero será a conização, que é a retirada de um pedaço maior do colo do útero (cone) com anestesia local no próprio ambulatório. Sei que a realização da conização por esta técnica é indolor e que a sua principal complicação é a hemorragia que, porém, não é freqüente.

Sei também que, após a conização, deverei comparecer após quatro meses neste ambulatório, para nova avaliação e novos exames. Nestes retornos, serão realizados: o exame de prevenção, o material para a detecção do HPV, a

colposcopia e, uma biópsia do colo do útero somente quando necessário.

Fui esclarecida quanto ao meu direito de não participar da pesquisa e a não aceitação na participação no estudo não implicará na perda dos direitos iniciais rotineiramente oferecidos pelo ambulatório. Sei também que a qualquer momento posso desistir de participar da pesquisa, sem nenhum dano para a minha saúde e tratamento.

Também fui informada de que não terei custos para participar da pesquisa, pois, o intervalo entre as consultas será o mesmo realizado de rotina no ambulatório.

Em caso de dúvidas ou esclarecimento, tenho o direito de entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da FCM ou os Drs. Luís Otávio Zanatta Sarian e Sophie F M Derchain, no telefone 3788-9305.

Assinatura da paciente: _____.

Assinatura do pesquisador: _____.

Campinas, _____ de _____ de 200__.

9.3. ANEXO 3: GENERALIZED ESTIMATING EQUATIONS (GEE)

Medidas repetidas para uma determinada variável, realizadas em um mesmo sujeito, tendem a estar correlacionadas. Estas correlações, ao mesmo tempo que representam uma oportunidade de análise e interpretação estatística, impõem um desafio matemático. Tipicamente, o interesse científico nestas análises consiste em determinar o padrão de comportamento da variável ao longo do tempo e as possíveis implicações que fatores relacionados ao sujeito possam ter sobre este padrão de comportamento. Particularmente para a segunda situação, a dependência do tempo entre medições repetidas é um alvo de interesse para os pesquisadores. Por exemplo, a gravidade de doença respiratória, juntamente com o estado nutricional, idade, sexo e renda familiar de crianças são observados a cada 3 meses ao longo de um total de 18 meses. A dependência da variável resposta - gravidade da doença - das co-variáveis é o objeto de interesse (ZEGER et al., 1988).

Com uma única observação para cada sujeito, um modelo linear generalizado pode ser aplicado para obter a descrição das relações entre a variável-resposta e as co-variáveis. Com medições repetidas da variável-resposta, entretanto, a correlação entre as medições deve ser levada em consideração. Os modelos de análise multivariada tradicionais (i.e. "regressão logística") não são suficientes para descrever, ou avaliar, a inter-dependência das medições-resposta repetidas. LIANG e ZEGER (1986) propuseram um modelo de generalização

avaliatória que leva em consideração o tempo e as relações entre as medidas repetidas. Sumariamente, estes autores preconizaram que os resultados das medições de uma mesma característica para um mesmo sujeito, ao longo do tempo, tendem a depender entre si, e implementaram um modelo matemático para quantificar estas associações: *Generalized Estimating Equations (GEE)*.

Usando matrizes e cálculo vetorial, consideraram o conjunto das medidas repetidas como vetores, cuja direção e sentido é determinada justamente pelo padrão de resultados e inter-dependência das medições repetidas. Os efeitos das co-variáveis (as chamadas "variáveis independentes") são estimados pelas deformações que a inclusão de seus resultados impingem à direção e sentido dos vetores. Assim, através das GEE, tornou-se possível incorporar à análise multivariada tradicional capacidade de considerar relações entre mensurações repetidas para um mesmo sujeito, o que permitiu a análise temporal de comportamentos de variáveis-resposta. No caso de análises clínicas, a contribuição das GEE possibilitou a descrição de padrões de comportamento biológicos para eventos que ocorrem em intervalos de tempo que demandem mais de uma medição. Esta abordagem, portanto, é perfeita para as medidas repetidas do DNA-HPV numa mesma mulher, permitindo descrever o padrão de positividade para o vírus considerando várias medidas em conjunto, alinhadas no tempo.

