

Análise de infecção cervico-vaginal em indivíduos normais

Analysis of cervical vaginal infection in normal individuals

Ana Karina Melim Benthien Miquelão¹, Thiago Franco Nasser², Carlos Eduardo Coral de Oliveira³, Maria Angelica Ehara Watanabe³, Karen Brajão de Oliveira³

¹Departamento de Farmácia - Universidade Norte do Paraná – Londrina - PR

²Departamento de Nutrição - Centro Universitário Filadélfia – Londrina – PR

³Departamento de Ciências Patológicas – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR

Endereço para correspondência

Ana Karina Melim Benthien Miquelão

Departamento de Farmácia - Universidade Norte do Paraná - Londrina - PR

Resumo

O conteúdo cervico-vaginal normal é constituído por células epiteliais descamadas, detritos celulares, muco e ampla microbiota. A análise de células cervico-vaginais pelo método de Papanicolaou é considerada um método rotineiro e efetivo em triagens para neoplasia cervical. Através desse método, pode-se ainda identificar outras infecções cervico-vaginais, causadas por agentes infecciosos, tais como tricomoníase, candidíase, vaginose bacteriana, dentre outros. Este estudo teve por objetivo investigar a ocorrência de infecções cervico-vaginais e câncer cervical em amostras cervico-vaginais. Participaram deste estudo 73 doadoras de amostra cervico-vaginal entre 14 e 65 anos de idade. A ocorrência de infecções e câncer cervical foi determinada através de análise colpocitológica e técnica de coloração pelo método de Papanicolaou. Verificou-se infecções vaginais em 28,7% (21/73) doadoras incluindo, vaginose bacteriana (20,5%), *Candida spp.* (4,1%), HPV (1,3%) e *Trichomonas vaginalis* (2,7%). Foram também observadas 6,8% (5/73) alterações celulares sendo 1,3% lesão escamosa intra-epitelial de baixo grau, 2,7% de alto grau e 2,7% de adenocarcinoma. Dentre as amostras que apresentaram alterações celulares, identificou-se precocidade no início da atividade sexual, multiparidade e baixo índice socioeconômico, considerados fatores de risco para câncer cervical.

Palavras chaves: *Candida spp.*, *Trichomonas vaginalis*, vaginose bacteriana, cervico-vaginal.

Abstract

Cervical vaginal environment provides epithelial cells, cellular debris, mucus and wide microbiota. The morphological analysis of cervical vaginal samples by the *Papanicolaou* technique is considered an effective and routine method for cervical neoplasial trial. Through this method it is possible to identify infectious agents such as *Trichomonas vaginalis*, *Candida sp*, bacterial vaginosis and others. This study aimed to demonstrate the incidence of cervical vaginal infections and cervical cancer in sexually active women. The subjects in this study were 73 donors of cervical vaginal samples, aged 14 to 65. The incidence of infections and cervical cancer was determined through the analysis of the cytological smears stained by the Papanicolaou technique. Through the analysis of the cytological smears, vaginal infections were found in 28.7% (21/73) donors, with incidence of bacterial vaginosis (20.5%), *Candida spp* (4.1%), *Trichomonas vaginalis* (2.7%) and human papilloma virus (1.3%). It was also observed cellular alterations (6.8% - 05/73), including 1.3% intra-epithelial lesion for low degree, 2.7% for high degree and 2.7% adenocarcinoma. Cervical cancer risk factors, as the first sexual intercourse in young woman, high number of pregnancies and low socio-economical levels were observed among the subjects.

Keywords: *Candida spp*, *Trichomonas vaginalis*, bacterial vaginosis, cervical vaginal.

INTRODUÇÃO

Um importante marco histórico no conhecimento do câncer de colo uterino foi o estudo de Papanicolaou e Traut (1943)⁽¹⁾, o qual demonstrou a possibilidade de detectar células atípicas mediante o esfregaço cérvico-vaginal. A análise morfológica de células cervicais pelo método de Papanicolaou é amplamente aceita, e considerado efetivo em triagens para neoplasia cervical^(2,3).

