



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

ANABEL MENEGUEL DA SILVA

**ANÁLISE DE PREVALÊNCIA DOS TIPOS DE HPV, ATRAVÉS DA
BIOLOGIA MOLECULAR, EM CITOLOGIA DE MEIO LÍQUIDO PARA
RASTREIO DO CÂNCER DE COLO ÚTERO NO SUL ESTADO DE SANTA
CATARINA**

Tubarão

2023

ANABEL MENEGUEL DA SILVA

**ANÁLISE DE PREVALÊNCIA DOS TIPOS DE HPV, ATRAVÉS DA
BIOLOGIA MOLECULAR, EM CITOLOGIA DE MEIO LÍQUIDO PARA
RASTREIO DO CÂNCER DE COLO ÚTERO NO SUL ESTADO DE SANTA
CATARINA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso Ciências Biológicas da
Universidade do Sul de Santa Catarina como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Maricelma Simiano Jung, Msc.

Co-orientador: Victória da Silva Araújo

Tubarão

2023

ANABEL MENEGUEL DA SILVA

**ANÁLISE DE PREVALÊNCIA DOS TIPOS DE HPV, ATRAVÉS DA
BIOLOGIA MOLECULAR, EM CITOLOGIA DE MEIO LÍQUIDO PARA
RASTREIO DO CÂNCER DE COLO ÚTERO NO SUL ESTADO DE SANTA
CATARINA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso
será julgado para obtenção do título de Bacharel
em Ciências Biológicas.

Tubarão, 26 de junho de 2023

Profa. Maricelma Simiano Jung, MSc
Universidade do Sul de Santa Catarina

Profa. Karine Mattos, MSc
Universidade do Sul de Santa Catarina

Prof. Gregório Wrublevski Pereira, Dr
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho a todos que participaram
nesta jornada e que me ajudaram na superação
das adversidades.

AGRADECIMENTOS

A orientadora Maricelma Simiano Jung, que me aceitou como orientanda em meio a mudança de projeto e auxiliou na condução do trabalho mesmo em frente a desafios.

A minha querida amiga e colega de trabalho Victória, por me ajudar a me reerguer na escolha do novo tema e todo apoio que me prestou desde a elaboração até o final do projeto. Você é uma profissional e amiga incrível, sempre se lembre disso.

Ao Dr. Gregório e o laboratório Di Prever, por incentivar esse trabalho de conclusão e ceder o espaço e dados para esta pesquisa.

A Dra. Bibiana, por suas contribuições neste trabalho, pelas dicas e por todas vezes que fui gritar socorro, sempre estar prestativa a me ajudar. Você ajudou a tornar as coisas mais leves e claras, e me ajudou a descobrir o gosto pela pesquisa.

A minha namorada e parceira da vida, por compreender e ficar me ouvindo por horas falar sobre estágio e TCC. Obrigada pela paciência.

A banca que aceitou contribuir com este trabalho dentre tantas demandas.

Aos amigos, que sempre motivaram e tornaram tudo mais leve.

O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que superou no caminho.

(Abraham Lincoln)

APRESENTAÇÃO

O trabalho de conclusão de curso intitulado "**Análise de prevalência dos tipos de HPV, através da Biologia Molecular, em citologia de meio líquido para rastreamento do câncer de colo uterino no sul do estado de Santa Catarina**" teve seu projeto submetido e aprovado pelo comitê de ética desta instituição sob o parecer 6.037.924. Este trabalho será apresentado na forma de manuscrito científico, como permite a disciplina de TCC II do curso de Ciências Biológicas. A fim de auxiliar a leitura, as tabelas estão dispostas no decorrer do texto.

Atenciosamente,

Anabel Meneguel da Silva

Prof^ª. Maricelma Simiano Jung, MSc.

RESUMO

O câncer de colo do útero, também chamado de câncer cervical, é o quarto tipo de carcinoma mais frequente entre as mulheres no mundo todo e o terceiro no Brasil, com incidência variando amplamente entre as diferentes regiões analisadas. O presente estudo objetivou identificar os tipos mais prevalentes de HPV identificados por método de PCR em exames de citologia em meio líquido, no período de 2019 a 2022, em um laboratório de anatomia patológica que atende à região sul e serrana do estado de Santa Catarina. Para o presente estudo foram coletados dados clínicos secundários, de pacientes que realizaram exames de rotina no período de 2019 a 2022, em um laboratório de anatomia patológica no município de Tubarão (Santa Catarina), por meio do Sistema Patho Web®. A busca foi realizada através de prontuário eletrônico, executado manual e exclusivamente pelas pesquisadoras. Foram coletados dados clínicos secundários, de pacientes que realizaram exames de rotina no período de 2019 a 2022, em um laboratório de anatomia patológica no município de Tubarão (Santa Catarina), por meio do Sistema Patho Web®, foi elaborado um banco de dados através de tabelas, com a utilização do programa Excel 2019 (*Microsoft Corp.*, Estados Unidos). A análise estatística foi pelo SPSS *Statistics* 29.0®. A faixa etária de mulheres envolvidas variou entre os 18 e os 90 anos. Dos exames analisados 50,3% corresponderam ao resultado negativo e 49,5% resultado positivo para presença do vírus do HPV. A idade média das mulheres com resultado positivo foi de 33 anos. Dentre as variáveis demográficas associadas aos resultados do teste de HPV, a maior significância foi da região Sul e Região Serrana. No grupo de tipos de HPV de alto risco (Tabela 4) os tipos mais frequentes na amostra foram HPV-16 (8%), HPV-52 (7,04%), HPV-56 (4,8%) e HPV-68 (4,64%). Os tipos de HPV de baixo risco avaliados obteve-se maiores valores de frequência para HPV-62 (7,36%), HPV-81 (7,04%) e HPV-42 (4,16%). Dos 10 casos positivos para HSIL 60% (n=6) apresentaram presença de HPV de alto risco e 20% (n=2) apresentou coinfeção para HPV de alto e baixo risco. Em relação aos casos sugestivos de LSIL, dos 67 casos, 7,4% dos casos (n=5) foram positivos para HPV de baixo risco, 44,7% (n=30) para alto risco e 31,3 % (n=21) para coinfeção por HPV de alto e baixo risco. Este estudo é uma contribuição valiosa para o atendimento médico da população de Santa Catarina e dos centros de pesquisa que estudam o papilomavírus humano.

Palavras chaves: PCR, câncer do colo do útero, HPV

ABSTRACT

Cervical cancer, also known as uterine cervical cancer, is the fourth most common type of carcinoma among women worldwide and the third most common in Brazil, with incidence varying widely among different regions. The present study aimed to identify the most prevalent types of HPV identified by PCR method in liquid-based cytology exams, from 2019 to 2022, in a pathology laboratory that serves the southern and mountainous region of the state of Santa Catarina. For this study, secondary clinical data was collected from patients who underwent routine exams from 2019 to 2022, in a pathology laboratory in the city of Tubarão (Santa Catarina), through the Patho Web® system. The search was performed through an electronic medical record, executed manually and exclusively by the researchers. A database was created using tables with the Excel 2019 program (Microsoft Corp., United States). Statistical analysis was performed using SPSS Statistics 29.0®. The age range of women involved varied from 18 to 90 years old. Of the analyzed exams, 50.3% corresponded to negative results and 49.5% to positive results for the presence of HPV. The average age of women with positive results was 33 years old. Among the demographic variables associated with HPV test results, the most significant were from the southern and mountainous regions. In the high-risk HPV type group (Table 4), the most frequent types in the sample were HPV-16 (8%), HPV-52 (7.04%), HPV-56 (4.8%), and HPV-68 (4.64%). The low-risk HPV types evaluated obtained higher frequency values for HPV-62 (7.36%), HPV-81 (7.04%), and HPV-42 (4.16%). Of the 10 positive cases for HSIL, 60% (n=6) presented the presence of high-risk HPV, and 20% (n=2) presented co-infection with high and low-risk HPV. Regarding cases suggestive of LSIL, of the 67 cases, 7.4% (n=5) were positive for low-risk HPV, 44.7% (n=30) for high-risk HPV, and 31.3% (n=21) for co-infection with high and low-risk HPV. This study is a valuable contribution to the medical care of the population of Santa Catarina and research centers studying human papillomavirus.

Keywords: PCR, cervical cancer, HPV.

LISTA DE ABREVIATURAS

- INCA - Instituto Nacional do Câncer
- HPV - Papilomavírus humano
- DNA - Ácido desoxirribonucleico
- dsDNA - DNA de dupla fita de material genético
- Pb - Pares de bases
- Nm - Nanomêtro
- PRR - Papilomatose respiratória recorrente
- ORFs - Quadro de leitura aberta (do inglês *Open Reading Frames*)
- poli-A - Poliadenilação
- RNA - Ácido ribonucleico
- mRNA - RNA mensageiro
- LCR - Região de controle longo (do inglês, *Long Control Region*)
- URR - Região reguladora do montante (do inglês, *Upstream Regulatory Region*)
- NCR - Região não codificante
- E - Proteínas iniciadoras (do inglês *early*)
- L - Proteínas tardias (do inglês *late*)
- pRB - Proteína de retinoblastoma
- P53 - Proteína supressora tumoral
- P1 - Promotor inicial 1 ou P97
- P3 - Promotor inicial 3
- JEC - Junção escamo-colunar
- OMS - Organização mundial da saúde (do inglês *World Health Organization*)
- NIC - Neoplasia Intra-epitelial cervical
- LSIL - Lesão Intraepitelial escamosa de baixo grau
- HSIL - Lesão Intraepitelial escamosa de alto grau
- SUS - Sistema Único de Saúde
- CH - Captura híbrida
- PCR - Reação em Cadeia da Polimerase
- CCU- Câncer do colo do útero
- ASC-H – Células Escamosas Atípicas não podendo afastar lesão de alto grau
- ASC-US - Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição da realização do exame de genotipagem de HPV ao longo do período amostra.....	25
Tabela 2 – Idade média de mulheres com teste positivo para HPV.....	26
Tabela 3 – Número e porcentagem dos casos positivos e negativos em relação a localidade.....	27
Tabela 4 – Frequência absoluta, frequência relativa e Frequência relativa % por HPV de alto risco.....	28
Tabela 5 - Frequência absoluta, frequência relativa e Frequência relativa % por HPV de baixo risco.....	30
Tabela 6 - Incidência de casos positivos relativos à infecção e coinfeção por HPV.....	32
Tabela 7 – Incidência dos achados citológicos em relação ao valor total da amostra.....	33
Tabela 8 - Correlação de lesão intraepitelial de alto e baixo grau com teste positivo para HPV.....	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Média de frequência por HPV de Alto Risco.....	29
Figura 2 – Média de frequência por HPV de baixo risco.....	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	OBJETIVOS.....	21
1.1.1	OBJETIVO GERAL	21
1.1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
2	METODOLOGIA	22
2.1	NATUREZA E TIPO DE PESQUISA	22
2.2	PROCEDIMENTOS UTILIZADOS NA COLETA DE DADOS E POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	22
2.3	PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE DE DADOS.....	22
2.4	PROCEDIMENTOS UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO DOS TIPOS HPV ...	23
2.5	CLASSIFICAÇÃO DOS ACHADOS CITOLÓGICOS	23
2.6	ASPECTOS ÉTICOS.....	24
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4	CONCLUSÃO	37
5	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