9.4. ANEXO 4: DISTRIBUIÇÃO DAS MULHERES: VARIÁVEIS SÓCIO-DEMOGRÁFICAS E REPRODUTIVAS E DETECÇÃO INICIAL DO HPV

Na **tabela A4** se encontram os resultados da detecção inicial do DNA-HPV em função de variáveis sócio demográficas e reprodutivas. A idade das mulheres variou de 20 a 60 anos (média de 34 anos; dados não mostrados na tabela). A distribuição da detecção do DNA-HPV não mostrou associação com nenhuma das características sócio-demográficas e reprodutivas estudadas, como evidenciam os intervalos de confiança dos *odds ratios* calculados para cada uma delas.

Tabela A4: distribuição das mulheres segundo a detecção do DNA-HPV e as variáveis sócio demográficas e reprodutivas.

Variável	DNA-HPV inicial				OR	IC95%
	<1URL		≥1URL			
	N	(%)	N	(%)		
Idade						
< 40	6	(75)	68	(79)		
≥ 40	2	(25)	18	(21)	1,2	0,2 a 6,7
IAS						
≤ 17	8	(100)	51	(60)		
18 ou mais	0	0	34	(40)	n/a	
ACO						
Não	5	(62)	59	(79)		
Sim	3	(38)	27	(21)	0,7	0,2 a 4,1
Paridade						
≤ 2	6	(75)	44	(51)		
3 ou mais	2	(25)	42	(49)	2,8	0,6 a 14,9
Nº parceiros						
≤ 2	3	(37)	43	(50)		
3 ou mais	5	(63)	43	(50)	0,6	0,1 a 2,7
Tabagismo						
Não	3	(50)	55	(36)		
Sim	5	(50)	31	(64)	0,3	0,1 a 1,5

9.5. ANEXO 5: LISTAGEM DAS MULHERES INCLUÍDAS NA PESQUISA

Caso	Fumo	Idade (anos)	CH II pre conização	Data da conização	Histológico do cone	Margens endocervicais	1º retorno	CO 1º retorno	CHII 1º retorno	Colposcopia 1º retorno	Conduta	Histológico	Data 2º retorno	CO 2º retorno	CHII 2º retorno	Colposcopia 2º retorno	Conduta	Histológico
3	sim	40	998.35	14-Mar-01	3nic	Comprometidas	23-Aug-01	Ascus	0.11	normal	Seguimento	ausente	10-Jan-02	Ascus	0.31	normal	Seguimento	Ausente
9	sim	56	388.37	29-Mar-01	3nic	Livres	16-Aug-01	Normal	0.1	ins	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.29	normal	Seguimento	ausente
11	sim	42	473.43	14-Mar-01	3nic	Livres	16-Aug-01	Normal	0.1	normal	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.26	normal	Seguimento	ausente
15	sim	35	0.22	4/19/01	3nic	Livres	9/13/01	Ascus	0.23	normal	Seguimento	ausente						
16	nao	26	2098	3/28/01	3nic	Livres	8/16/01	Normal	0.67	normal	Seguimento	ausente						