O estudo da microbiota cérvico-vaginal tem como marco inicial o estudo de Döderlein, que descreveu a presença de lactobacilos, fundamentais para manutenção do equilíbrio do meio vaginal, mantendo o pH baixo e inibindo o crescimento de outros micro-organismos⁽⁴⁾.

Vaginites e vaginoses, infecciosas ou não, constituem um dos problemas mais comuns em mulheres, sendo uma das maiores causas de consultas ginecológicas. Com a coloração de Papanicolaou é possível identificar agentes infecciosos, como *Trichomonas vaginalis*, fungos como *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus sp* entre outros^(5,6,7).

A vaginose bacteriana (VB) é caracterizada por um corrimento branco, fino e homogêneo, pH vaginal acima de 4.5, teste de aminas positivo e presença de “*clue cells*” ou células indicadoras ao exame à microscopia⁽⁸⁾. Caracteriza-se também por uma alteração qualitativa e quantitativa da microflora vaginal, marcada por franca diminuição da concentração de *Lactobacillus*, e um aumento da concentração de *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, e bactérias anaeróbias, como *Peptostreptococci sp*, *Prevotella sp*, e *Mobiluncus sp*^(9,10).

Candidíase é a infecção fúngica mais encontrada no trato geniturinário, estima-se que aproximadamente 75% das mulheres em idade reprodutiva apresentaram um episódio de vulvovaginite causado por *Candida sp* enquanto 40-45% relataram ocorrência de mais de um episódio⁽¹¹⁾, contudo outros fungos, como os dos gêneros *Blastomyces*, *Alternaria* e *Aspergillus*, podem provocar um quadro de vaginose. A

C. albicans é pleomórfica e sofre transições reversíveis entre leveduras, e pseudo-hifas, as quais apresentam constrictões e são septadas⁽¹²⁾. A transição levedura para hifa tem sido atribuída a fatores de virulência na habilidade da *C. albicans* em invadir os tecidos humanos. Em geral, as leveduras predominam colonizando as mucosas nos tecidos hospedeiros e as hifas emergem quando a defesa do hospedeiro está suprimida⁽¹³⁾.

Trichomonas vaginalis é um protozoário anaeróbico facultativo, que pode crescer na ausência de oxigênio, na faixa de pH compreendida entre 5 e 7,5 e em temperaturas entre 20 e 40°C. A tricomoníase apresenta uma ampla variedade de manifestações clínicas, os quais dependem das condições individuais, da virulência e do número de parasitos infectantes. Pode se apresentar desde a forma assintomática, ocasionalmente descoberta em um exame de rotina, até sintomas de severa inflamação e irritação da mucosa genital, com a presença de leucorréia^(14, 15).

Nos processos inflamatórios, o fundo do esfregaço pode estar representado por polimorfonucleares (infecções agudas), por histiócitos e mastócitos (processos crônicos) ou apresentar uma reação granulomatosa (corpos estranhos ou tuberculose)⁽¹⁶⁾.

Estudos recentes têm apoiado a utilização de histiócitos como sugestivos de doença endometrial. Entretanto, existem controvérsias entre citopatologistas quanto a reportar a presença destas células em relatórios citológicos cérvico-vaginais. Os histiócitos são frequentes nos esfregaços cérvico-vaginais durante o pós-menstruo imediato, gestação, pós-parto, pós-aborto e após radioterapia. Suas características como atividade aumentada, presença de hemossiderina no citoplasma, restos celulares ou de lipídios e presença de histiócitos gigantes multinucleados possibilitam indicar alterações endometriais. Quando presentes em esfregaços cérvico-vaginais provenientes de mulheres no período peri-menopausa ou pós-menopausa têm sido vistos como um indicador de hiperplasia endometrial ou neoplasia⁽¹⁷⁾.

