

INFLUÊNCIA DA INFECÇÃO PELO HIV-1 SOBRE A PRESENÇA DO HPV EM LESÕES DO COLO UTERINO

INFLUENCE OF HIV-1 INFECTION ON THE PRESENCE OF HPV IN UTERINE CERVIX LESIONS

Ana Paula M Fernandes¹, Maria Alice G Gonçalves², Renata T Simões²,
Silvana Maria Quintana³, Geraldo Duarte⁴, Eduardo A Donadi⁵

RESUMO

Introdução: a infecção pelos tipos oncogênicos do papilomavírus humano (HPV), como os tipos 16 e 18, constitui importante fator de risco para o desenvolvimento do câncer do colo uterino. Em mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), tem sido demonstrado o aumento na prevalência e persistência da infecção pelos HPV16 e HPV18, justificando o aumento da susceptibilidade destas mulheres para o desenvolvimento das neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC), lesões precursoras do câncer do colo uterino. **Objetivos:** analisar a influência da infecção pelo HIV-1 sobre a presença do HPV16 e HPV18 em mulheres apresentando NIC. **Métodos:** biópsias cervicais de 42 mulheres apresentando NIC, infectadas ou não pelo HIV-1, foram utilizadas para a identificação da presença e tipificação do HPV a partir da reação em cadeia da polimerase. Para análises estatísticas foi utilizado o teste exato de Fisher. **Resultados:** todas as pacientes apresentaram infecção ativa pelo HPV, sendo o HPV16 o tipo mais frequentemente detectado, seguido pelo HPV18 e outros tipos. Pacientes portadoras do HIV-1, apresentando redução do número de linfócitos T-CD4+, apresentaram infecção aumentada de HPV oncogênicos ($p = 0,04$), com predomínio do HPV16 ($p = 0,01$). **Conclusão:** presença de infecção ativa por HPV oncogênico parece ser importante fator etiopatogênico para a instalação das NIC, principalmente entre as mulheres infectadas com o HIV-1 e imunocomprometidas, apresentando baixo número de linfócitos T-CD4+.

Palavras-chave: HPV, lesões cervicais, HIV, NIC

ABSTRACT

Introduction: the infection with oncogenic human papillomavirus (HPV), including HPV16 and HPV18, is considered to be the major risk factor for cervical cancer development. Among HIV-positive women, studies have reported an increased prevalence and persistence of HPV16 and HPV18 explaining, in part, the increased susceptibility for squamous intraepithelial lesion (SIL) development, which is a precursor lesion of the cervical cancer. **Objective:** to analyse the influence of HIV-1 infection towards HPV 16 and HPV18 infection presence in women presenting SIL. **Methods:** cervical biopsies from 42 women presenting with SIL, with or without HIV-1 infection were studied for the presence and HPV typing, using the polymerase chain reaction. Statistical analysis was performed using Fisher's exact test. **Results:** all patients (100%) presented with active HPV infection. HPV16 was the type more frequently detected, followed by HPV18 and other HPV types. Patients presenting with HIV-1 infection together with decreased CD4+ cell counts showed increased oncogenic HPV infection ($p = 0.04$), and HPV16 was the predominant type ($p = 0.01$). **Conclusion:** the presence of active oncogenic HPV infection may be an important factor contributing to SIL installation; primarily among immunocompromised HIV-1 positive women exhibiting lower CD4+ cell counts.

Keywords: HPV, cervical lesions, HIV, SIL, CIN

ISSN: 0103-4065

DST – J bras Doenças Sex Transm 16(1):21-25, 2004

INTRODUÇÃO

Atualmente tem sido amplamente descrito que as neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC) são lesões precursoras do câncer do colo uterino, e uma das principais causas de morte femi-

nina em países não-industrializados¹⁻³. Anatomopatologicamente, as NIC são caracterizadas por diversos graus de anormalidades na diferenciação e maturação celular do epitélio cervical. Relativo à sua classificação, as NIC podem ser divididas em NIC I, NIC II e NIC III. Como NIC-I, entende-se que as alterações celulares restringem-se ao terço inferior do epitélio cervical (chamada também de lesão cervical de baixo grau). Na NIC-II, as alterações chegam até o terço médio do epitélio cervical. Na NIC III, verifica-se que as alterações celulares ocupam o terço superior do epitélio cervical. As lesões compatíveis com NIC II e NIC III são também denominadas de lesões de alto grau⁴.