17	nao	26	5.65	19-Apr-01	3nic	Livres	23-Aug-01	Normal	0.16	normal	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.37	normal	Seguimento	ausente
20	nao	47	319.12	28-Mar-01	3nic	Comprometidas	16-Aug-01	Normal	0.11	normal	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.39	ins	Seguimento	ausente
21	sim	40	1340.73	26-Apr-01	3nic	Livres	30-Aug-01	2nic	265.84	normal	Cone com alça	3nic	11-Apr-02	Normal	23.45	normal	Seguimento	ausente
22	nao	31	494.17	19-Apr-01	3nic	Comprometidas	30-Aug-01	Normal	0.25	pontilhado	Seguimento	ausente	13-Dec-01	Normal	0.37	normal	seguimento	ausente
28	nao	29	1026.12	4-Apr-01	3nic	Livres	16-Aug-01	Normal	0.06	normal	Seguimento	ausente	5-Sep-02	Normal	0.39	normal	Seguimento	ausente
29	sim	34	312.89	4-Apr-01	3nic	Livres							25-Oct-01	Normal	0.14	normal	Seguimento	ausente
31	sim	48	87.6	10-May-01	3nic	Comprometidas	30-Aug-01	Normal	0.55	normal	Seguimento	ausente	27-Mar-02	Normal	15.56	normal	Seguimento	ausente
34	nao	32	136.52	19-Apr-01	3nic	Livres	30-Aug-01	Normal	0.1	normal	Seguimento	ausente	25-Apr-02	Normal	0.38	normal	Seguimento	ausente
35	nao	34	10.48	25-Apr-01	3nic	Livres	11-Oct-01	2nic	0.12	normal	Seguimento	ausente	21-Feb-02	Normal	0.32	normal	Seguimento	ausente
36	nao	30	149.69	11-Apr-01	3nic	Livres	27-Sep-01	Normal	0.16	normal	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.27	normal	Seguimento	ausente
39	sim	32	232.57	11-Apr-01	3nic	Livres	23-Aug-01	3nic	0.1	normal	Cone com alça	normal	14-Mar-02	Normal	0.55	normal	Seguimento	ausente
41	nao	43	707.12	26-Apr-01	3nic	Comprometidas	13-Sep-01	3nic	38.73	normal	HTA	3NIC						
43	nao	33	2292.67	26-Apr-01	3nic	Comprometidas	16-Aug-01	2nic	9.93	normal	Seguimento	ausente	9-Apr-02	Normal	8.8	normal	Seguimento	ausente
45	sim	38	12.07	9-May-01	3nic	Livres	20-Sep-01	3nic	36.87	eab	biopsia	normal	25-Apr-02	Normal	0.83	ins	Seguimento	ausente
46	nao	38	315.86	17-May-01	3nic	Comprometidas	20-Sep-01	Normal	0.13	normal	Seguimento	ausente	25-Apr-02	Normal	0.36	normal	Seguimento	ausente
48	nao	48	59.67	17-May-01	3nic	Comprometidas	13-Sep-01	Microinvasivo	5.99	eab	Cone com alça	3NIC	21-Feb-02	Invasivo	15.13	eab	HTA	3nic