O carcinoma cervical uterino de células escamosas é o segundo câncer mais comum em mulheres no mundo todo⁽¹⁸⁾, e o principal câncer em mulheres em países em desenvolvimento, onde ocorrem em 80% dos casos^(18, 19). Evidências epidemiológicas moleculares indicam claramente que certos tipos de HPV são a principal causa de câncer cervical invasor^(20, 21, 22) e de neoplasia intra-epitelial cervical⁽²³⁾.

O objetivo deste trabalho foi determinar a ocorrência de infecções cérvico-vaginais e de câncer cervical uterino em mulheres nas diversas faixas etárias, na região norte do Paraná.

PACIENTES E MÉTODOS

Pacientes

Amostras cérvico-vaginais de 73 mulheres assintomáticas, da Zona Leste de Londrina – PR, foram coletadas após análise e aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em pesquisa de Universidade Estadual de Londrina o qual está de acordo com a Resolução 196/96 – CNS, e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Ao longo do presente trabalhos estas mulheres serão referidas como doadoras das amostras.

Análise Citológica

A coleta das amostras foi realizada com auxílio de espéculo vaginal para visualização do colo uterino; de espátula de Ayre, para obtenção de amostras da ectocérvice; e com a escova cervical, (*cytobrush*), a coleta endocervical. O esfregaço cérvico-vaginal foi fixado com etanol absoluto (fixador celular), a fim de evitar a ação de enzimas autolíticas, as quais poderiam alterar a morfologia celular. Os esfregaços cérvico-vaginais foram visualizados em microscopia óptica após a coloração de Papanicolaou e os resultados obtidos baseados no Sistema Bethesda⁽²⁴⁾.

Resultados

Esfregaços cérvico-vaginais de 73 doadoras, com idades entre 14 e 68 anos, (média 35,01 anos) foram analisados. Grande parte das doadoras envolvidas no estudo eram casadas 45% (33) como apresentado na Figura 1.

A paridade variou de 0 a 7 filhos (média de 04 partos) e quanto à análise dos aspectos reprodutivos, o índice de gestação foi elevado, sendo cerca de 4 gestações para cada indivíduo. Este fato pode ser explicado pela baixa escolaridade e desinformação destas mulheres acerca dos métodos contraceptivos disponíveis para o adequado planejamento familiar.

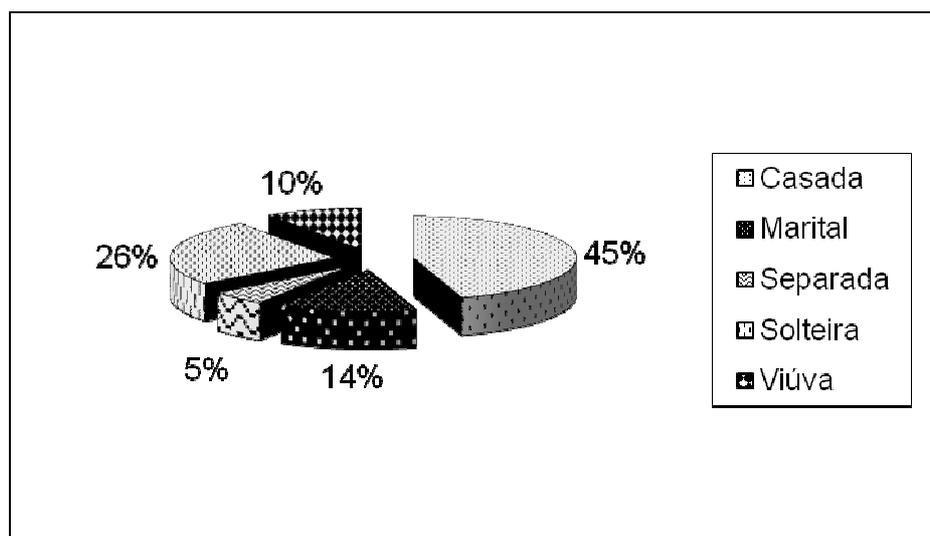


Figura 1. Estado Civil das doadoras. O trabalho envolveu 73 mulheres que participaram do estudo, sendo 33 (45%) casadas, 19 (26%) solteiras, 07 (10%) viúvas, 10 (14%) relação marital e, 04 (5%) separadas.