O câncer de colo do útero, também chamado de câncer cervical, é o quarto tipo de carcinoma mais frequente entre as mulheres no mundo todo e o terceiro no Brasil, com incidência variando amplamente entre as diferentes regiões analisadas. A estimativa para o ano de 2023 é de 17.010 novos casos (INCA, 2022). No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) em 2020 ocorreram 16.710 novos casos e 6.627 de mortes, no mesmo ano segundo: Atlas de Mortalidade por Câncer – SIM. Uma das características marcantes deste tipo de câncer é sua associação com baixo nível socioeconômico, sendo que aproximadamente 90% dos casos de mortes de mulheres ocorreram em países de baixa e média renda. Uma vez que a evolução da doença se dá de forma lenta e progressiva, este câncer é facilmente detectável e curável, acomete potencialmente mulheres com maior vulnerabilidade social (SUNG *et al.* 2020).

O principal precursor do câncer de colo de útero é o Papilomavírus Humano (HPV), que corresponde a mais de 95% dos cânceres cervicais (SUNG *et al.* 2020). Há mais de 150 tipos de HPV que variam entre potenciais de infecção de pele e mucosas (INCA, 2021). Deste modo, podem ser associados a lesões epiteliais, papilomas laríngeos e em casos menos comuns outras regiões da cabeça e pescoço, como conjuntiva dos olhos, seios nasais e amígdalas (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010). O HPV é uma infecção comum e são associados a várias condições clínicas, que variam entre condições assintomáticas, benignas ou malignas, mais comuns no trato anogenital (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; HARDEN & MUNGER, 2016). Por se tratar de um vírus de transmissão sexual, sua ocorrência é mais frequente na população sexualmente ativa, tendo acometimento para ambos os sexos e associados a verrugas e câncer anogenital (MARTINS, *et al.* 2012; INCA, 2021).

As lesões devidas à infecção por HPV se iniciam devido a feridas ou traumas epiteliais, seguido pela infecção de uma célula tronco basal (DOORBAR, 2015; HARDEN & MUNGER, 2017). Diante disso, a maioria das neoplasias do colo uterino, cerca de 90% dos casos, surgem na junção escamo-colunar (JEC), conhecida também como zona de transformação (INCA, 2021; HARDEN & MUNGER, 2017). Esta área apresenta a transição e substituição celular entre células do epitélio colunar e o epitélio escamoso metaplásico (INCA, 2021). Este processo é a metaplasia escamosa, que consiste na adaptação das células do epitélio colunar (endocérvice), durante a transformação, as células estão mais sensíveis à infecção pelo vírus do HPV (INCA, 2021; CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010). Dessa maneira, o câncer do

colo útero possui uma correlação com a infecção do vírus do HPV (SUNG *et al.* 2020; INCA, 2021).

A evolução das lesões para o câncer cervical é a infecção persistente do vírus do HPV (PRA *et al.* 2021). Para isso, o vírus precisa infectar a camada basal das células tronco epiteliais (HARDEN & MUNGER, 2017). Na maioria dos casos por infecções cervicais por HPV, as lesões sejam benignas ou pré-cancerosas são transitórias (SUNG *et al.* 2020). A prevalência e distribuição do HPV nas neoplasias cervicais depende do hospedeiro e localização geográfica (BASU *et al.* 2009). Bem como, a fatores relacionados ao próprio vírus do HPV, como, o tipo (baixo ou alto risco), carga viral, infecção única ou múltipla, também como, deficiências no sistema imunológico, fatores genéticos, tabagismo, início precoce da atividade sexual, múltiplos parceiros sexuais e/ou uso de contraceptivos orais de uso prolongado (SUNG *et al.* 2020; PRA *et al.* 2021; INCA 2021). Ademais, apresenta correlação com a faixa etária, com maior frequência do HPV de baixo risco para mulheres com idade entre 25 e 35 anos e a partir de 36 anos a maior incidência para o alto risco (PRA *et al.* 2021; INCA 2021). Para mulheres com menos de 30 anos as lesões tendem a regredir espontaneamente e acima dessa idade a persistência do vírus é mais frequente (INCA, 2021).

Em vista disso, tais lesões podem evoluir de maneira crônica para o câncer cervical invasivo quando associados aos HPVs de alto risco, ou oncogênicos (SUNG *et al.* 2020; SOLARES *et al.* 2015; MARTINS *et al.* 2012). Desta forma, tem o potencial de surgimento de lesões precursoras, como lesão intraepitelial de alto grau ou adenocarcinoma *in situ* (INCA, 2021). Estima-se que 80% das mulheres adquirem o vírus ao longo de suas vidas e 32% correspondem aos tipos 16, 18 ou ambos (SANJOSÉ *et al.* 2007). O câncer de colo uterino (CCU) é considerado a segunda neoplasia mais frequente para população feminina, sendo que a primeira é o câncer de mama (PRA *et al.* 2021). Também é associado a uma alta taxa de mortalidade (PRA *et al.* 2021). Ainda assim, o câncer de colo de útero é considerado preventivo e um problema de saúde pública (SUNG *et al.* 2020; PRA *et al.* 2021). Devido à evolução lenta desta neoplasia e os estágios bem definidos, existe possibilidade de cura quando há o diagnóstico precoce (PRA *et al.* 2021; INCA 2021).

Através da implementação de medidas de controle abrangente, é possível a prevenção do câncer de colo de útero (SUNG *et al.* 2020). A medida de prevenção primária, sugerida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), é por meio da vacinação contra o vírus do HPV para meninas entre 9 e 14 anos de idade e pessoas imunodeprimidas (SUNG *et al.* 2020; WHO, 2017). A prevenção secundária corresponde ao *down-staging* ou diagnóstico precoce é umas

das estratégias mais simples e efetivas no rastreamento do câncer cervical, tal efetividade deve-se ao uso da citologia (WHO, 2007; SUNG *et al.* 2020; INCA 2021). Com a triagem é possível realizar o tratamento das lesões pré-cancerosas, bem como diagnosticar e tratar o câncer de colo de útero (SUNG *et al.*, 2020).

As iniciativas pioneiras para o rastreamento do câncer de colo de útero ocorreram na década de 1940, quando Georgios Papanicolaou observou células cancerígenas no esfregaço cervical (PRA *et al.* 2021; RIVOIRE, *et al.* 2001). A técnica do esfregaço é amplamente usada no rastreamento do câncer de colo uterino causadas pela persistência do vírus do HPV, através da raspagem células da ectocérvice e endocérvice do colo uterino (PRA *et al.* 2021; MARTINS *et al.* 2012). Além disso, a técnica também instituiu as classificações celulares (I, II, III, IV e V). No entanto, tais classificações foram aprimoradas até a classificação usada atualmente. Ao correlacionar a neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) com carcinoma, Richart em 1947, instituiu três classificações, os NICs (I, II e III) (RIVOIRE *et al.* 2001).

Atualmente, utiliza-se o Sistema Bethesda, o qual considera aspectos observados no grau histológico das lesões. Incorporando no diagnóstico para células escamosas e glandulares, citomorfologia sugestiva de HPV dividindo em lesões de baixo (LSIL) e alto (HSIL) graus, ressaltando o conceito de possibilidade de evolução para neoplasia invasora (BRASIL, 2012). Para rastreamento do câncer de colo uterino, no Brasil utiliza-se teste citologia oncológica, conhecida como preventivo de Papanicolau, disponibilizado pelo SUS, através da Portaria nº 874/2013 (BRASIL, 2013; MARTINS *et al.* 2012; INCA, 2021; PRA *et. al.*, 2021) que institui a Política Nacional para a Prevenção e Controle do Câncer na Rede de Atenção à Saúde das Pessoas com Doenças Crônicas no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS).

O Papanicolau se trata de um exame para o rastreamento, ou seja, para prevenção e diagnóstico do câncer de colo útero, de baixo custo e fácil aplicabilidade (STABILLE *et al.* 2012). Apesar de amplamente utilizada, a técnica do esfregaço possui limitações as quais prejudicam a análise microscópica, como a falta de homogeneidade das células, escassez ou excesso de material celular, presença de hemácias ou leucócitos, secagem e má fixação do material (SOLARES *et al.*2015). Tais falhas são ocasionadas principalmente por erros na coleta do material gerando grande número de exames insatisfatórios e/ou falso-negativos (STABILLE *et al.* 2012).

Em contrapartida, para minimizar as limitações da citologia convencional, houve o desenvolvimento da citologia em meio líquido. Proporciona melhor disposição celular sem superposição de células, gera um menor número de casos insatisfatórios e/ou falso-negativos.