Caso	Fumo	Idade (anos)	CH II pre conização	Data da conização	Histológico do cone	Margens endocervicais	1º retorno	CO 1º retorno	CHII 1º retorno	Colposcopia 1º retorno	Conduta	Histológico	Data 2º retorno	CO 2º retorno	CHII 2º retorno	Colposcopia 2º retorno	Conduta	Histológico
49	nao	38	1778.95	10-May-01	2nic	Livres	20-Sep-01	Normal	0.3	normal	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.39	normal	Seguimento	ausente
50	nao	34	1.17	7-May-01	3nic	Livres	5-Sep-01	Normal	0.12	normal	Seguimento	ausente	11-Apr-02	Normal	0.53	normal	Seguimento	ausente
51	nao	32	1606	5/7/01	3nic	Livres	9/24/01	Ascus	0.12	eab	biopsia	normal						
52	nao	29	25	5/2/01	3nic	Comprometidas	10/4/01	Ascus	0.49	normal	Seguimento	ausente						
54	sim	31	855	5/7/01	3nic	Livres	9/17/01	Normal	0.22	normal	Seguimento	ausente						
56	sim	43	0.21	23-May-01	2nic	Livres	20-Sep-01	Normal	0.25	ins	Seguimento	ausente	10-Jan-02	Normal	0.36	ins	Seguimento	ausente
58	sim	40	1275	6/13/01	3nic	Comprometidas	10/30/01	Normal	0.32	normal	Seguimento	ausente						
59	nao	29	1729.67	30-May-01	2nic	Livres	27-Sep-01	Normal	0.31	normal	Seguimento	ausente	24-Apr-02	Normal	0.34	normal	Seguimento	ausente
62	nao	37	15.39	21-Jun-01	3nic	Livres	25-Oct-01	Normal	0.15	pontilhado	biopsia	1NIC	25-Apr-02	Normal	0.35	normal	Seguimento	ausente
65	nao	51	7.88	24-May-01	3nic	Livres	20-Sep-01	Normal	0.09	normal	Seguimento	ausente	6-Jun-02	Normal	0.38	normal	Seguimento	ausente
67	nao	33	165.84	20-Jun-01	3nic	Livres							25-Apr-02	Normal	0.28	ins	Seguimento	ausente
68	sim	31	8	31-may-01	3nic	Livres	9/27/01	Normal	0.34	normal	Seguimento	ausente						
70	nao	28	31.4	28-Jun-01	3nic	Livres	25-Oct-01	Normal	0.12	pontilhado	Seguimento	ausente						
77	sim	37	957.56	19-Jul-01	3nic	Comprometidas	11-Oct-01	Ascus	0.3	normal	Seguimento	ausente	16-May-02	Normal	0.43	normal	seguimento	ausente
79	nao	27	13.94	16-Aug-01	2nic	Livres	13-Dec-01	Normal	32.54	normal	Seguimento	ausente	17-Oct-02	Normal	0.34	normal	Seguimento	ausente
82	nao	49	7.93	19-Jul-01	3nic	Comprometidas	24-Jan-02	Normal	0.48	ins	Seguimento	ausente	25-Apr-02	Normal	0.88	normal	Seguimento	ausente
83	sim	49	633.58	6-Jun-01	3nic	Livres	26-Sep-01	3nic	6.77	normal	HTA	3nic						
84	nao	32	3.87	13-Jun-01	2nic	Livres	13-Dec-01	Ascus	0.35	normal	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.29	normal	Seguimento	ausente
85	sim	36	334.24	6-Jun-01	3nic	Comprometidas	4-Oct-01	3nic	1265.75	normal	Cone com alça	3NIC	25-Apr-02	Normal	1079.52	normal	Seguimento	ausente
87	sim	33	154.85	5-Jul-01	3nic	Livres	25-Oct-01	Normal	0.1	normal	Seguimento	ausente	21-Feb-02	Normal	0.33	normal	Seguimento	ausente
88	nao	36	2	4-jul01	3nic	Livres	11/20/01	Normal	0.22	normal	Seguimento	ausente						
90	nao	37	6	28-jul-01	3nic	Comprometidas	10/25/01	Normal	2	normal	Seguimento	ausente						
93	nao	27	11.28	27-Jun-01	3nic	Livres	25-Oct-01	Normal	0.15	normal	Seguimento	ausente	21-Mar-02	Normal	0.38	normal	Seguimento	ausente
94	nao	29	0.41	5-Jul-01	3nic	Livres	29-Nov-01	Normal	0.11	normal	Seguimento	ausente	11-Apr-02	Normal	0.36	normal	Seguimento	ausente
96	nao	28	363.02	19-Jul-01	3nic	Comprometidas							16-May-02	Normal	0.44	normal	Seguimento	ausente