Considerando a definição de adolescência adotada pelo Programa de Saúde do Adolescente do Ministério da Saúde, Brasil, são considerados como adolescentes indivíduos com idade entre 10 e 19 anos (World Health Organization, 2001), o início sexual das doadoras ocorreu predominantemente (73,9%) durante a adolescência, ocorrendo durante o início da adolescência em 32,8% dos casos analisados (Figura 2).

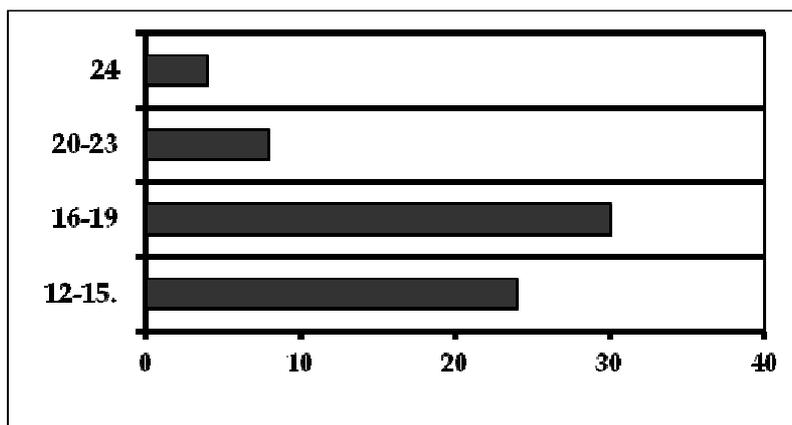


Figura 2. Idade do início da Atividade Sexual. Quanto ao início da atividade sexual, observou-se 24 doadoras com início entre 12 e 15 anos (32,8%); 30 doadoras entre 16 e 19 anos (41,1%); 11 doadoras acima dos 20 anos (14,9%), e 08 doadoras não souberam informar.

A presença de agentes infecciosos baseou-se na análise dos esfregaços cérvico-vaginais corados pela técnica de Papanicolaou. Os resultados das análises citológicas foram expressos segundo a Classificação Internacional de Bethesda. Entre as doadoras, observou-se a incidência de vaginose bacteriana em 15 (16,5%), de infecções por *Candida sp* em 3 (4,1%) e por *Trichomonas vaginalis* em 02 (2,7%); foram também observadas alterações citopáticas sugestivas de infecção por Papiloma Vírus Humano (HPV) em apenas uma doadora (1,3%).

As alterações celulares foram verificadas nos esfregaços cérvico-vaginais, sendo: 1,3% (1/73) lesão de escamosa intra-epitelial de baixo grau (LSIL), 2,7% (2/73) de lesão escamosa intra-epitelial de alto grau (HSIL), 1,3% (1/73) de carcinoma epidermóide e 2,7% (2/73) adenocarcinoma cervical.

As alterações colpocitológicas foram detectadas em doadoras que apresentaram em média 30 anos de idade, sendo que as mesmas iniciaram atividade sexual precocemente aos 15 anos de idade em média.

DISCUSSÃO

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer de colo do útero é a terceira neoplasia maligna mais comum entre as mulheres, sendo superado apenas pelo câncer de pele (não-melanoma) e pelo câncer de mama. Ela ainda é a quarta causa de morte por câncer em mulheres.

A importância das diferenças socioeconômicas e culturais nas populações sobre a paridade é evidenciada pelo relato de taxas de 1 a 2 gestações por mulher nos países desenvolvidos enquanto que a multiparidade de 4 a 7 filhos ainda tem sido observada em países emergentes ou culturalmente diferentes⁽²⁵⁾.