Estudos epidemiológicos e moleculares têm confirmado que a presença de infecção cervical por alguns tipos de papilomavírus humano (HPV) seja o fator precursor na patogênese do câncer cervical⁵⁻⁷.

¹Profª Doutora do Departamento de Enfermagem Geral e Especializada, Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto-USP

²Pós-Doutoranda do Departamento de Clínica Médica, Divisão de Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP

³Médica Assistente do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP

⁴Prof Titular do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP

⁵Prof. Associado do Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP

Fonte financiadora: FAPESP (97/04490-8 e 01/02908-2)

De acordo com o potencial oncogênico, os HPV podem ser classificados em HPV de baixo ou alto risco⁸. Os HPV de alto risco, a exemplo dos tipos 16 e 18, são detectados em cerca de 50-80% das lesões de alto grau (NIC-II e NIC-III), e em cerca de 99,7% dos casos de câncer invasivo do colo uterino⁹⁻¹¹.

Em mulheres portadoras do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), a concomitância de infecção pelo HPV e NIC é maior do que na população geral, apresentando risco relativo de 6,6 vezes^{12,13}. Aproximadamente 50% das mulheres com a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) possuem citologia cervical anormal com suspeita de NIC¹⁴, demonstrando que a imunodeficiência, em especial a redução do número de linfócitos T-CD4+, está associada a maior prevalência e persistência da infecção por HPV e NIC¹⁵.

A prevalência dos tipos oncogênicos de HPV entre mulheres portadoras da infecção pelo HIV varia de acordo com a população estudada, grau de imunocomprometimento e técnicas de detecção viral, sendo constatadas prevalências que variam de 33%¹², 82%¹⁴ e 93%¹⁶. De forma geral aceita-se que a imunodeficiência celular desempenha papel importante na permissividade e persistência da infecção ativa por HPV oncogênico e a instalação da NIC.

Face ao conhecimento acumulado na literatura sobre a associação entre infecção por tipos oncogênicos do HPV, infecção pelo HIV-1 e presença de NIC, este estudo teve como objetivo avaliar a influência da infecção pelo HIV-1 sobre a presença do HPV em mulheres portadoras de NIC.

MÉTODOS

Pacientes

Neste estudo foram avaliadas 42 mulheres com idades variando entre 16 a 46 anos, apresentando diferentes graus de NIC. Destas mulheres, 20 (47,6%) eram portadoras do HIV-1. As pacientes foram arroladas no Setor de Moléstias Infecto-Contagiosas em Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRPUSP).

Aspectos éticos

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMRPUSP, sob o número 6597/2001. Participaram apenas aquelas pacientes que concordaram em participar do estudo após serem informadas dos objetivos da pesquisa, com a garantia de anonimato, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido.

Coleta das amostras

Os fragmentos cervicais foram obtidos a partir de biópsias cervicais, colposcopicamente dirigidas, de pacientes com indicação clínica deste procedimento para complementação diagnóstica. Estas amostras foram imediatamente imersas em nitrogênio

líquido e mantidas a -70°C até serem processadas. O DNA genômico extraído foi usado para a detecção da infecção e tipificação do HPV¹⁷.

Extração de DNA

A extração do DNA viral das amostras cervicais foi realizada utilizando Trizol® (Gibco, MD, Estados Unidos), de acordo com as instruções do fabricante.

Tipificação e detecção do HPV

O DNA genômico foi amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando 12,5 pM de cada dNTP, 25 pM de cada iniciador, 1,5 U de DNA Taq polimerase (BioTools-Spain), 5 µL de 10X tampão de enzima, 20 µg de DNA genômico e H₂O destilada deionizada até completar o volume total de 25 µL. A mistura foi processada em termociclador (MJ Research, MA, USA) nas seguintes condições de ciclagem: 1 ciclo a 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 1 min seguido de 55°C por 40 seg e 72°C por 40 seg, uma extensão de 72°C por 10 min e, finalmente, 4°C indefinidamente.