Este método é mais utilizado na rede privada (PRA, *et al.* 2021). O material residual fica fixado, e permite o uso em outros testes como histoquímicos e moleculares (CARVALHO *et al.* 2020). A combinação entre citopatológico e biologia molecular desempenham um papel importante na saúde pública (FRANTZ, *et al.* 2014). Com o avanço das tecnologias moleculares, atualmente sabe-se características do vírus importantes para compreensão dos fatores epidemiológicos e biológicos.

Os Papilomas Vírus possuem DNA não cultivável e dsDNA, isto significa que contêm duas fitas de material genético (VAN DOORSLAER *et al.* 2018), com aproximadamente 8000 (pb), e um capsídeo icosaédrico, não envelopado 50-60 nm de diâmetro (MARTINS *et al.* 2012; DOORBAR, 2015). Pertencem à família *Papillomaviridae*, constituída por vírus de tropismo celular epitelial, presentes na pele e mucosa na maioria dos vertebrados (VAN DOORSLAER *et al.*, 2018). Há uma relação co-evolutiva desses vírus com seus hospedeiros, e a maioria dos vírus são espécie-específicos, ou seja, são específicos do seu hospedeiro natural e não infectam espécies estreitamente conectadas (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; DOORBAR *et al.* 2015). Possui 53 gêneros e cinco destes são tipos humanos, tendo destaque para o gênero o *Alphapapillomavirus*, associados às lesões no trato anogenital e mucosa oral, principalmente de humanos e primatas (VAN DOORSLAER *et al.* 2018).

Os HPVs mucosos são classificados em dois grupos, o baixo e alto risco (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; DUNNE & PARK, 2013). Os tipos 6 e 11, também conhecidos de baixo risco ou não oncogênicos, o primeiro é relacionado a verrugas genitais e o segundo a papilomatose respiratória recorrente (PRR) (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; DUNNE & PARK; 2013; DOORBAR, 2015). Outros tipos para o baixo risco são os tipos 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 (MARTINS *et al.* 2012). Para os oncogênicos ou alto risco, as lesões podem progredir para especialmente ao câncer do colo de útero, e também como, cânceres vaginais, penianos, anais, e da orofaringe, associados os tipos 16, 18, 51, 53 (PRA *et al.*, 2021; CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; DUNNE & PARK, 2013). Além dos tipos 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 68, 73 e 82 também são considerados oncogênicos (MARTINS *et al.* 2012; PRA *et al.* 2021).

A classificação dos tipos de vírus consiste no sequenciamento e caracterização filogenética (VAN DOORSLAER *et al.* 2018; CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010). Considera-se a sequência múltipla global ou alinhamentos aos pares dos genes L1 e relação sequencial dos nucleotídeos E1, E2, L1 e L2 (VAN DOORSLAER *et al.* 2018). O parâmetro utilizado envolve mais de 10% de diferença no DNA para considerar cada genótipo, quando há

uma similaridade de 80-90%, estes são considerados membros da mesma espécie (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010). As infecções iniciam-se através de micro lesões (MARTINS *et al.*, 2012). E para replicação do DNA viral apenas uma fita é utilizada como molde para transcrição, possui quadros de leitura aberta ou *open reading frames* (ORFs) (HARDEN & MUNGER, 2017).

A transcrição ocorre no sentido 5'-3' ou em sentido circular horário (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010). A expressão do gene do papilomavírus depende da poliadenilação (poli-A) e *splicing* alternativo de mRNA (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; VAN DOORSLAER *et al.*, 2018). A codificação do genoma viral possui três regiões: 1) região de controle longo (LCR) possui entre 400-700 pares de bases, ou também conhecida como região reguladora montante (URR) ou região não codificante (NCR), esta não codifica proteínas e origina a replicação do DNA, através de promotores iniciais e sítios de ligação para transcrição e potenciadores de proteínas; 2) ORFs das proteínas E (*early*), as quais são proteínas iniciais e reguladoras virais; 3) ORFs das proteínas L (*late*), a qual codifica proteínas da região tardia que formam e montam o capsídeo viral (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; HARDEN & MUNGER, 2017).

O vírus codifica de seis a nove proteínas, sendo E1 a única enzima viral e é responsável pela replicação e ampliação do cromossomo viral. E2 é uma proteína reguladora da transcrição e iniciadora da replicação e partição do DNA (HARDEN & MUNGER, 2017; VAN DOORSLAER *et al.*, 2018). E4 é normalmente expressa como uma proteína de fusão E8^{E2}, nos estágios finais do ciclo viral, podendo desempenhar a função do escape viral das camadas epiteliais (HARDEN & MUNGER, 2017). E6, E7 e provável E5 são proteínas com potencial oncogênico, estas inativam as principais proteínas que suprimem o tumor de retinoblastoma (pRB) e p53 (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010; HARDEN & MUNGER 2017; BRINGHENTI *et al.* 2010). Auxiliam na expansão das células infectadas através da expressão de proteínas virais que prolongam a duração da proliferação celular (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010).

As proteínas E6 e E7 tendem a ser essenciais para os membros do gênero *Alphapapillomavirus* (VAN DOORSLAER *et al.* 2018). Após a diferenciação celular, as proteínas L1 e L2 desempenham função estrutural no capsídeo viral, e montam o vírus, sendo a primeira maior e a segunda menor (VAN DOORSLAER *et al.* 2018; CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010). A LCR ocorre entre o início de E1 e o final de L1, contém elementos promotores (CHOW; BROKER & STEINBERG, 2010; DOORBAR, 2015). Dentre os

promotores há destaque para dois promotores principais, P1 localizado a montante do gene E6 e P3 localizado dentro do gene E7 (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010). No ciclo reprodutivo do papilomavírus, para expressão temporal do genoma viral há dependência da diferenciação completa tecidual do hospedeiro, sendo que a atividade viral é aumentada em pacientes com doenças imunossupressoras (VAN DOORSLAER *et al.* 2018; CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010).

Em âmbito de saúde pública, o gênero *Alphapapillomavirus* possui vírus associados ao câncer de colo de útero, estes possuem melhor compreensão de dados epidemiológicos e biológicos (VAN DOORSLAER *et al.* 2018; DOORBAR, 2015). Os estudos sobre estes são incentivados pela progressão de doenças malignas associadas ao HPV, principalmente ao câncer de colo útero, associado a infecção persistente dos HPVs de alto risco (DOORBAR, 2015). Os testes moleculares auxiliam na tomada de melhores medidas eficazes para compreensão do vírus e as respostas do hospedeiro (CHOW, BROKER & STEINBERG, 2010).

Quando aplicados ao estudo do HPV atuam na prevenção primária e secundária contra o câncer de colo de útero (CARVALHO *et al.* 2020). Por meio da identificação da presença do vírus, mesmo em pacientes assintomáticos, pode separá-los em vírus de alto e baixo risco, colaborando para classificar os tipos associados ao câncer de colo de útero (BASU *et al.* 2009; CARVALHO *et al.*, 2020). Visto que, condições assintomáticas são suspeitas por alterações celulares e identificadas apenas pela detecção da presença do vírus no DNA celular (PRA *et al.*, 2021). Os tipos 16 e 18, estão frequentemente associados a riscos oncogênicos, logo, ao câncer de colo de útero (BASU *et al.*, 2009). Portanto, a utilização de testes moleculares subsidia maior precisão nos métodos de rastreio (PRA *et al.* 2021).

Diversos métodos são empregados na detecção do vírus HPV no DNA, como por exemplo a Captura Híbrida (CH), hibridização em fase sólida (*microarrays*), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (CARVALHO *et al.* 2020; PRA *et al.* 2021; FRANTZ *et al.* 2014). Estes métodos detectam e mensuram a expressão gênica das proteínas E6 e E7, as quais são consideradas marcadores precoces de câncer (BRINGHENTI *et al.* 2010). Estão associadas a carcinogênese do vírus do HPV, pois se unem as proteínas p53 e pRB e as inativam, estas desempenham função de supressão de tumor (BRINGHENTI *et al.* 2010; HARDEN & MUNGER, 2017). Em Santa Catarina com a utilização do método de CH, têm-se estudos em Florianópolis (ZAMPIROLO, MERLIN & MENEZES, 2007; FREDIZZI *et al.* 2008), Criciúma e Araranguá (SOUZA, 2022).

Ainda em Santa Catarina, há estudos utilizando o método de PCR, como Martins *et al.* (2012), que identificou a prevalência dos tipos de HPV em Florianópolis. Golfetto *et al.* (2018), o qual faz comparação entre os métodos de PCR-RDLP e *Microarray PapilloChecks*, e a prevalência dos tipos de HPV em ambos os métodos no oeste do estado. Ainda, para o oeste Frantz *et al.* (2014) detectaram a presença e prevalência do HPV e a comparação com resultados citológicos. Ao norte do estado, Silva *et al.* (2015) traz comparação da frequência entre PCR e CH, com correlações clínicas e citológicas. Para o Sul do Brasil (RS) Bringhenti *et al.* (2010) avaliam resultados de citologia oncótica e expressão gênica das proteínas E6 e E7 do vírus do HPV.

O PCR é um método de síntese de nucleotídeos em sequências gênicas da região L (*late*) do HPV, como iniciadores (*primers*) e replicação do DNA (SILVA *et al.* 2015-2). Amplifica regiões específicas para cada tipo de vírus, comumente as regiões E6 e E7 (BRINGHENTI *et al.* 2010). Trata-se de um método mais complexo que CH, uma vez que além de identificar a presença do vírus, permite tipar e quantificar a carga viral (SILVA, *et al.* 2015-2). Devido a sua complexidade são testes mais custosos (SILVA, *et al.* 2015). E estudos têm avaliado possibilidade, destes métodos serem aplicados na triagem em relação a citologia (MARTINS *et al.*, 2012; PRA *et al.* 2021). Pressupõe-se o aprimoramento no rastreamento do CCU, com a aplicabilidade da genotipagem do HPV na detecção do NIC (HARDEN & MUNGER, 2017).