Vaginose bacteriana é uma desordem comum entre mulheres jovens⁽²⁶⁾ considerada uma síndrome que primariamente envolve desequilíbrio da microbiota

vaginal com mudança da população bacteriana predominantemente aeróbia (*Lactobacillus sp*), da vagina normal, para anaeróbia (*Gardnerella vaginalis*, *Prevotella sp*, *Bacteroides sp*, *Mobiluncus sp* e *Peptostreptococcus sp*)^(27, 28). A ocorrência de vaginose bacteriana (VB) no presente trabalho foi de 16,5%. As razões para este desequilíbrio são desconhecidas, embora a perda de lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio, que é tóxico para numerosos anaeróbios, pareça ser um elemento essencial⁽²⁸⁾. O método de Gram e o exame de Papanicolaou têm demonstrado ter sensibilidade de 94,7 e 98% para diagnóstico de vaginose bacteriana, respectivamente^(29, 30).

Vários estudos demonstraram a ocorrência dos diferentes patógenos vaginais, representados por altos índices de infecção por *Candida sp* (22,5%) e baixos índices de tricomoníase (3,4%)⁽³¹⁾. Hart (1993)⁽³²⁾, em um estudo envolvendo 5.365 mulheres, observou que 1,8% apresentaram tricomoníases, 13,7% vaginose bacteriana e 17,6% candidíase. Toloí e Franceschini (1997)⁽³³⁾ analisaram 133 pacientes onde 26% apresentaram infecção por *Candida spp*, 8% por vaginose bacteriana e 0% *Trichomonas vaginalis*. Vespero *et al.* (2000)⁽³⁴⁾ relataram vaginose bacteriana (27%), *Candida spp* (11%) e tricomoníase vaginal em 1% dos casos.

Durante estudo epidemiológico envolvendo as três maiores causas de vaginites nos Estados Unidos e na Escandinávia, Kent (1991)⁽³⁵⁾ observou que a frequência de infecções por *Trichomonas vaginalis* tem diminuído acentuadamente em várias regiões. Esta diminuição também foi relatada por Adad *et al.* (2001)⁽³¹⁾, que observaram uma redução de 17,3% em 1978 para 3,4% em 1998. Neste aspecto, nossos dados são concordantes, demonstrando baixa ocorrência de *Trichomonas vaginalis* na população estudada (2,7%).

A frequência de infecções por *Candida sp* apresentou um grande aumento na década passada (8,1% em 1988 para 22,5% em 1998), possivelmente devido a maior utilização de contraceptivos orais, e também pelo maior número de indivíduos imunocomprometidos (HIV, terapia com corticóides), troca de parceiros sexuais, e abuso de antibióticos⁽³¹⁾.

Os dados da literatura em relação às infecções vaginais por *Candida* em populações similares a este estudo, relatando baixo índice sócio-econômico e social, demonstraram alta incidência desta infecção. Logo, esperava-se encontrar número expressivo de doadoras com infecções vaginais por *Candida*, porém os dados obtidos neste trabalho revelaram uma baixa incidência deste agente (4,1%).

Em outro estudo no Brasil, realizado com população de instituição privada, a frequência de infecções foi muito menor: *Trichomonas vaginalis* 1,1%; *Candida sp* 6,9% e vaginose bacteriana 14,1%, provavelmente estes índices estão relacionados aos índices socioeconômicos da população estudada⁽³⁶⁾.

Em estudos baseados somente nas análises citológicas como Papanicolaou, a frequência de *Trichomonas vaginalis* 3,4%; *Candida spp* 22,5% e vaginose bacteriana 15,9%⁽³¹⁾ foi similar ao estudo de Rivera *et al.* (1996)⁽³⁷⁾ que relataram uma frequência de *Trichomonas vaginalis* igual a 1,7%; *Candida spp*. 26% e vaginose bacteriana 16,5%.