Foram utilizados diferentes pares de iniciadores. Os iniciadores GP5 e GP6¹⁸ (que amplificam pequenos fragmentos de DNA) e os iniciadores MY09 e MY11¹⁹ (que amplificam fragmentos maiores de DNA) foram utilizados para a amplificação e detecção genérica do HPV. Sendo HPV16 e HPV18 os tipos mais frequentemente associados às NIC, a detecção foi baseada neles. Assim, os iniciadores HPV16E7.667/ HPV16E7.774, específicos para o HPV16, e os HPV18E7.696/ HPV18E7.799²⁰, específicos para o HPV18, também foram utilizados.

Os fragmentos de DNA amplificados foram aplicados em gel de poli-acrilamida a 10%, submetidos à eletroforese a 200 mA por 2 horas e marcados com AgNO₃²¹.

Análise estatística

Para a avaliação estatística utilizou-se o teste exato de Fisher, considerando significantes as diferenças cujo $p < 0,05$.

RESULTADOS

Presença da infecção pelo HPV

A idade das 42 mulheres participantes deste estudo variou entre 16 e 46 anos (mediana = 27 anos). Destas mulheres, 20 eram portadoras do HIV-1. Na **Tabela 1** pode ser verificada a distribuição destas pacientes de acordo com a infecção pelo HIV-1 e o grau de NIC. De acordo com a classificação do *Centers for Disease Control and Prevention*²², sete das 20 pacientes portadoras do HIV-1 (35,0%) eram assintomáticas e 13/20 (65,0%) estavam recebendo terapia anti-retroviral altamente potente no momento do estudo. A distribuição do número de linfócitos T-

Tabela 1 - Caracterização das pacientes estratificadas de acordo com status da infecção pelo HIV-1 e estadiamento das lesões cervicais

Status HIV-1	Estadiamento das lesões cervicais			Total n (%)
	NIC-I n (%)	NIC-II n (%)	NIC-III n (%)	
Infectadas	10 (50,0%)	2 (10,0%)	8 (40,0%)	20 (100,0%)
Não-infectadas	12 (54,0%)	3 (14,0%)	7 (32,0%)	22 (100,0%)
Total	22 (52,4%)	5 (11,9%)	15 (35,7%)	42 (100,0%)

Tabela 2 - Caracterização das pacientes portadoras da infecção pelo HIV-1 estratificadas de acordo com a gravidade das lesões cervicais (classificação de Bethesda), segundo o número de linfócitos T-CD4+

Número de linfócitos T-CD4+	Gravidade das lesões cervicais segundo Bethesda		
	Lesão de baixo grau (NIC-I) n (%)	Lesão de alto grau (NIC-II/III) n (%)	Total n (%)
Abaixo de 300 células/mL	2 (28,6%)	5 (71,4%)	7 (100,0%)
Acima de 300 células/mL	8 (61,5%)	5 (38,5%)	13 (100,0%)
Total	10 (50,0%)	10 (50,0%)	20 (100,0%)

CD4+ e a gravidade das NIC nessas pacientes pode ser verificada na **Tabela 2**.

De maneira geral, todas as pacientes, 42/42 (100%), apresentavam infecção pelo HPV, detectada pela presença do DNA viral nas lesões intra-epiteliais cervicais, sendo que 21/42 (50%) dessas portavam o HPV16, 7/42 (16,6%) o HPV18, 5/42 (11,9%) ambos HPV16 e HPV18. Outros tipos de HPV foram encontrados em 9/42 (21,5%) das pacientes.

Estratificadas de acordo com a infecção pelo HIV-1, entre as portadoras verificou-se que 10/20 (50%) delas apresentavam HPV16, 1/20 (5%) HPV18, 2/20 (10%) ambos HPV16 e HPV18, e 7/20 (35%) outros tipos de HPV. Entre as pacientes negativas para a infecção pelo HIV-1, 11/22 (50%) apresentavam HPV16, 6/22 (27,3%) HPV18, 3/22 (13,6%) ambos HPV16 e HPV18, e 2/22 (9,1%) outros tipos de HPV.

Os tipos oncogênicos do HPV (HPV16 e HPV18) foram encontrados na maioria das lesões cervicais (78,5%). De maneira similar e independentemente do status HIV-1, a presença de

infecção por HPV oncogênico mostrou-se aumentada em comparação com outros tipos virais ($p = 0,06$), visto que 90,9% das mulheres sem a infecção pelo HIV-1 e 65% das portadoras do HIV-1, apresentaram a presença do DNA viral dos HPV16 e/ou HPV18. Por outro lado, foi observada a presença reduzida da infecção pelo HPV18 entre as pacientes portadoras ou não do HIV-1 ($p = 0,09$). A **Tabela 3** ilustra estes resultados.