De mesmo modo, há aplicabilidade em conjunto com a citologia para o rastreio de ASC-US (SILVA *et al.* 2015-2). Sendo assim, pertinentes na identificação de mulheres com potencial para desenvolvimento de lesões pré-cancerosas (SILVA *et al.* 2015; CARVALHO *et al.* 2020). E, portanto, contribuem como métodos complementares no seguimento médico e tratamento de lesões introduzidas pelo HPV (CARVALHO *et al.* 2020). Além de subsidiar no desenvolvimento de vacinas eficazes contra o vírus (BASU *et al.* 2009). Ressalta-se a seguridade da vacina na atuação preventiva para pessoas ainda não infectadas pelo vírus, no entanto, não protege contra todos os tipos de HPV (HARDEN & MUNGER, 2017).

A constante otimização da biologia molecular na análise e detecção do HPV acarretam significativos aperfeiçoamentos nas técnicas de triagem, tratamento e prevenção da infecção pelo HPV (BASU *et al.* 2009; HARDEN & MUNGER, 2017). Da mesma forma que, a compreensão das vantagens e limitações dos métodos subsidiam a efetivação do modelo para o SUS, visto que atualmente é restrito à rede privada (PRA *et al.* 2021). Portanto, o presente estudo objetiva identificar os tipos mais prevalentes de HPV identificados por método de PCR em exames de citologia em meio líquido, no período de 2019 a 2022, em um laboratório de

anatomia patológica que atende à região sul e serrana do estado de Santa Catarina, a fim de contribuir para que este estudo sirva de subsídio para a construção de uma linha de cuidado integral para a prevenção do câncer cervical.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Verificar através de dados secundários a prevalência dos tipos de HPV por meio da PCR reversa (*flow chip*) em citologias de meio líquido cervico-vaginais, em um laboratório de anatomia patológica que atende à região sul e serrana do estado de Santa Catarina, no período de 2019 a 2022.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a prevalência dos tipos de HPV identificados por meio da PCR reversa (*flow chip*)
- Averiguar a idade média das pacientes com teste positivo para HPV
- Correlacionar a incidência de lesão intraepitelial de baixo grau com teste positivo para HPV de alto risco
- Correlacionar a incidência de lesão intraepitelial de alto grau com teste positivo para HPV de alto risco

2 METODOLOGIA

2.1 NATUREZA E TIPO DE PESQUISA

Trata-se de um estudo transversal descritivo de caráter retrospectivo que foi realizado com a utilização de dados clínicos secundários.

2.2 PROCEDIMENTOS UTILIZADOS NA COLETA DE DADOS E POPULAÇÃO DE ESTUDO

Para o presente estudo foram coletados dados clínicos secundários, de pacientes que realizaram exames de rotina com indicação de hibridização para infecção por HPV, no período de 2019 a 2022, em um laboratório de anatomia patológica no município de Tubarão (Santa Catarina), por meio do Sistema Patho Web®. A busca foi realizada através de prontuário eletrônico, executado manual e exclusivamente pelas pesquisadoras. O sistema Patho Web® é utilizado na rotina do próprio laboratório, e permite a busca de dados conforme o tipo de exame e a sua data de realização. Diante disso, os critérios de inclusão serão, mulheres com idade igual ou superior a 18 anos, que realizaram o exame de biologia molecular para detecção da infecção por HPV, através de amostras cérvico-vaginais em solução de base líquida. Os critérios de exclusão serão exames repetidos e cancelados, exames liberados após 6 meses da coleta, exames de detecção da infecção por HPV a partir de amostras de tecidos (biópsias). O intervalo temporal para obtenção dos dados foi julho de 2019 até dezembro de 2022. Foram analisados fatores como, a idade e a região de residência da paciente; o mês e o ano da entrega do exame; os resultados dos exames citologia em meio líquido e os resultados da biologia molecular do HPV, aceitando intervalo de até 6 meses para os dois exames. As informações coletadas estabeleceram variáveis numéricas: idade da paciente e data de entrega do exame; e variáveis qualitativas: cidade de residência, resultado do exame cérvico-vaginal e resultado do teste molecular.

2.3 PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE DE DADOS

Para análise dos dados obtidos através dos instrumentos de coleta, foi elaborado um banco de dados através de tabelas, com a utilização do programa Excel 2019 (*Microsoft Corp.*, Estados Unidos). A análise estatística foi pelo SPSS *Statistics* 29.0®, as variáveis foram descritas por

meio de taxas, proporções e razões, e apresentadas através de gráficos e tabelas. A coleta de dados teve início após autorização do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UNISUL.

2.4 PROCEDIMENTOS UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO DOS TIPOS HPV

Os critérios para obter os resultados deste estudo, foram os resultados dos exames submetidos a PCR reversa (*flow chip*) para identificação do vírus do HPV, que foram realizados por meio amostras cérvico-vaginais em solução de base líquida. O teste utilizado pelo laboratório na identificação dos tipos de HPV, segue os seguintes passos descritos a seguir. Para cada amostra a ser analisada, são pipetadas 400 µl de amostra contida de solução de base líquida e acondicionadas em tubo eppendorf, sendo centrifugados a 1000 rpm por 1 minuto, para concentração do material, e é descartado o sobrenadante. São adicionados 400 µl de água destilada, e por fim centrifugado a 1000 rpm por 1 minuto. Em seguimento são adicionados 300 µl de água destilada, e a solução é homogeneizada no vortéx. Por fim, são pipetados 30 µl de amostras e dispostos no kit Master mix. Para análise das amostras o laboratório dispõe do equipamento HS12A – Hybrispot12 PCR Auto (VIT-HS12A), plataforma automatizada. Este aparelho utiliza a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) Multiplex, utiliza iniciadores (*primers*) de sequências da região L1 do DNA do HPV, para amplificação do DNA viral, seguido por hibridização reversa (*Dot Blot*) através do vácuo vertical e temperaturas controladas, com sondas específicas de DNA imobilizadas em um chip que é composto por membrana de nylon (Tecnologia *Flow Chip*). Compreende um teste de alta sensibilidade analítica (5-50 cópias virais) para detecção e genotipagem de 35 tipos de HPV nos seguintes grupos: alto risco oncogênico (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73,82) e baixo risco oncogênico (06, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 84, 89)

2.5 CLASSIFICAÇÃO DOS ACHADOS CITOLÓGICOS

Os resultados citológicos foram classificados de acordo com o Sistema Bethesda 2001, que: negativo para lesão intra-epitelial ou neoplasia maligna (NILM), células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US), células escamosas atípicas não podendo ser excluída HSIL (ASC-H), lesão intra-epitelial escamosa de baixo e alto grau (LSIL e HSIL

respectivamente), células glandulares atípicas de significado indeterminado (AGC-SOE), Cervicite crônica contendo metaplasia escamosa e alterações coilocitóticas sugestivas, porém não conclusivas, de ação viral (HPV). O método utilizado na triagem foi Ao partir da solução completa de citologia em meio líquido GynoPrep para amostras ginecológicas e não ginecológicas.

2.6 ASPECTOS ÉTICOS

Foi obtida a autorização do responsável pela instituição onde para esse estudo ser realizado e do guardião dos prontuários. A presente pesquisa foi encaminhada para avaliação do Comitê de Ética em pesquisa (CEP-UNISUL) que fez uma análise do contexto em que a pesquisa está inserida e todos os documentos apresentados juntamente ao projeto. Este projeto foi aprovado sob parecer ético 6.037.924.

Não houve contato pessoal com os pacientes, pois este estudo utilizou para coleta de dados os prontuários acessados de forma on-line, através de uma senha pessoal. Em conformidade com a lei 13.709 – Lei Geral de Proteção de dados, não acessamos dados pessoais dos pacientes, usando somente dados clínicos. Também não tivemos acesso às rotinas das agendas de consulta e exame dos pacientes em atendimento de forma presencial, inviabilizando a assinatura do TCLE. Além disso, foram tomados todos os cuidados, conforme a Resolução CNS 466/2012 e os pesquisadores envolvidos garantem a manutenção do sigilo e da confidencialidade que exige toda a pesquisa envolvendo seres humanos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo em questão realizou a pesquisa da presença dos tipos de HPV de alto e baixo risco, em material de meio líquido, utilizando prontuário de rotina de pacientes. A amostra total foi composta por 626 exames relativos à genotipagem do HPV. É relevante ressaltar que a amostra de mulheres participantes deste estudo é apenas uma pequena parte da população total de mulheres que realizam o exame de citologia em meio líquido. Foram selecionados para este estudo apenas os casos que houveram indicação clínica para a realização da hibridização do HPV. Da amostra total, apenas um apresentou resultado inconclusivo, o qual foi desconsiderado da análise. O período de aceitação compreendeu 4,6% da amostra em 2019, 19,2% da amostra em 2020, 24,2% da amostra em 2021 e 52% da amostra. Os anos de 2019 e 2020 corresponderam a números mais baixos, devido ao processo de implementação do exame. Foi considerado somente os casos válidos para análise da amostra.

O estudo utilizou a técnica de PCR reversa (*flow chip*) para a detecção do HPV em material de meio líquido, que apresenta a vantagem do grande potencial para a detecção de níveis muito baixos de carga viral em células e tecidos e identificação de um grande número de tipos de HPV (BRINGHENTI *et al.* 2010). Este estudo trata-se transversal descritivo e retrospectivo, apresenta um valor amostral superior a alguns estudos utilizados como referência. Isso se deve, em parte, ao fato de muitos desses estudos terem uma população de mulheres limitada devido ao uso de outros métodos de pesquisa. Dentre os estudos realizados estudos em Santa Catarina com amostras de mulheres para analisar a presença dos tipos de HPV utilizando diferentes métodos de análise. Krambeck *et al.* (2008) analisaram 100 mulheres utilizando o ensaio *Hybrid Capture 2*; Frantz *et al.* (2014) analisaram 496 mulheres por meio de PCR-Multiplex; Golfetto *et al.* (2018) analisaram 325 mulheres também por meio de PCR-Multiplex; Fredizzi *et al.* (2022) analisaram 20.000 mulheres utilizando os métodos de captura híbrida e reação em cadeia da polimerase (PCR); 162 mulheres por Martins *et al.* (2012) com o método da PCR convencional.

Tabela 1 – Distribuição da realização do exame de genotipagem de HPV ao longo do período amostra.

