

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Beatriz Melim

**Exames moleculares para identificação do HPV: uma revisão narrativa da
literatura**

Florianópolis
2023

Beatriz Melim

Exames moleculares para identificação do HPV: uma revisão narrativa da literatura

Projeto de Trabalho de Conclusão do Curso apresentado na Disciplina Trabalho de Conclusão de Curso I (CIF5351) como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico pela Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof.º Alexandre Sherlley Casimiro Onofre.

Florianópolis
2023

Beatriz Melim

Exames moleculares para identificação do HPV: uma revisão narrativa da literatura

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Farmacêutica” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 12 de julho de 2023.

Prof.(a) Liliete Canes Souza Cordeiro, Dr.(a)

Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Alexandre Sherlley Casimiro Onofre, Dr.

Orientador

Prof. Jairo Ivo dos Santos, Dr.

Avaliador

Prof. Eduardo Monguilhott Dalmarco, Dr.

Avaliador

RESUMO

O papilomavírus humano (HPV) é responsável por cerca de 98,9% dos cânceres de colo do útero ou câncer cervical, que é o segundo câncer que mais acomete mulheres no Brasil e no mundo. Sendo assim, a detecção prévia do vírus e o diagnóstico das lesões pré-cancerosas são de extrema importância para prevenção. Este trabalho tem como objetivo, além de abordar sobre a prevenção do câncer do colo do útero, apresentar características do vírus e patogenia da infecção sexualmente transmissível causada pelo mesmo, com foco principal nos exames moleculares para diagnóstico, que tem como principal objetivo a triagem de lesões precursoras do câncer. A partir de exames clínicos como o Papanicolaou e biópsias de verrugas, também é feito diagnóstico através de técnicas para genotipagem do vírus e exames moleculares como: hibridização in situ (ISH), captura híbrida, imuno-histoquímica (IHQ), reação em cadeia de polimerase (PCR), southern blot, sequenciamento, entre outras. A prevenção do câncer cervical, além de exames preventivos, se dá principalmente por meio da vacinação, que está implementada pelo Ministério da Saúde, no calendário Nacional de Vacinação desde 2014, para proteger contra os vírus mais frequente associados ao câncer de colo do útero. Para tanto, realizou-se revisão de literatura com pesquisa de artigos científicos em bases de dados como *United States National Library of Medicine* (PubMed), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde* (LILACS), *Elsevier's Scopus* (SCOPUS) e Google Acadêmico.

Palavra-chave: Papilomavírus Humano; Infecção Sexualmente Transmissível; Câncer do Colo do útero; Exames Moleculares.

ABSTRACT

The human papillomavirus (HPV) is responsible for about 98.9% of cervical cancers or cervical cancer, which is the second cancer that most affects women in Brazil and in the world. Therefore, prior detection of the virus and diagnosis of precancerous lesions are extremely important for prevention. This work aims, in addition to addressing the prevention of cervical cancer, to present the characteristics of the virus and the pathogenesis of the sexually transmitted infection caused by it, with a main focus on molecular tests for diagnosis, which has as its main objective the screening of cancer precursor lesions. Based on clinical exams such as Papanicolaou and wart biopsies, diagnosis is also made using techniques for genotyping the virus and molecular exams such as: in situ hybridization (ISH), hybrid capture, immunohistochemistry (IHC), chain reaction of polymerase (PCR), Southern blot, sequencing, among others. The prevention of cervical cancer, in addition to preventive exams, is mainly done through vaccination, which is integrated by the Ministry of Health, in the National Vaccination Calendar since 2014, to protect against the most frequent virus associated with cervical cancer. To this end, a literature review was carried out with a search for scientific articles in databases such as the United States National Library of Medicine (PubMed), Scientific Electronic Library Online (SciELO), Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences (LILACS), Elsevier's Scopus (SCOPUS) and Google Scholar.