No grupo de mulheres portadoras do HIV-1, quando a presença da infecção por diferentes tipos de HPV e o número de linfócitos T-CD4+ foram avaliados, pacientes com menos de 300cél/mL apresentavam infecção significativamente aumentada pelo HPV16 quando comparada às pacientes com maior número de linfócitos T-CD4+ ($p = 0,01$). Do mesmo modo, a infecção por HPV oncogênicos também estava aumentada ($p = 0,04$). A **Tabela 4** mostra estes resultados.

Não foram observadas diferenças significativas na presença da infecção pelos diferentes tipos de HPV quando a gravidade da NIC foi avaliada.

Tabela 3 - Frequência dos tipos de HPV detectados em biópsias do colo uterino de pacientes estratificadas de acordo com status da infecção pelo HIV-1

Status HIV-1	HPV 16 n (%)	HPV 18 n (%)	HPV 16/18 n (%)	Outros tipos n (%)	Total n (%)
Infectadas	10 (50,0%)	1 (5,0%)	2 (10,0%)	7 (35,0%)	20 (100,0%)
Não-infectadas	11 (50,0%)	6 (27,3%)	3 (13,6%)	2 (9,1%)	22 (100,0%)
Total	21 (50,0%)	7 (16,7%)	5 (11,9%)	9 (21,4%)	42 (100,0%)

Tabela 4 – Frequência dos tipos de HPV detectados em biópsias do colo uterino de pacientes infectadas pelo HIV-1, estratificadas de acordo com o número de linfócitos T-CD4+

Número de linfócitos T-CD4+	Oncogênicos n (%)	Outros tipos n (%)	Total n (%)
Acima de 300 cél/mL	7 (53,8%)	6 (46,2%)	13 (100,0%)
Abaixo de 300 cél/mL	0 (0,0%)	7 (100,0%)	7 (100,0%)
		p = 0,04*	
Total	7 (35,0%)	13 (65,0%)	20 (100,0%)

*Teste exato de Fisher

DISCUSSÃO

Embora a infecção pelo HPV possa ser detectada pela citologia genital tríplice (exame preventivo do câncer do colo uterino) e/ou pelo anatomopatológico (mediante biópsia cervical colposcopicamente dirigida), freqüentemente, isto não é possível. No entanto, a presença do HPV pode ser confirmada com alto grau de precisão pela identificação do genoma viral nas lesões cervicais²³.

Sendo a infecção pelo HPV um fator precursor para o desenvolvimento do câncer cervical, a detecção do genoma viral pode ser utilizada como estratégia de vigilância para identificar mulheres portadoras de tipos oncogênicos de HPV, suscetíveis a instalação e progressão das lesões cervicais. Se por um lado tem sido referido que a citologia tríplice possa ser utilizada, exclusivamente, com sucesso nos programas de prevenção do câncer do colo uterino, por outro lado, estudos recentes apontam que a detecção de infecção ativa e tipificação do HPV, juntamente com a citologia tríplice, pode ser utilizada como prevenção secundária, ainda que apresentando alto custo, mostrando-se como estratégia interessante para reduzir a morbimortalidade do câncer cervical²⁴⁻²⁶ em países não industrializados, que ainda apresentam limitações importantes nas avaliações citológicas como resultados falso-negativos advindos de erros na coleta, preparação e leitura das amostras citológicas²⁷. Limitações da citologia convencional, em especial, na amostragem celular, são importantes, pois somente 10% a 20% das células colhidas são colocadas na lâmina. Além disso, há grande dificuldade na apropriada observação celular obtida a partir de esfregaços irregulares (extensão e distribuição do material), espessos, purulentos, com intensa citólise e hemorrágicos. Dessa maneira, os resultados falso-negativos devem ser considerados, apresentando taxa de ocorrência em 5% a 30% na rotina laboratorial, dos quais, aproximadamente, 1 a 3 lâminas são consideradas negativas por interpretação incorreta, enquanto 2 a 3 lâminas tiveram coleta e processamento do material celular impróprios.