ANO	Frequência	Porcentagem válida
2019	29	4,60%
2020	120	19,20%

2021	151	24,20%
2022	325	52,00%
Total	625	100,00%

Fonte: a autora

Neste estudo, a faixa etária de mulheres envolvidas variou entre os 18 e os 90 anos, sendo a média de idades de 35 anos (35,25), o desvio padrão de 11,42%. A média de idade foi similar aos resultados de FREDIZZI *et al.* (2022), que encontrou uma média a 34,1 anos na região serrana Santa Catarina, mas dissemelhante aos achados para Oeste e região central do estado, que corresponderam a 37 anos (GOLFETTO *et al.* 2018; FREDIZZI *et al.* 2022). Outros estudos em diferentes regiões do Brasil, encontraram médias de idade que variaram de 31,7 a 34 anos (SAMPAIO, 2015; ENTIUASPE *et al.* 2014, PAESI *et al.* 2015; TEIXEIRA *et al.* 2016; OLIVEIRA *et al.* 2013). Do valor total dos exames analisados (625), 50,3% (315) corresponderam ao resultado negativo e 49,5% (310) resultado positivo para presença do vírus do HPV. O resultado obtido neste estudo é superior ao obtido em um estudo realizado no extremo oeste do estado de Santa Catarina, que foi de 12% em 63 amostras de um total de 496 (FRANTZ *et al.* 2008).

No Rio Grande do Sul, a prevalência do resultado HPV positivo é bem documentada, estudos mostraram infecção por HPV em 29,9% em 75 amostras (ENTIUASPE *et al.* 2014); 52,0% em 130 amostras (PAESI *et al.* 2015); 27,5% em 55 de 200 mulheres (TEIXEIRA *et al.* 2016). Em outros dois estudos realizados no Rio Grande do Sul, Ruggeri *et al.* (2015) encontrou positividade para HPV em 100% dos casos com a amostra de 25 mulheres, sendo que as cepas de alto risco foram relatadas em 80,0% das mulheres. Ainda, no Rio Grande do Sul Oliveira *et al.* (2013) observou uma prevalência de 18,2% em 55 pacientes dos Ambulatórios de Ginecologia e Obstetrícia e em Unidades Básicas de Saúde. Na região Norte, Noronha *et al.* (2011) realizaram um estudo de triagem em 1.021 mulheres na cidade de Belém e observaram uma prevalência de HPV de 22,3%. Em outro estudo realizado no estado do Pará, a prevalência da infecção pelo HPV nas comunidades em áreas rurais variou de 7,0% a 29,2% num total de 516 amostras (PINHEIRO *et al.* 2016). Já em um município do Nordeste, Almeida *et al.* (2015) verificaram uma prevalência de 10,68% em uma amostra de 103 mulheres.

A idade média das mulheres com resultado positivo (Tabela 2) foi de 33 anos. Além disso, a média de idade para pacientes com alto e baixo risco, bem como para aqueles com coinfeção por mais de um tipo de vírus de HPV, foi também de 33 anos. Esses resultados são

semelhantes à média de idade encontrada por Sampaio (2015) para positividade do teste do HPV na região nordeste do Brasil. A maior taxa de infecção deu-se na faixa etária dos 28 aos 32 anos, que corresponderam a 24, 3% do valor da amostra. No entanto, para Fredizzi *et al.*(2022) a maior prevalência de infecção por HPV foi observada em mulheres jovens, especialmente na faixa etária entre 20 aos 25 anos em uma amostra de 20.000 mulheres. Tais resultados podem ser explicados devido a esta faixa ser mais ativa sexualmente.

Tabela 2 – Idade média de mulheres com teste positivo para HPV

RESULTADO HPV	IDADE	
Positivo	Média	33
	Máximo	78
	Mínimo	18
	Desvio padrão	11

Fonte: a autora

Entre as variáveis demográficas associadas aos resultados do teste de HPV (Tabela 3), foram analisadas as localidades de procedência dos exames, ou seja, clínica ou ambulatório do médico (a) solicitante. As localidades com maior significância foram oriundas da região Sul (Tubarão, Braço do Norte, Imbituba) e Região Serrana (Orleans e Lages), com porcentagens equivalentes a 32,4% e 31,4% dos casos negativos e positivos, respectivamente, para região Sul e 16,3% e 17,1% dos casos negativos e positivos, nessa ordem para região Serrana. A região Oeste (Jaraguá do Sul), Extremo Sul (Sombrio) e Região da Grande Florianópolis (Tijucas e Florianópolis) corresponderam o valor total 2,7% dos casos. Consequentemente, tal resultado deve-se a maior abrangência de clínicas e médicos atendidos, nas regiões Sul e Serrana. Por outro lado, Fredizzi *et al.* 2022 obteve uma frequência de 58,9% casos positivos na região serrana, apesar do menor número de amostras (n=39).

Tabela 3 – Número e porcentagem dos casos positivos e negativos em relação a localidade

LOCALIDADE	Resultado do HPV em relação a localidade			
	NEGATIVO		POSITIVO	
	Contagem	% de N da tabela	Contagem	% de N da tabela
Região Sul	202	32,40%	197	31,50%
Região Serrana	102	16,30%	107	17,10%
Região Oeste	1	0,20%	3	0,50%

Extremo Sul	6	1,00%	3	0,50%
Região da Grande Florianópolis	3	0,50%	0	0,00%

Fonte: a autora

Os tipos de HPV pesquisados representam os mais frequentes, segundo os dados da Organização Mundial de Saúde (KURMAN; CARCANGIU & HERRINGTON, 2014). Os tipos de HPV de alto risco analisados são apresentados na Tabela 4. No grupo de tipos de HPV de alto risco (Tabela 4) os tipos mais frequentes na amostra foram HPV-16 (8%), HPV-52 (7,04%), HPV-56 (4,8%), HPV-35 (5,12%) e HPV-68 (4,64%). Os menos frequentes representaram HPV-26 (0,8%) e HPV-58 (0,96%). Para elucidar a frequência dos tipos de HPV de alto risco analisados, foi elaborado um gráfico (Figura 1) com base na frequência em relação ao valor total da amostra. Os tipos mais frequentes foram HPV-16 (50,0), HPV-52 (44,0), HPV-56 (30,0) e HPV-68 (59,0). Os menos frequentes representaram HPV-26 (5,0) e HPV-58 (6,0).

A maior frequência do genótipo HPV-16 está de acordo com estudos realizados em Santa Catarina (KRAMBECK, *et al.* 2008; FRANTZ *et al.* 2014, GOLFETTO *et al.* 2018; FREDIZZI *et al.* 2022.), Rio Grande do Sul (ENTIAUSPE *et al.* 2014; PAESI *et al.* 2015; TEIXEIRA *et al.* 2015; OLIVEIRA *et al.* 2013) e Bahia (BRUNO *et al.* 2014), e é conhecido por estar associado a um alto risco de câncer cervical. O HPV-52 também foi observado como um dos mais frequentes em um estudo em Santa Catarina e no Pará, enquanto o HPV-56 apresentou maior incidência na Bahia (GOLFETTO *et al.* 2018; PINHEIRO *et al.* 2016; BRUNO *et al.* 2014). A presença do HPV 52 tem sido relatada como um dos tipos predominantes relacionado ao câncer de colo uterino (PAESI *et al.* 2015).

Tabela 4 – Frequência absoluta, frequência relativa e Frequência relativa % por HPV de alto risco.

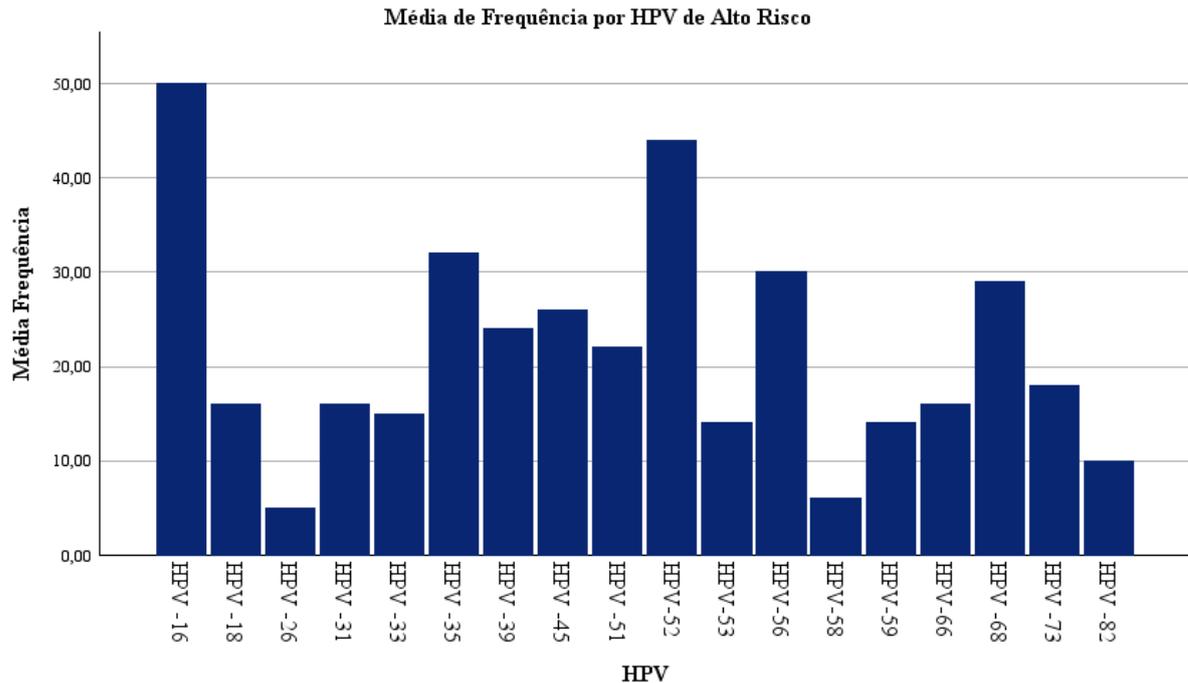
Prevalência do HPV de Alto Risco			
Tipo de HPV	Frequência absoluta	Frequência relativa	Frequência relativa %
HPV -16	50	0,08	8,00%
HPV -18	16	0,0256	2,56%
HPV -26	5	0,008	0,80%
HPV -31	16	0,0256	2,56%
HPV -33	15	0,024	2,40%
HPV -35	32	0,0512	5,12%
HPV -39	24	0,0384	3,84%