Caso	Fumo	Idade (anos)	CH II pre conização	Data da conização	Histológico do cone	Margens endocervicais	1º retorno	CO 1º retorno	CHII 1º retorno	Colposcopia 1º retorno	Conduta	Histológico	Data 2º retorno	CO 2º retorno	CHII 2º retorno	Colposcopia 2º retorno	Conduta	Histológico
101	sim	27	167.22	19-Jul-01	3nic	Livres	24-Jan-02	2nic	0.42	normal	Seguimento	ausente	25-Apr-02	Normal	0.38	normal	Seguimento	ausente
105	nao	25	109.84	2-Aug-01	2nic	Livres	13-Dec-01	Normal	0.21	normal	Seguimento	ausente						
109	nao	34	17.32	16-Aug-01	3nic	Livres	13-Dec-01	Normal	0.39	normal	Seguimento	ausente	11-Apr-02	Normal	0.47	normal	Seguimento	ausente
110	sim	34	0.54	25-Jun-01	2nic	Comprometidas							21-Feb-02	Normal	0.3	normal	Seguimento	ausente
115	nao	45	506.69	20-Sep-01	3nic	Comprometidas							16-May-02	normal	31.68	normal	Seguimento	ausente
116	nao	31	707	10-jan02	3nic	Livres	5/16/02	Normal	21	normal	Seguimento	ausente						
120	sim	38	128.68	6-Sep-01	3nic	Comprometidas	10-Jan-02	Normal	0.44	normal	seguimento	ausente	6-Jun-02	Ascus	0.45	normal	Seguimento	ausente
121	sim	32	1156	20-sept-01	2nic	Livres	1/10/02	Normal	0.45	normal	Seguimento	ausente						
127	nao	30	8.3	25-Jun-01	3nic	Livres							16-May-02	Normal	0.42	normal	Seguimento	ausente
129	nao	50	9.5	13-Aug-01	3nic	Comprometidas	10-Jan-02	Normal	0.38	normal	Seguimento	ausente	17-Oct-02	Normal	0.48	normal	Seguimento	ausente
130	nao	37	2.82	2-Sep-01	3nic	Livres							25-Apr-02	Normal	0.39	normal	Seguimento	ausente
131	sim	26	1769.12	4-Oct-01	3nic	Livres							8-Aug-02	Normal	8.59	normal	Seguimento	ausente
133	nao	28	1472.25	18-Oct-01	3nic	Livres	21-Feb-02	Normal	0.36	normal	Seguimento	ausente	8-Aug-02	Normal	0.32	normal	Seguimento	ausente
136	nao	42	0.12	11-Oct-01	2nic	Livres	25-Apr-02	Normal	0.35	normal	Seguimento	ausente	17-Oct-02	Normal	0.32	normal	Seguimento	ausente
137	sim	30	184.82	11-Oct-01	3nic	Livres	25-Apr-02	3nic	1041.71	normal	Seguimento	ausente	5-Sep-02	3nic	549.57	normal	prenatal	ausente
139	nao	22	0.13	18-Jun-01	3nic	Livres	18-Oct-01	Normal	0.25	normal	Seguimento	ausente	8-Aug-02	Normal	0.22	normal	Seguimento	ausente
140	sim	39	36.01	12-Nov-01	2nic	Livres							8-Aug-02	Normal	97.21	normal	Seguimento	ausente
142	nao	47	539.73	10-Jan-02	3nic	Livres	25-Apr-02	Normal	0.33	normal	Seguimento	ausente	23-Jan-03	normal	0.34	normal	Seguimento	ausente
143	sim	46	7.37	19-Nov-01	3nic	Livres	14-Mar-02	3nic	6.12	normal	Cone com alça	3nic	31-Oct-02	Normal	7.87	normal	Seguimento	ausente
148	nao	27	1930	4/11/02	2nic	Livres	8/8/02	Normal	0.89	eab	Seguimento	ausente						
155	sim	45	1	5/16/02	3nic	Livres	11/21/02	Normal	0.22	normal	Seguimento	ausente						
158	nao	34	172.75	16-May-02	3nic	Comprometidas	5-Sep-02	Ascus	0.37	normal	Seguimento	ausente	5-Jun-03	Normal	0.38	normal	Seguimento	ausente
159	sim	40	444.66	6-Jun-02	3nic	Comprometidas							12-Jun-03	3nic	80.74	normal	Novo cone com alça - indicado HTA	microinvasivo
160	sim	46	599.94	6-Jun-02	3nic	Comprometidas	5-Sep-02	3nic	37.69	normal	Cone com alça	3NIC						