A infecção pelo Papilomavírus humano (HPV) apresenta uma alta prevalência, sendo detectada em aproximadamente 10 a 20% da população com atividade sexual entre 15 e 49 anos de idade⁽³⁸⁾. A presença de HPV de alto risco, alta carga viral alta e infecção persistente são fatores de risco para progressão de neoplasia intra-epitelial cervical para câncer invasor^(39, 20).

Mount e Papillo (1999)⁽⁴⁰⁾ reportaram a prevalência de 3,77% de SIL (lesões intra-epiteliais) entre 10.296 amostras citológicas de pacientes entre 10 e 19 anos, onde

18% foram lesões escamosas intra-epiteliais de alto grau (HSIL), não foi observado nenhum caso de carcinoma. O Instituto Nacional do Câncer - INCA (2002)⁽⁴¹⁾ reportou a incidência de câncer cervical invasor de 0/100.000 casos entre 10 e 19 anos e 1,7/100.000 casos entre 20 e 24 anos entre 1995 e 1999.

HSIL é considerada significativa lesão pré-cancerosa, enquanto LSIL é considerada uma lesão de baixo grau, visto que a maioria destas lesões regride espontaneamente. Dados de regressão e história natural das LSIL e infecções por HPV em mulheres jovens, com idades entre 13 e 22 anos, indicam que a maioria das infecções é transitória, com 70% regressão nos casos de HPV de alto risco oncogênico e 90% de regressão nos casos de tipos de baixo risco⁽⁴²⁾. É conhecido que 58% das LSIL regridem em adultos jovens, enquanto 90% podem regredir em adolescentes e mulheres jovens (13 a 21 anos)⁽⁴²⁾. Em alguns grupos étnicos a frequência de LSIL pode acometer 13% das mulheres. Muitas destas anormalidades regridem espontaneamente⁽¹⁸⁾, mas em outros há persistência da LSIL ou progressão para HSIL (20% dos casos de LSIL)⁽⁴³⁾.

A cada ano estima-se que 371.000 novos casos de câncer cervical invasivo são diagnosticados no mundo todo, representando 10% de todos os cânceres em mulheres⁽⁴⁴⁾. As áreas de alto risco são América Central e do Sul, Sul e Oeste da África e Caribe, com incidência de 30 novos casos em 100.000 mulheres por ano. Nos últimos 50 anos a incidência e a mortalidade têm declinado na América do Norte devido à viabilidade dos programas de triagens por exames colposcópicos, isto é o teste de Papanicolaou⁽¹⁹⁾.

Apesar da disponibilidade de exames citológicos que detectam precocemente as lesões pré-malignas do colo uterino, neste trabalho observou-se alta incidência de câncer cervical. Mulheres que apresentavam câncer cervical, carcinoma ou adenocarcinoma, não realizavam regularmente exames preventivos, por desconhecimento da importância da prevenção ou até mesmo por conceitos inadequados a respeito do mesmo.

Na presente casuística, apesar do baixo índice sócio-econômico da população estudada a qual apresentou alto número de gestações e do início precoce da atividade sexual, observou-se baixa ocorrência de infecções cérvico-vaginais por *Candida sp.* Em relação à VB e à tricomoníase vaginal os índices demonstraram valores similares aos encontrados por outros autores.

Constatou-se, ainda que, as mulheres que apresentaram alterações celulares, tiveram início precoce de atividade sexual, elevado número de gestações e baixo índice sócio-econômico, os quais, além da infecção por HPV, são considerados fatores de risco para câncer cervical.