HPV -45	26	0,0416	4,16%
HPV -51	22	0,0352	3,52%
HPV-52	44	0,0704	7,04%
HPV-53	14	0,0224	2,24%
HPV-56	30	0,048	4,80%
HPV-58	6	0,0096	0,96%
HPV-59	14	0,0224	2,24%
HPV-66	16	0,0256	2,56%
HPV -68	29	0,0464	4,64%
HPV -73	18	0,0288	2,88%
HPV -82	10	0,016	1,60%

Fonte: a autora

Para o HPV-35 os resultados mostram-se similares ao de Golfetto *et al.* (2018). A incidência do HPV 68 neste estudo foi menor do que a observada em um outro estudo anterior em Santa Catarina, que correspondeu a (8,8%) (GOLFETTO *et al.* 2018) e superior ao encontrado no Rio grande do Sul (n=9) que correspondeu a 3,6% (PAESI *et al.* 2015). Apesar da baixa frequência do genótipo HPV-58 para este estudo, em estudos nas comunidades do estado do Pará foi uns dos genótipos mais representativos (NORONHA *et al.* 2011; PINHEIRO *et al.* 2016). Sendo este um tipo encontrado frequente em lesões intraepiteliais de alto e baixo grau (OLIVEIRA *et al.* 2013). Já o HPV-18 é considerado um dos mais prevalentes em Santa Catarina e no Brasil, de acordo com estudos realizados por Frantz *et al.* (2014), Paesi *et al.* (2015), Fredizzi *et al.* (2022), Entiuaspe *et al.* (2014), Teixeira *et al.* (2016). Para um estudo no Rio Grande do Sul a prevalência do HPV-58 (17,0%) foi superior ao HPV 18 (8,5%) (OLIVEIRA *et al.* 2013). No entanto, para este estudo em questão, o HPV-18 não foi tão representativo.

Figura 1 – média de frequência por HPV de Alto Risco



Fonte: a autora

Os tipos de HPV de baixo risco avaliados estão apresentados na Tabela 5. Obteve-se maiores valores de frequência para HPV-62 (7,36%), HPV-81 (7,04%) e HPV-42 (4,16%), e menores HPV-11(0,32%) e HPV-69 (0,16). A presença do HPV-70 não foi detectada em nenhum caso da amostra. Foi elaborado um gráfico (Figura 2) com base na frequência em relação ao valor total da amostra. O HPV-62 (46,0) e HPV-81 (44,0), e menores HPV-11 (2,0) e HPV-69 (1,0). A maior incidência do HPV-62 corrobora com um estudo em Santa Catarina realizado por Golfetto *et al.* (2018), no entanto, a incidência deste estudo é superior. Os achados deste estudo também corroboram com o estudo de Bruno *et al.* (2014) para a Bahia, onde o HPV-42 apresentou uma frequência de 15,7%, e quando referente ao HPV-11 foram semelhantes, com baixa frequência. Apesar da baixa frequência do genótipo HPV-11, para o estado Rio Grande do Sul foi um dos mais predominantes (8,8%) (PAESI *et al.* 2015).

Ainda que ausente neste estudo, apesar de baixa, a presença do HPV-70 em 1,3% do valor da foi documentada no Rio Grande do Sul e neste mesmo estudo 2,7% dos genótipos foi do HPV-81 (ENTIUASPE *et al.* 2013). O HPV-6 é um dos tipos mais comuns e é responsável por condilomas (OLIVEIRA *et al.* 2013), contudo para este estudo a presença foi inferior a 3% do valor da amostra. É importante destacar que, embora o risco de HPV de baixo não esteja diretamente relacionado ao desenvolvimento de câncer cervical, ele pode causar outras condições, como verrugas genitais. Além disso, a presença de HPV de baixo risco pode

indicar uma maior probabilidade de infecção por HPV de alto risco, que está associada ao desenvolvimento de câncer cervical (BRINGHENTI *et al.* 2010).

Tabela 5 - Frequência absoluta, frequência relativa e Frequência relativa % por HPV de baixo risco.

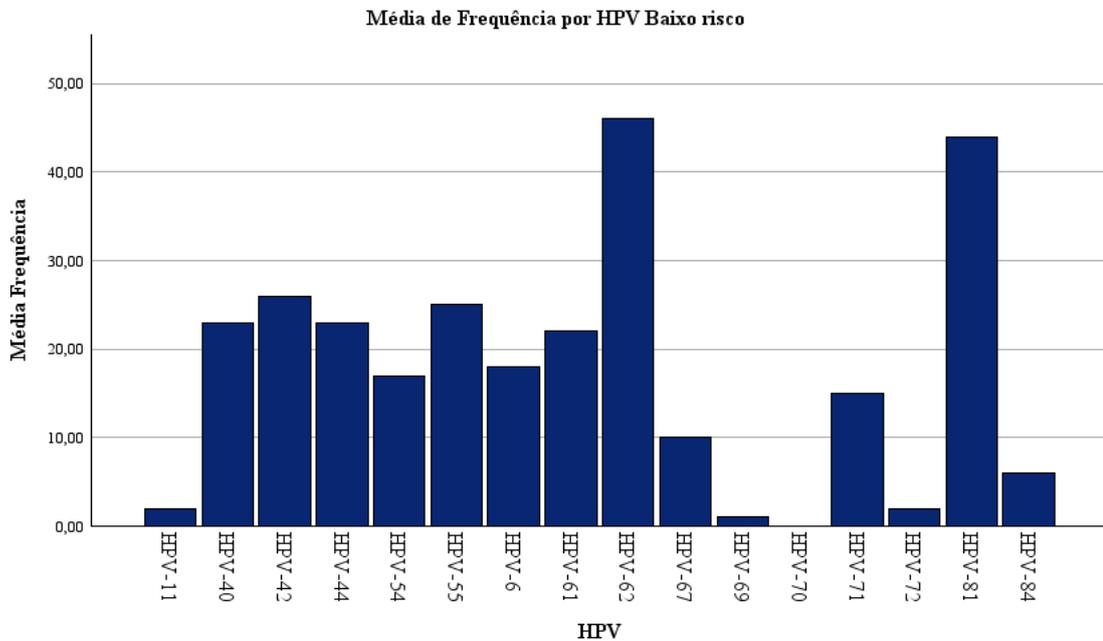
Prevalência do HPV de Baixo Risco			
Tipo de HPV	Frequência absoluta	Frequência relativa	Frequência relativa %
HPV-6	18	0,0288	2,88%
HPV-11	2	0,0032	0,32%
HPV-40	23	0,0368	3,68%
HPV-42	26	0,0416	4,16%
HPV-44	23	0,0368	3,68%
HPV-54	17	0,0272	2,72%
HPV-55	25	0,04	4,00%
HPV-61	22	0,0352	3,52%
HPV-62	46	0,0736	7,36%
HPV-69	1	0,0016	0,16%
HPV-70	0	0	0,00%
HPV-71	15	0,024	2,40%
HPV-72	2	0,0032	0,32%
HPV-81	44	0,0704	7,04%
HPV-84	6	0,0096	0,96%

Fonte: a autora

Na amostra, obteve-se ainda a média de frequência para Positivo Sonda Universal foi de 19,0, o que representa 3% do valor da amostra. Essa condição é identificada quando a pesquisa para os tipos virais do HPV de alto e baixo risco resulta negativa, mas há amplificação para a família Papillomaviridae, indicando a presença de um tipo viral raro (KURMAN; CARCANGIU & HERRINGTON, 2014). Epidemiologicamente, tipos raros são mais frequentemente de baixo risco. No entanto, a clínica testada, pode-se dosar as proteínas E6 e E7 para melhor análise do grupo de risco deste tipo viral raro (KURMAN; CARCANGIU & HERRINGTON, 2014). Portanto, um resultado positivo não significa necessariamente que a pessoa tenha câncer cervical, mas indica que ela está infectada com o vírus. No entanto, em alguns casos, a infecção pode persistir e levar ao desenvolvimento de lesões pré-cancerosas ou câncer cervical. Por isso, é importante que as mulheres com resultado positivo no teste de HPV

por Sonda Universal sigam as recomendações do seu médico para fazer exames de acompanhamento e tratamento, se necessário (WHO, 2021).

Figura 2 – Média de frequência por HPV de baixo risco.



Fonte: a autora

Um aspecto importante deste estudo foi a observação de que 26,4% dos exames positivos apresentaram coinfeção por mais de um tipo de HPV, variando entre 2 a 12 tipos em cada caso. Os resultados estão descritos na Tabela 6. Paesi *et al.* observaram que 19,2% (n=25) da amostra de 130 casos positivos tiveram infecção por apenas um tipo, e 80,8% (n=105) apresentam infecção por múltiplos genótipos de HPV. A infecção simultânea por vários tipos de HPV pode aumentar o risco de desenvolvimento de lesões pré-cancerígenas e câncer cervical, além de dificultar o diagnóstico e tratamento (SANJOSÉ *et al.*, 2010). Por isso, é crucial que os programas de prevenção e controle do HPV incluam estratégias para identificar e tratar a coinfeção por múltiplos tipos de HPV, especialmente em mulheres com lesões cervicais pré-cancerígenas ou câncer cervical. Além disso, a vacinação contra o HPV pode prevenir a infecção por diversos tipos de HPV, tolerando o risco de complicações graves (FREDIZZI *et al.*, 2022).