Caso	Fumo	Idade (anos)	CH II pre conização	Data da conização	Histológico do cone	Margens endocervicais	1º retorno	CO 1º retorno	CHII 1º retorno	Colposcopia 1º retorno	Conduta	Histológico	Data 2º retorno	CO 2º retorno	CHII 2º retorno	Colposcopia 2º retorno	Conduta	Histológico
164	sim	46	105.59	16-May-02	3nic	Livres	5-Sep-02	Normal	0.32	normal	Seguimento	ausente	15-May-03	Normal	1.04	ins	Seguimento	ausente
165	sim	26	415.45	6-Jun-02	3nic	Comprometidas	5-Sep-02	Ascus	0.33	normal	Seguimento	ausente	9-Jan-03	normal	3.28	normal	Seguimento	ausente
166	nao	26	78.78	16-May-02	2nic	Livres	5-Sep-02	Normal	0.35	normal	Seguimento	ausente	15-May-03	Normal	0.72	eab	biopsia - grávida	2nic
167	nao	27	664.72	16-May-02	3nic	Livres	12-Sep-02	Normal	4.31	normal	Seguimento	ausente	15-May-03	Normal	3.44	normal	Seguimento	ausente
169	sim	36	48.96	11-Jul-02	3nic	Livres	16-Jan-03	normal	0.46	normal	Seguimento	ausente	10-Jul-03	Normal	1.19	ins	seguimento	ausente
173	sim	42	570.92	15-Apr-02	3nic	Livres							3-Jul-03	normal	0.35	seguimento	ausente	
174	nao	36	32.9	6-Jun-02	3nic	Comprometidas	5-Sep-02	Normal	0.3	normal	Seguimento	ausente	5-Jun-03	Normal	0.33	ins	Seguimento	ausente
176	sim	36	84.44	6-Jun-02	3nic	Livres	5-Sep-02	Normal	0.33	normal	Seguimento	ausente	5-Jun-03	Normal	0.35	normal	Seguimento	ausente
181	nao	39	50.12	11-Jul-02	3nic	Livres	16-Jan-03	Normal	0.26	normal	Seguimento	ausente	10-Jul-03	Normal	0.33	normal	Seguimento	ausente
181	nao	39	50	7/11/02	3nic	Livres	1/16/03	Normal	0.45	normal	Seguimento	ausente	10-jul-03	Normal	0.12	normal	Seguimento	ausente
182	nao	27	59.18	12-Aug-02	3nic	Livres	6-Feb-03	Normal	0.41	normal	Seguimento	ausente	14-Aug-03	Normal	0.26	normal	Seguimento	ausente
182	nao	27	59	8/12/02	3nic	Livres	2/6/03	Normal	0.33	normal	Seguimento	ausente	14-aug-03	Normal	0.55	normal	Seguimento	ausente
184	sim	27	0.56	28-Jun-02	3nic	Livres	9-Jan-03	Normal	0.46	normal	Seguimento	ausente	26-Jun-03	Normal	0.27	normal	seguimento	ausente
184	sim	27	0.56	7/28/02	3nic	Livres	1- sept -03	Normal	0.21	normal	Seguimento	ausente	26-jun-03	Normal	0.89	normal	Seguimento	ausente
186	sim	28	234.12	20-Jun-02	3nic	Livres	5-Dec-02	Normal	0.31	normal	Seguimento	ausente	12-Jun-03	Normal	0.27	normal	Seguimento	ausente
189	nao	38	1581.91	11-Jul-02	3nic	Livres	16-Jan-03	normal	640.6	ins	Seguimento	ausente	3-Jul-03	3nic	358.9	ins	Novo cone com alça	2nic
193	nao	37	1576.54	12-Aug-02	3nic	Livres							28-Aug-03	Normal	0.4	eab	biopsia	1nic
194	nao	38	196.69	19-Aug-02	3nic	Comprometidas	20-Feb-03	normal	0.45	normal	seguimento	ausente	14-Aug-03	Normal	0.74	normal	Seguimento	ausente
195	nao	29	4.31	5-Sep-02	3nic	Livres	6-Mar-03	normal	0.78	normal	seguimento	ausente	11-Sep-03	Normal	0.56	normal	Seguimento	ausente
196	nao	35	144.23	20-Jun-02	3nic	Comprometidas	5-Dec-02	Normal	11.6	normal	Seguimento	ausente	12-Jun-03	Normal	0.24	normal	seguimento	ausente
197	nao	20	1.46	26-Aug-02	3nic	Livres	27-Feb-03	normal	0.33	normal	Seguimento	ausente	28-Aug-03	Normal	0.44	normal	Seguimento	ausente
214	nao	32	23.56	23-Sep-02	3nic	Livres	27-Mar-03	Normal	0.78	normal	Seguimento	ausente	18-Sep-03	Normal	0.36	normal	Seguimento	ausente
217	nao	38	139.04	16-Sep-02	3nic	Livres							8-May-03	Normal	0.48	normal	seguimento	ausente
218	nao	60	206.15	16-Sep-02	3nic	Comprometidas	13-Mar-03	Normal	0.26	ins	seguimento	ausente	18-Sep-03	Normal	0.51	ins	Seguimento	ausente