Agradecimentos

Às participantes doadoras de amostras que tornaram este estudo possível. À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e PROPPG-UEL (Pró-reitoria de Pós Graduação da Universidade Estadual de Londrina).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Papanicolaou GN, Traut HF. *Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear*. New York Commonwealth Fund, 1943.
2. Yamamoto LS, Alves VA, Maeda MY, Longatto-Filho A, Uttagawa ML, Eluf Neto J. A morphological protocol and guide-list on uterine cervix cytology associated to papillomavirus infection. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, 46(4):189-193, 2004.
3. Tamiolakis D, Kalloniadou M, Lambropoulou M, Kambanieris M, Tsopelas A, Daskalakis G, Nikolaidou S, Venizelos I, Papadopoulos N. Contribution of combined colposcopy and cytology in cervical pathology. *Arch Gynecol Obstet*, 273(1):39-42, 2005.
4. Klebanoff SJ, Hillier SL, Eschenbach DA, Waltersdorff AM. Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂-generating lactobacilli. *J Infect Dis*, 164(1):94-100, 1991.
5. Donders GG, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *Am J Obstet Gynecol*, 182:872-878, 2000.
6. Demirezen S. Review of cytologic criteria of bacterial vaginosis: examination of 2,841 Papanicolaou stained vaginal smears. *Diagn Cytopathol*, 29(3):156-159, 2003.
7. Demirezen S, Korkmaz E, Beksaç MS. Association between trichomoniasis and bacterial vaginosis: examination of 600 cervicovaginal smears. *Cent Eur J Public Health*, 13(2):96-98, 2005.
8. Luni Y, Munim S, Qureshi R, Tareen AL. Frequency and diagnosis of bacterial vaginosis. *J Coll Physicians Surg Pak*, 15(5):270-272, 2005.
9. Cook RL, Redondo-Lopez V, Schmitt C, Meriwether C, Sobel JD. Clinical, microbiological, and biochemical factors in recurrent bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol*, 30(4):870-877, 1992.
10. Hay PE, Ugwumadu A, Chowns J. Sex, thrush and bacterial vaginosis. *Int J STD AIDS*, 8:603-608, 1997.
11. Battaglia F, Mariani L, Anglana F, Milite V, Quattrini M, Plotti F, Tomao F, Plotti G. Vulvovaginal candidiasis: a therapeutic approach. *Minerva Ginecol*, 57(2):131-139, 2005.
12. Merson-Davies LA, Odds FC. A morphology index for characterization of cell shape in *Candida albicans*. *J Gen Microbiol*, 135(11):3143-3152, 1989.
13. Lo HJ, Köhler JR, DiDomenico B, Loebenberg D, Cacciapuoti A, Fink GR. Nonfilamentous *C. albicans* mutants are avirulent. *Cell*, 90(5):939-949, 1997.

14. López LB, Braga MB, López JO, Arroyo R, Costa e Silva Filho F. Strategies by which some pathogenic trichomonads integrate diverse signals in the decision-making process. *An Acad Bras Cienc*, 72(2):173-186, 2000.
 15. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clin Microbiol Rev*, 11(2):300-317, 1998.
 16. Moraes Filho A, Longatto A. *Colo Uterino e Vagina; Processos Inflamatórios*. Rio de Janeiro: Editora Revinter, 2000.
 17. Tambouret R, Bell DA, Centeno BA. Significance of histiocytes in cervical smears from peri/postmenopausal women. *Diagn Cytopathol*, 24:271-275, 2001.
 18. Hantz S, Alain S, Denis F. Anti-papillomavirus vaccines and prevention of cervical cancer: progress and prospects. *Presse Med*, 34(10):745-753, 2005.
 19. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Globocan 2000: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, version 1.0. IARC CancerBase n°5. Lyons, France: ARC Press, 2001.
 20. Yang R, Wheeler CM, Chen X, Uematsu S, Takeda K, Akira S, Pastrana DV, Viscidi RP, Roden RB. Papillomavirus Capsid Mutation to Escape Dendritic Cell-Dependent Innate Immunity in Cervical Cancer. *J Virol*, 79(11):6741-6750, 2005.
 21. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*, 55:244-265, 2002.
 22. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*, 189(1):12-19, 1999.
 23. Kjaer SK, van den Brule AJ, Bock JE, Poll PA, Engholm G, Sherman ME, Walboomers JM, Meijer CJ. Human papillomavirus: the most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer*, 65(5):601-606, 1996.
 24. Apgar BS, Zoschnick L, Wright TC Jr. The 2001 Bethesda System terminology. *Am Fam Physician*, 68:1992-1998, 2003.
 25. Iannetta O, Rodrigues C, Tavares AB, Ferreira RA. Caracterização da estrutura familiar e dos valores pessoais num inquérito sobre a sexualidade da mulher no climatério. *Reprod Clim*, 12(suppl.1):49, 1997.
 26. O'Brien RF. Bacterial vaginosis: many questions--any answers? *Curr Opin Pediatr*, 17(4):473-479, 2005.
 27. Delaney ML, Onderdonk AB. Nugent score related to vaginal culture in pregnant women. *Obstet Gynecol*, 98(1):79-84, 2001.
 28. Calzolari E, Masciangelo R, Milite V, Verteramo R. Bacterial vaginosis and contraceptive methods. *Int J Gynaecol Obstet*, 70(3):341-346, 2000.
- Biosaúde*, Londrina, v. 12, n. 1 / 2, 2010