Adicionalmente, estudo recente, confrontando resultados de amostras citopatológicas com os obtidos através da reação em cadeia da polimerase (PCR), mostrou a presença do genoma do HPV em amostras que citopatologicamente não detectaram a positividade para esta infecção, sugerindo que análises citopatológicas podem não ser suficientes para identificar a presença da infecção pelo HPV, visto que a infecção pelo HPV é um fenômeno progressivo e, dependendo do tempo de infecção, sua presença ainda não foi capaz de causar alterações celulares detectáveis pelos métodos citopatológicos e anatomopatológicos convencionais²³.

DST – J bras Doenças Sex Transm 16(1): 21-25, 2004

Na presente casuística, a alta freqüência da infecção ativa por HPV oncogênicos, encontrada intralesionalmente, corrobora achados anteriores¹¹ e confirma que a presença e persistência/atividade desta infecção possam estar associadas à instalação das lesões cervicais.

Neste estudo, a distribuição da freqüência dos HPV, sendo o HPV16 o tipo mais freqüente seguido pelo HPV18, confirma dados anteriores realizados na região sudeste brasileira²⁸.

A infecção por HPV oncogênico foi detectada em 90,9% das pacientes não portadoras da infecção pelo HIV-1 e, em contrapartida, a presença deste tipo de HPV foi observada em 65% das pacientes portadoras da infecção pelo HIV-1. Este achado difere da maioria dos estudos avaliando a presença da infecção por HPV em mulheres infectadas pelo HIV¹²⁻¹⁶. Sobre a interpretação destes dados deve ser considerada a limitação da amostra avaliada (erro tipo II) ou o fato de que a grande maioria dessas pacientes estava sob terapia anti-retroviral altamente potente.

Avaliando-se a associação do imunocomprometimento entre as mulheres portadoras do HIV-1 (contagem de linfócitos T-CD4+ inferior a 300 cél/mL) com a detecção de genoma de HPV oncogênicos (HPV16 e/ou HPV18), verificou-se que entre as pacientes imunocomprometidas a presença destes tipos virais foi significativamente maior em comparação a mulheres com mais de 300 cél/mL. Estes achados suportam que o imunocomprometimento é um fator permissivo para a infecção e a persistência da infecção ativa por HPV oncogênico e instalação das lesões cervicais¹³, mesmo em pacientes que utilizam a terapia anti-retroviral altamente potente, como no caso da presente casuística.

CONCLUSÃO

O presente estudo conclui que o imunocomprometimento da infecção HIV-1 influencia diretamente na presença dos tipos oncogênicos do HPV em lesões precursoras do câncer do colo uterino. Sugere também a alternativa de utilizar técnicas de biologia molecular para a identificação e tipificação dos tipos oncogênicos do HPV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PARKIN D.M., PISANI P., FERLAY J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 49(1):33-64, 1999.
2. PISANI P., BRAY F., PARKIN D.M. Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *Int J Cancer*, 97(1):72-81, 2002.