Tabela 6 - Incidência de casos positivos relativos à infecção e coinfeção por HPV

Incidência de casos positivos relativos a infecção e coinfeção por HPV			
Casos positivos	Nº de casos	Frequência relativa	%
Coinfecção	165	0,264	26,40%
Infecção	145	0,232	23,20%
Total	310	0,496	49,60%

Fonte: a autora

Com relação aos resultados prévios de citologia, considerando o valor total da amostra 66,1 % foram avaliadas como ASC-US e 6,1% como ASC-H. Apenas um caso não tivemos acesso ao resultado prévio da citologia. Uma citologia (0,2%) foi classificada como Cervicite crônica contendo metaplasia escamosa e alterações coilocitóticas sugestivas, porém não conclusivas, de ação viral (HPV). Em relação as lesões intra-epiteliais, 67 (10,7%) foram de baixo grau (LSIL) e 10 (1,6%) de alto grau (HSIL). Os resultados encontram-se descritos na Tabela 7. A maior incidência de LSIL quando comparada a HSIL foi identificada também no Rio Grande do Sul, sendo 70 (31,1%) tinham LSILs, 8 (3,6%) tinham HSIL (PAESI *et al.* 2015). Em Santa Catarina, no estudo de Martins *et al.* (2012) a prevalência do resultado LSIL e HSIL, foram menores, sendo 5,6 % e 6,1%, respectivamente. Os resultados normais (NILM) corresponderam a 14,9% (89) do valor da amostra.

As alterações morfológicas ASC-US foram altas nesse estudo, em estudos similares a proporções foram mais baixas, sendo 5,6% em Santa Catarina, 10% no Rio Grande do Sul e 4,16% Pará (MARTINS *et al.*, 2012; PAESI *et al.* 2015; PRAZERES, 2011). Esse resultado elevado deve-se a recomendação da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2021) orienta que mulheres que apresentam resultados de citologia cervical ASCUS devem realizar testes adicionais para detectar a presença do vírus do papiloma humano (HPV). Isso se deve ao fato de que o resultado de ASCUS indica a presença de células anormais no colo do útero, mas as alterações não são graves o suficiente para serem classificadas como pré-cancerosas, porém indicam várias condições diferentes, como exemplo inflamações ou alterações pelo vírus (PAESI *et al.* 2015; NCBI, 2023). ASCUS pode estar associado à infecção pelo papilomavírus humano (HPV), que é um fator de risco conhecido para o câncer cervical (NCBI, 2023).

Tabela 7 – Incidência dos achados citológicos em relação ao valor total da amostra.

Incidência em relação aos achados citológicos

Resultado citologia	Frequência	Porcentagem válida
ASC-US	413	66,1
ASC-H	38	6,1
NLIM	89	14,2
HSIL	10	1,6
LSIL	67	10,7
AGC-SOE	6	1
Cervicite crônica contendo metaplasia escamosa e alterações coilocitóticas sugestivas, porém não conclusivas, de ação viral (HPV)	1	0,2
Sem resultado prévio de citologia	1	0,2
Total	625	100

Fonte: a autora

A correlação (Tabela 8) entre os achados citológicos sugestivos de lesões intraepiteliais e o resultado da PCR. Dos 10 casos positivos para HSIL 60% (n=6) apresentaram presença de HPV de alto risco e 20% (n=2) apresentou coinfeção para HPV de alto e baixo risco. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Krambeck *et al.* (2008) em Santa Catarina, que observaram uma alta taxa de prevalência de HPV de alto risco em resultados citológicos HSIL, sendo 67% (HPV16). Em relação aos casos sugestivos de LSIL, dos 67 casos, 7,4% dos casos (n=5) foram positivos para HPV de baixo risco, 44,7% (n=30) para alto risco e 31,3 % (n=21) para coinfeção por HPV de alto e baixo risco. Para Santa Catarina Krambeck *et al.* (2008) observaram que, para as mulheres com LSIL, a prevalência de risco baixo de HPV foi de 4,5% (HPV11, HPV62 e HPV81), enquanto Frantz *et al.* (2008) encontraram que 8,3% dos casos foram associados a um risco baixo de HPV.

Em um estudo em Florianópolis (Santa Catarina) 100% dos casos de HSIL e LSIL foram associados com a presença do vírus HPV (MARTINS, *et al.* 2012). Em Fortaleza, Sampaio (2015) observou que 82% dos casos de LSIL foram associados com resultado citológico LSIL e 83% dos casos positivos para alto grau foram associados ao achado citológico HSIL. Esses resultados reforçam a importância da detecção precoce do HPV por meio da realização de exames citológicos e moleculares, como a PCR, para prevenir o desenvolvimento de lesões intraepiteliais e câncer do colo do útero.

O resultado de Cervicite crônica contendo metaplasia escamosa e alterações coilocitóticas sugestivas, porém não conclusivas, de ação viral (HPV), resultou negativo para presença de HPV. A cervicite crônica é uma inflamação crônica do colo do útero que pode ser causada por várias infecções, inclusive por HPV (JAYAKUMAR, 2015). A metaplasia

escamosa é uma alteração celular que pode ocorrer no colo do útero em resposta à inflamação crônica. As alterações coilocitóticas são alterações celulares que podem ser vistas em amostras de tecido cervical e são sugestivas de infecção por HPV (JAYAKUMAR, 2015). No entanto, é importante notar que essas alterações coilocitóticas não são conclusivas para a presença de infecção por HPV, pois outras condições também podem causar essas alterações. Portanto, é necessário realizar testes adicionais para confirmar a presença de infecção por HPV (WHO, 2021).

Tabela 8 - Correlação de lesão intraepitelial de alto e baixo grau com teste positivo para HPV

Correlação de lesão intraepitelial de alto e baixo grau com teste positivo para HPV						
RESULTADO CITOLOGIA	Baixo risco (Contagem)	Baixo risco (Porcentagem)	Alto Risco (Contagem)	Alto Risco (Porcentagem)	Alto e baixo risco (Contagem)	Alto e baixo risco (Porcentagem)
HSIL		0 0,00%	6	60,00%	2	20,00%
LSIL		5 7,46%	30	44,78%	21	31,34%
Cervicite crônica contendo metaplasia escamosa e alterações coilocitóticas sugestivas, porém não conclusivas, de ação viral (HPV)	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%

Fonte: a autora

Considerando que todos os carcinomas cervicais possuem DNA do HPV, foi debatido se o teste de HPV pode ser utilizado como método de triagem primária para o câncer de colo do útero. No entanto, é amplamente estabelecido que o teste de HPV é eficaz na triagem de lesões suspeitas ou de baixo grau, bem como no acompanhamento após o tratamento de neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC) (MARTINS *et al.* 2012). De acordo com o artigo de Sung *et al.* (2020), é comum que as lesões cervicais causadas por infecções pelo HPV sejam transitórias, independentemente de serem benignas ou pré-cancerosas. Isso significa que, na maioria dos casos, essas lesões desaparecem naturalmente ao longo do tempo, sem a necessidade de tratamento específico. No entanto, é importante ressaltar que algumas lesões podem persistir e evoluir para um estágio pré-canceroso ou canceroso, especialmente em mulheres com sistema imunológico comprometido ou com infecções persistentes pelo HPV (SUNG *et al.* 2020; SOLARES *et al.* 2015).

Os tipos 16 e 18, estão frequentemente associados a riscos oncogênicos, logo, ao câncer de colo de útero (BASU et. al, 2009). As diretrizes de 2019 da ASCCP (*Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors*) enfatizam que a triagem com o teste de HPV ou o co-teste de HPV/citologia é mais eficaz na estratificação de risco do que a citologia isolada. Portanto, essas diretrizes recomendam a incorporação do teste de HPV na avaliação de risco e nas recomendações de acompanhamento após resultados anormais. Em contraste, as diretrizes de 2012 recomendavam a realização de colposcopia para todos os resultados de citologia de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) ou superior em indivíduos com 25 anos ou mais (PERKINS et al. 2020). Portanto, é fundamental que as mulheres realizem exames preventivos regularmente para detectar precocemente qualquer alteração cervical e receber o tratamento adequado, se necessário.

4 CONCLUSÃO

A combinação entre citopatológico e biologia molecular é de fato uma ferramenta importante na saúde pública. Com o avanço das tecnologias moleculares, atualmente é possível identificar características específicas do vírus do papiloma humano (HPV), que é a principal causa do câncer cervical. Essas características são importantes para a compreensão dos fatores epidemiológicos e biológicos relacionados à infecção pelo HPV. A identificação de diferentes tipos de HPV e sua prevalência em diferentes populações pode ajudar a orientar políticas públicas de prevenção e controle do câncer cervical. Além disso, a análise molecular do HPV pode fornecer informações sobre a virulência do vírus e sua capacidade de causar lesões cervicais. Portanto, a combinação entre citopatológico e biologia molecular é uma abordagem importante para a detecção precoce e prevenção do câncer cervical, contribuindo para a saúde pública de forma significativa. Este estudo forneceu informações atualizadas sobre a infecção pelo HPV em Santa Catarina, uma vez que os artigos publicados sobre o estado abrangem períodos anteriores ao deste estudo.

A média de idade das pacientes que testaram positivo para o HPV foi de 33 anos. Os tipos de HPV mais comuns de alto risco foram o HPV-16, HPV-52, HPV-56 e HPV-68, com o HPV-16 sendo o mais frequente, o que está em linha com estudos realizados em Santa Catarina e no Brasil. Embora o HPV 18 seja altamente correlacionado com o câncer do colo do útero, sua frequência foi baixa neste estudo. Para os tipos de baixo risco, os mais comuns foram o HPV-62, HPV-81 e HPV-42. Foi observado que 26,4% dos casos positivos apresentaram coinfeção por mais de um tipo de HPV, o que é um fator de risco para o desenvolvimento de lesões pré-cancerosas. Entre os casos com resultado de HSIL, 60% apresentaram presença de HPV de alto risco e 20% apresentaram coinfeção para HPV de alto e baixo risco. Para os casos com resultado de LSIL, dos 67, 7,4% dos casos foram positivos para HPV de baixo risco, 44,7% para alto risco e 31,3% para coinfeção por HPV de alto e baixo risco.