29. Almeida PM, Wickerhause H. *O Critério ABA/ABIPEME – Em Busca de uma Atualização*. São Paulo: Associação Brasileira de Anunciantes/Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercado, 1991.
30. Fan X, Xu Y, Solomon H, Ramrakhiani S, Neuschwander-Tetri BA, Di Bisceglie AM. Is hepatitis G/GB virus-C virus hepatotropic? Detection of hepatitis G/GB virus-C viral RNA in liver and serum. *J Med Virol*, 58:160-164, 1999.
31. Adad SJ, Lima RV, Sawan ZTE, Silva MLG, Souza MAH, Saldanha JC, Falco VAA, Cunha AH, Murta EFC. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida sp* and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. *Sao Paulo Med J*, 119(6): 200-205, 2001.
32. Hart G. Factors associated with trichomoniasis, candidiasis and bacterial vaginosis. *Int J STD AIDS*, 4:21-25, 1993.
33. Toloí MRT, Franceschini SA. Exames colpocitológicos de rotina: Aspectos laboratoriais e patológicos. *J Bras Ginec*, 107:251-254, 1997.
34. Vespero EC, Azevedo EMM, Pelisson M, Perugini MRE. Correlation between clinical criteria and laboratorial criteria as diagnostic for bacterial vaginosis. *Semina*, 20/21(2):17-66, 2000.
35. Kent HL. Epidemiology of vaginitis. *Am J Obstet Gynecol*, 165(4):1168-1176, 1991.
36. Lara BMR, Fernandes PA, Miranda D. Diagnósticos citológicos cérvico-vaginais em laboratório de médio porte de Belo Horizonte - MG. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, 31:37-40, 1999.
37. Rivera LR, Trenado MQ, Valdéz AC, González CJC. Prevalencia de vaginitis y vaginosis bacteriana: asociación con manifestaciones clínicas, de laboratorio y tratamiento. *Ginec y Obst Mex*, 64:26-35, 1996.
38. Koutsky LA. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med.*, 102(5A):3-8, 1997.
39. Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RJ. Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol*, 172:946-954, 1995.
40. Mount SL, Papillo JL. A study of 10,296 pediatric and adolescent Papanicolaou smear diagnoses in northern New England. *Pediatrics*, 103(3):539-345, 1999.
41. INCA. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico – AIDS; ano XVI, n.1, 2002.
42. Moscicki AB, Shiboski S, Broering J, Powell K, Clayton L, Jay N, Darragh TM, Brescia R, Kanowitz S, Miller SB, Stone J, Hanson E, Palefsky J. The natural history of

human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr*, 132(2):277-284, 1998.

43. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. *J Natl Cancer Inst*, 91(3):252-258, 1999.

44. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. *Int J Cancer*, 54(4):594-606, 1993.