Keywords: Human Papillomavirus; Sexually Transmitted Infection; Cervical Cancer; Molecular Tests.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do genoma do HPV-16.....	16
Figura 2 - Progressão do câncer cervical após infecção pelo HPV	21
Figura 3 - Representação esquemática das células da camada do epitélio	23
Figura 4 - Células normais do epitélio cervical	24
Figura 5 - Materiais utilizados para realização do exame Papanicolaou	24
Figura 6 - Esfregaço cérvico-vaginal com presença de coilocitose	25
Figura 7 - Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL)	26
Figura 8 - Lesão intraepitelial de alto grau (HSIL)	27
Figura 9 - Adenocarcinoma in situ (AIS)	28
Figura 10 - Foto da reação de hibridização in situ em amostra de colo uterino, com marcação positiva para HPV	32
Figura 11 - Principais Etapas do mecanismo do PCR	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Funções dos genes do genoma do HPV	16
Tabela 2 - Classificação do HPV de acordo com seu potencial oncogênico	17
Tabela 3 - Nomenclatura de diferentes classificações dos achados citológicos	26
Tabela 4 - Testes de detecção do HPV aprovados pelo <i>Food and Drug Administration</i> (FDA)	29
Tabela 5 - Interpretação dos resultados de testes Digene® HC2 HPV DNA pela fabricante Qiagen®.	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIN - Anal Intraepithelial Lesion

AIS - Adenocarcinoma *in situ*

ASC-US - Células Escamosas Atípicas de Significado Indeterminado

BD - Becton, Dickinson and Company

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

CH - Captura Híbrida

CISH - Hibridização *in situ* Cromogênica

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

FDA - Food and Drug Administration

HPV - Papilomavírus Humano

HSIL - Lesões Intraepiteliais de Alto Grau

IARC - International Agency for Research on Cancer

IHQ - Imuno-histoquímica

ISH - Hibridização *in situ*

IST - Infecção Sexualmente Transmissível

INCA - Instituto Nacional de Câncer

LCR - Large Control Region

LSIL - Lesões Intraepiteliais Escamosas de Baixo Grau

NIC - Neoplasia Intraepitelial Cervical

OMS - Organização Mundial de Saúde

ORF - Open Reading Frame

PCR - Reação em cadeia de polimerase

PIN - Penile Intraepithelial Lesion

VaIN - Vaginal Intraepithelial Lesion

VIN - Vulvar Intraepithelial Lesion

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3 JUSTIFICATIVA.....	13
4 METODOLOGIA.....	14
5 REVISÃO DA LITERATURA.....	15
5.1 OS PAPILOMAVÍRUS.....	15
5.3 TRANSMISSÃO.....	18
5.3.1 Manifestações Clínicas.....	18
5.3.2 Patogenia e Ciclo de Vida do HPV.....	19
5.4 HPV E O CÂNCER CERVICAL.....	20
5.5 DIAGNÓSTICO.....	22
5.4.1 Citologia Cérvico Vaginal.....	23
5.4.2 Métodos Moleculares.....	28
5.4.2.1 Captura Híbrida (CH).....	30
5.4.2.2 Hibridização in situ (ISH).....	31
5.4.2.3 Método de Southern Blot.....	33
5.4.2.4 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).....	33
5.4.2.5 Testes Baseados em Microarray.....	36
5.6 PREVENÇÃO.....	37
6 CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

O gênero papilomavírus é composto por vírus que infectam humanos e animais. São originados da mudança do epitélio de seu hospedeiro, cerca de 350 milhões de anos atrás nos primeiros répteis que surgiram (BRAVO IG, 2010). A família Papillomaviridae é composta por pequenos vírus, de aproximadamente 55 nm de diâmetro, não encapsulados com genoma de dupla fita circular de DNA de formato icosaédrico (ANTONSSON *et al.*, 2006, STOLER, 2003).

O Papilomavírus Humano (HPV) é o vírus deste gênero, que infecta humanos, mais especificamente pele e mucosas oral, genital ou anal de homens quanto de mulheres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Atualmente são descritos mais de 240 tipos de HPV, são divididos em dois grupos classificados de acordo com seu potencial oncogênico: baixo risco oncogênico, sendo eles os tipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81 e de alto risco oncogênico os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Esses vírus são capazes de causar uma infecção sexualmente transmissível (BOGANI G, 2018), que segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 80% dos indivíduos sexualmente ativos irão se contaminar em algum momento da vida (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2022).

Em geral costuma ser uma infecção assintomática na maioria das pessoas, mas cerca de 5% apresentaram alguma manifestação clínica, e somente 1% terão manifestações consideráveis, que podem ser precursoras do câncer cervical, são as chamadas lesões de alto grau ou neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC II e NIC III) (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2018). O indivíduo infectado pode apresentar lesões que são chamadas de verrugas anogenitais ou condiloma acuminado, trata-se de massas com caráter benigno, de forma pontiagudas e variam de formato, podem variar em tamanho e em quantidade (única ou múltiplas). A superfície pode ser achatada ou papulosa, fosca ou aveludada, normalmente não apresentam sintomas, porém, podem manifestar dor, prurido, sangue (GARLAND *et al.*, 2009).