Este estudo apresentou algumas limitações, como a falta de informações sobre prognóstico, bem como a ausência de dados clínicos relevantes para a persistência ou transição do HPV. Além disso, os resultados obtidos refletem apenas uma amostra de mulheres economicamente favorecidas que têm acesso a serviços particulares e convênios no estado de Santa Catarina, o que pode restringir a generalização dos resultados para outras regiões e situações econômicas do Brasil. Portanto, são necessários mais estudos baseados na população da mesma área geográfica para correlacionar a infecção com fatores comportamentais e

sociodemográficos. No entanto, este estudo é uma contribuição valiosa para o atendimento médico da população de Santa Catarina e dos centros de pesquisa que estudam o papilomavírus humano.

5 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.A. *et al.* Prevalência e fatores de risco de infecção pelo HPV em mulheres atendidas no município de Imperatriz – MA. **Pesquisa em Saúde** (Belém), v. 14, p. 57-63, 2015.
- BASU, P., *et al.* Distribuição do genótipo do papilomavírus humano no câncer do colo do útero na Índia: resultados de um estudo multicêntrico. **Asian Pac J Cancer Prev**, 10 (1),p. 27-34, 2009
- BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação-Geral de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Nomenclatura brasileira para laudos citopatológicos cervicais . – 3. ed. – Rio de Janeiro : Inca, 2012. Brasília
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 874, de 16 maio de 2013. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
- BRINGHENTI, M.E.Z, DOZZA, T.G, MARTINS, T.R, & BAZZO, M.L. Prevenção do câncer do colo do útero: associação de novas técnicas de biologia molecular com a citologia oncológica na detecção do papilomavírus humano (HPV). **Revista Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, 22 (3), p.135–140, 2010 Recuperado de <https://www.bjstd.org/revista/article/view/110>
- CARVALHO, A.D. *et al.* A importância da relação entre o diagnóstico molecular e o rastreamento da infecção pelo HPV associado aos métodos convencionais. **Revista Brasileira de Desenvolvimento** , 6 (6), 38283–38288, 2020
- CENTROS DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS. (2021). HPV e câncer. <https://www.cdc.gov/hpv/parents/cancer.html>
- CHOW, L.T.; BROKER, T.R, STEINBERG, B.M. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. **APMIS**, 118: 422–449,2010.
- DOORBAR, J. *et al.* Human papillomavirus molecular biology and disease association. **Reviews in medical virology**, v. 25, p. 2-23, 2015.
- DUNNE, E. F.; PARK, Ina U. HPV and HPV-associated diseases. **Infectious Disease Clinics**, v. 27, n. 4, p. 765-778, 2013.
- ENTIAUSPE, L.G. *et al.* Alta incidência de genótipos oncogênicos de HPV encontrados em mulheres do Sul do Brasil. **Braz. J. Microbiol.**, [SI], antes da impressão, 2014. Epub 05 ago.

2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822014005000049&lng=en&nrm=iso . Acesso em: 15 jun. 2023
- FRANTZ, L. *et al.* (2014). Prevalência de HPV em pacientes assintomáticos no extremo oeste de Santa Catarina. **Arquivos Eletrônicos Científicos**, v. 7, p. 89-95, 2014.
- FEDRIZZI, E. N. *et al.* Infecção pelo papilomavírus humano (HPV) em mulheres de Florianópolis, Santa Catarina. **Brazilian Journal of Sexually Transmitted Diseases**, v. 20, n. 2, p. 73-79, 2008.
- FEDRIZZI, E. N.; STEFFENS, S. M.; MENEZES, M. E.; LEVI, J. E. Genital infection by Human papillomavirus (HPV) in women from Santa Catarina/Brazil. *Brazilian Journal of Sexually Transmitted Diseases*, Niterói, v. 34, 2022. DOI: 10.5327/DST-2177-8264-20221212. Disponível em: <https://www.bjstd.org/revista/article/view/1212>. Acesso em: 27 jun. 2023.
- GOLFETTO, L. *et al.* Ensaio PCR-RFLP como opção para teste primário de HPV. **Braz J Med Biol Res**, v. 51, n. 5, e7098, 2018.
- HARDEN, M E.; MUNGER, K. Human papillomavirus molecular biology. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 772, p. 3-12, 2017.
- INCA, INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA . Atlas da mortalidade. Rio de Janeiro: INCA, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/app/mortalidade>. Acesso em: 09 jun 2022.
- INCA, INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Detecção precoce do câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/deteccao-precoce-do-cancer>. Acesso em: 14 de outubro de 2022.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - NCBI. Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado. In: Resumos de Informações sobre o Câncer PDQ [Internet]. Bethesda (MD): NATIONAL CANCER INSTITUTE (EUA); 24 de abril de 2023 [citado em 21 de junho de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557739/>.
- JAYAKUMAR, N.K. Cervicitis: How Often Is It Non-specific! *J Clin Diagn Res*. 2015 Mar;9(3):EC11-2. doi: 10.7860/JCDR/2015/11594.5673. Epub 2015 Mar 1. PMID: 25954624; PMCID: PMC4413072.
- KURMAN, R.J., CARCANGIU, M.L. & HERRINGTON, C.S. Organização Mundial da Saúde Classificação dos Tumores dos Órgãos Reprodutores Femininos. 4ª edição revisada, Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer. Lyon: IARC Press, 2014
- MARTINS, T.R. *et al.* Citologia cervical, HPV DNA e mRNA—um estudo comparativo em 162

- pacientes. **Revista Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, 24 (2), 79–84, 2012. Recuperado de <https://www.bjstd.org/revista/article/view/1044>
- NORONHA, V.L. *et al.* Papilomavírus Humano (HPV) em Mulheres rastreadas para câncer de colo uterino, Belém - Pará - Brasil. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 23, p. 5-11, 2011.
- OLIVEIRA, G.R. *et al.* Fatores de risco e prevalência da infecção pelo HPV em pacientes de Unidades Básicas de Saúde e de um Hospital Universitário do Sul do Brasil. **Rev. Bras. Ginecol. Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 5, pág. 226-232, 2013.
- PAESI, Suelen *et al.* Human papillomavirus among women with atypical squamous cells of undetermined significance in southern Brazil. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v. 128, p. 23-26, 2015. DOI: 10.1016/j.ijgo.2014.07.027.
- PRA, D. S. *et al.* Métodos biomoleculares em caso de lesão intraepitelial cervical de alto grau. **Revista brasileira de análises clínicas**, p. 9-14, 2021.
- PRAZERES, B. A. P. dos. Prevalência de HPV em material cérvico-uterino de mulheres de Tomé-Açú – PA. 2011. 55 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Belém, 2011. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais.
- PERKINS, R. B. *et al.* Diretrizes de Consenso de Gestão Baseada em Risco ASCCP 2019 para Testes de Rastreamento de Câncer Cervical Anormal e Precursores de Câncer. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, v. 24, n. 2, p. 102-131, abr. 2020. DOI: 10.1097/LGT.0000000000000525.
- PINHEIRO, M. da CN *et al.* Principais genótipos de papilomavírus humano em mulheres ribeirinhas na Amazônia brasileira. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*, [S. l.], v. 29, n. 1, pág. 68–74, 2016. DOI: 10.5020/18061230.2016.p68. Disponível em: <https://ojs.unifor.br/RBPS/article/view/4150> . Acesso em: 18 jun. 2023.
- RIVOIRE W.A. *et al.* Bases Biomoleculares da Oncogênese Cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 2, p. 179-184, 2001.
- RUGGERI, J. B. *et al.* Tratamento e Acompanhamento de Mulheres Infectadas pelo Papilomavírus Humano em Município do Sul do Brasil. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 16, n. 15, p. 6521-6526, 2015.
- SANJOSÉ S *et al.* Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. **The Lancet infectious diseases**, New York, v.7 n.7, p.453-459, 2007.
- SAMPAIO, S. C. de A. **Identificação de HPV de alto risco oncogênico em citologia em meio**

- líquido com atipias escamosas e carcinoma escamoso.** 2015. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- SOLARES C. *et al.* Expression of p16/Ki-67 in ASC-US/LSIL or Normal Cytology with Presence of Oncogenic HPV DNA. **Anticancer Research**, v. 35, n. 11, p. 6291-6295, 2015.
- STABILE, S.A.B. *et al.* Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncótica cérvico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. **Einstein**, São Paulo v. 10, p. 466-472, 2012.
- SUNG H. *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin.** 71:209–49, 2021.
- SILVA, E. O. *et al.* Frequência e genotipagem do papilomavírus humano em mulheres submetidas à citologia oncótica. **DST j. bras. doenças sex. transm**, p. 22-28, 2015. (2)
- SILVA, E. R da *et al.* Diagnóstico molecular do papilomavírus humano por captura híbrida e reação em cadeia da polimerase. **Femina**, p. 181-184, 2015. (1)
- SOUZA, M. L. Prevalência do Papilomavírus Humano (HPV) na captura híbrida em mulheres com atipias citopatológicas cervicais. **Trabalho de conclusão de curso, UFSC**, Florianópolis, 2022.
- TEIXEIRA, L. O. *et al.* Prevalência dos tipos de Papilomavírus Humano em mulheres atendidas em um Hospital Universitário no Sul do Brasil. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 49, n. 2, p. 116-123, 2016.
- VAN DOORSLAER, K. *et al.* ICTV virus taxonomy profile: Papillomaviridae. **Journal of General Virology**, v. 99, n. 8, p. 989-990, 2018.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Early detection. Geneva: WHO, 2007. (Cancer control: knowledge into action: WHO guide for effective programmes, module 3). Disponível https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43743/9241547338_eng.pdf?sequence=1
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Guidelines for Screening and Treatment of Precancerous Lesions for Cervical Cancer Prevention. Geneva: World Health Organization, 2021.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* Human papillomavirus vaccines: WHO position paper, May 2017–Recommendations. **Vaccine**, v. 35, n. 43, p. 5753-5755, 2017.
- ZAMPIROLO, J.A, MERLIN, J.C, MENEZES M.E. Prevalência de HPV de baixo e alto risco pela técnica de biologia molecular (Captura Hi-bridada II) em Santa Catarina. **Revista brasileira de análises clínicas**. p. 265-268, 2007