3. CLIFFORD G.M., SMITH J.S., PLUMMER M., MUNOZ N., FRANCESCHI S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*, 88(1):63-73, 2003.
4. DE PALO, G., VECCHIONE, A. Neoplasia intra-epitelial do colo uterino. In: DE PALO, G. Colposcopia e patologia do trato genital inferior. Rio de Janeiro, Ed. Medsi, 1996.
5. FRANCO, E.L. Cancer causes revisited: human papillomavirus and cervical neoplasia. *Natl Cancer Inst*, 87:779-780, 1995.
6. ZUR HAUSEN, H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J. Cancer Res. Clin Oncol*, 122:3-13, 1996.
7. ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst*, 92(9): 690-698, 2000.
8. ZUR HAUSEN, H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*, 2(5): 342-350, 2002.
9. VILLA, L.L. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Adv Cancer Res*, 71:321-341, 1997.
10. AL-SALEH, W., GIANNINI S.L., JACOBS N., et al. Correlation of T-helper secretory differentiation and types of antigen-presenting cells in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *J Pathol*, 184(3): 283-290, 1998.
11. WALBOOMERS J.M., JACOBS M.V., MANOS M.M. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*, 189(1):12-9, 1999.
12. MINKOFF H., FELDMAN J., DEHOVITZ J., LANDESMAN S., BURK R. A longitudinal study of human papillomavirus carriage in human immunodeficiency virus-infected and human immunodeficiency virus-uninfected women. *Am J Obstet Gynecol*, 178(5): 982-986, 1998.
13. MINKOFF H., AHDIEH L., MASSAD L.S., et al. The effect of highly active antiretroviral therapy on cervical cytologic changes associated with oncogenic HPV among HIV-infected women. *AIDS*, 15(9): 2157-2164, 2001.
14. HEARD I., TASSIE J.M., SCHMITZ V., MANDELBROT L., KAZATCHKINE M.D., ORTH G. Increased risk of cervical disease among human immunodeficiency virus-infected women with severe immunosuppression and high human papillomavirus load(1). *Obstet Gynecol*, 96(3):403-9, 2000.
15. TJIONG M.Y., OUT T.A., TER SCHEGGET J., BURGER M.P., VAN DER VANGE N. Epidemiologic and mucosal immunologic aspects of HPV infection and HPV-related cervical neoplasia in the lower female genital tract: a review. *Int J Gynecol Cancer*, 11(1): 9-17, 2001.
16. TWEDDEL G., HELLER P., CUNNANE M., MÜLTHAAPT H., ROTH K. The correlation between HIV seropositivity, cervical dysplasia, and HPV subtypes 6/11, 16/18, 31/33/35. *Gynecol Oncol*, 52:161-164, 1994.
17. FERNANDES A.P.M. Polimorfismo e níveis intralesionais de citocinas em lesões cervicais associadas à infecção pelo papilomavírus humano em mulheres com ou sem a infecção pelo HIV-1. [Tese]. Ribeirão Preto (SP): Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP; 2003.
18. NIJDEERS P.J., VAN DEN BRULE A.J., SCHRIJNEMAKERS H.F., SNOW G., MEIJER C.J., WALBOOMERS J.M. The use of general primers in the polymerase chain reaction permits the detection of a broad spectrum of human papillomavirus genotypes. *J Gen Virol*, 71:173-181, 1990.
19. MANOS M.M. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of human papillomaviruses. In: Furth M and Greaves M eds. Molecular diagnostic of Human Cancer, Cancer Cells, New York, Cold Spring Harbor Press: 209-214, 1989.
20. WALBOOMERS J.M., JACOBS M.V., MANOS M.M., et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*, 189:12-19, 1999.
21. SANGHINETTI C., DIAS E.N., SIMPSON A.J.G. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrilamide gels. *Biotechniques*, 17: 209-214, 1994.
22. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Revised classification system for HIV-1 infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults, *JAMA*, 269(6): 729-730, 1993.
23. BETTINI J.S., SOARES E.G., DUARTE G., SIMOES R.T., SIMOES A.L. PCR diagnosis of HPV in cervical biopsies of CIN and invasive neoplasia formerly diagnosed as HPV negative. *Acta Cytol*, 47(4):545-9, 2003.
24. FRANCO E.L. Epidemiology of anogenital warts and cancer. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 23(3):597-623, 1996.
25. FRANCO E.L., DUARTE-FRANCO E., FERENCZY A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ*, 164(7):1017-1025, 2001.
26. CARVALHO M.O., ALMEIDA R.W., LEITE F.M., et al. Detection of human papillomavirus DNA by the hybrid capture assay. *Braz J Infect Dis*, 7(2):121-5, 2003.
27. MCCRORY D.C., MATCHAR D.B., BASTIAN L., et al. Evaluation of cervical cytology. Evidence report/technology assessment no 5; AHCPR publ no 99-E010. Rockville (MD): Agency for Health Care Policy and Research, 1999.
28. ELUF-NETO J., BOOTH M., MUNOZ N., BOSCH F.X., MEIJER C.J., WALBOOMERS J.M. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. *Br J Cancer*, 69(1):114-9, 1994.

Endereço para correspondência:**ANA PAULA MORAIS FERNANDES**

Departamento de Enfermagem Geral e Especializada,
Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo,
Av Bandeirantes 3900, Monte Alegre, CEP 14 040-902, Ribeirão Preto-SP, Brasil.

Tel: 16 602 3414 - Fax: 16 633 3271

E-mail: anapaula@eerp.usp.br

Recebido em: 06/3/04

Aprovado em: 28/03/04