O diagnóstico pode ser realizado por citologia e histologia, mas a confirmação pelo HPV é realizada por meio de exames moleculares como: hibridização in situ (ISH), captura híbrida, imuno-histoquímica (IHQ), reação em cadeia de polimerase (PCR), southern blot, sequenciamento, entre outras (STEINAU *et al.*, 2012; GUO *et al.*, 2008). Esses exames e o diagnóstico da infecção pelo HPV, tem como principal objetivo triar lesões precursoras de câncer (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2018).

A prevenção mais segura para a infecção pelo HPV é a vacinação, que está implementada no Calendário Nacional de Vacinação, pelo Ministério da Saúde, que prevê a vacina quadrivalente, ou seja, contra os tipos de HPV 6 e 11 (aqueles que são de baixo risco oncogênico, mas são os maiores responsáveis pelas lesões mucosas) e 16 e 18 (que são os de alto risco oncogênico) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão narrativa da literatura a fim de conhecer o que se tem publicado sobre o HPV com foco nos exames moleculares para diagnóstico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever informações sobre o vírus juntamente com seu mecanismo de ação patológico;
- Abordar características da infecção sexualmente transmissível pelo HPV;
- Trazer informações sobre o HPV e o câncer do colo do útero;
- Descrever os principais métodos moleculares para diagnóstico, presentes na literatura para identificação da infecção;
- Trazer informações sobre prevenção.

3 JUSTIFICATIVA

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2022) mais de 80% dos indivíduos com vida sexual ativa irão adquirir o HPV, portanto, pode-se dizer que é uma doença de grande impacto no mundo.

A infecção persistente pelo HPV está relacionada com o câncer de colo do útero (BRUNI *et al.*, 2019). Os tipos de HPV oncogênicos mais comuns identificados no câncer do colo do útero incluem HPV16 (53%), HPV18 (15%), HPV45 (9%), HPV31 (6%) e HPV33 (3%) (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020).

Segundo estudo realizado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) no ano de 2020 cerca de 570 mil mulheres desenvolveram câncer do colo do útero, sendo que 311 mil delas morreram. Foi considerado o quarto câncer mais comum entre as mulheres e também a quarta maior causa de morte por câncer no mundo.

No Brasil, o câncer cervical foi considerado o terceiro câncer mais incidente em mulheres. A estimativa de novos casos é de 17.010 por ano entre 2023 e 2025, o que representa um risco estimado de 15,38 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2022).

Dessa forma, o conhecimento difundido sobre o assunto é de extrema importância para os profissionais de saúde com intuito de realizar uma correta assistência ao paciente, conduzindo as suas queixas e estabelecendo um diagnóstico mais preciso para melhora nas medidas terapêuticas e prevenção da doença e possíveis agravamentos após infectado.

Além de auxiliar pacientes e população em geral, no esclarecimento de dúvidas rápidas e conscientização.

4 METODOLOGIA

Foi realizado uma revisão da literatura, elaborando uma organização de conhecimentos sobre o assunto escolhido, com a ajuda de base de dados como *United States National Library of Medicine* (PubMed), *Scientific Electronic Library Online* (Scielo), *Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde* (LILACS), *Elsevier's Scopus* (SCOPUS) e Google Acadêmico.

Para o levantamento das informações foram utilizadas as seguintes palavras de busca: “HPV”, “diagnóstico molecular”, “papilomavírus”, “câncer cervical”, “methodology”, “molecular diagnosis”.

Os critérios de inclusão dos artigos foram baseados no ano de publicação, sendo selecionados aqueles entre 2009 a 2023 com as palavras de busca especificadas, podendo ser nos idiomas de português, inglês e espanhol e foram analisados artigos que continham os objetivos propostos no trabalho.

5 REVISÃO DA LITERATURA

5.1 OS PAPILOMAVÍRUS

O gênero papilomavírus consiste em um grupo com diversos vírus que infectam humanos e animais. Originam-se da mudança no epitélio de seu hospedeiro, cerca de 350 milhões de anos atrás nos primeiros répteis que surgiram (BRAVO IG, 2010).

O DNA do papilomavírus foi obtido a partir da pele e lesões de espécies de mamíferos, aves e tartarugas. Como muitos papilomavírus causam infecções assintomáticas, seu DNA foi recuperado também da pele saudável de muitos mamíferos (ANTONSSON et al., 2006).

Atualmente são encontrados em aves, répteis, marsupiais e mamíferos, mas não são encontrados em anfíbios (BRAVO IG, 2010).

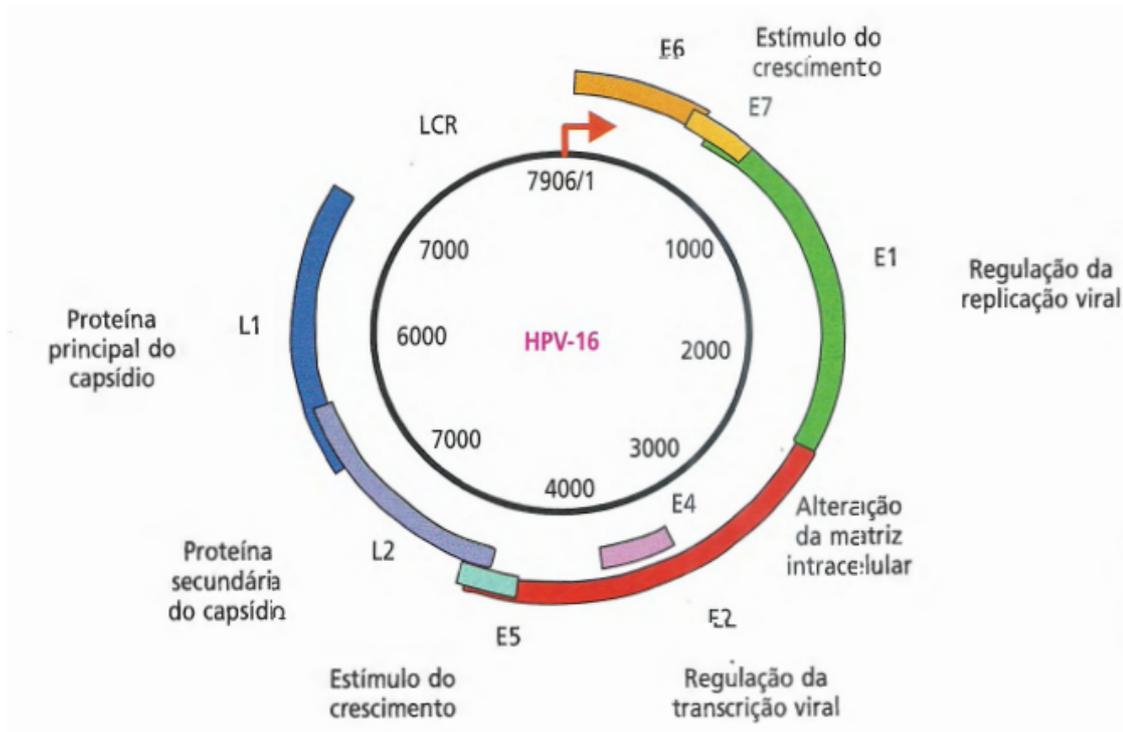
A família Papillomaviridae é composta por pequenos vírus não encapsulados com genoma de dupla fita circular de DNA (ANTONSSON et al., 2006).

São mais de 240 tipos classificados em cerca de 37 gêneros (BERNARD et al., 2010; VILLIERS et al., 2004; VAN DOORSLAER et al., 2012).

O vírus do HPV é pequeno medindo cerca de 55 nm de diâmetro, possui formato icosaédrico, não envelopado, com presença de 72 capsômeros. Seu genoma é circular (Figura 1), formado por dupla fita de DNA organizado em diferentes regiões/janelas de leituras (do inglês, open reading frame - ORF) (MARTINS, 2014).

Região E ou *Early*, é composta por pelo menos seis genes que se expressam precocemente, sendo eles E1, E2, E4, E5, E6 e E7, região L ou *Late* com dois genes (L1 e L2) que se expressam tardiamente, e a região regulatória ou LCR (*large control region*) que fica localizada entre L1 e E6. As diferentes regiões com seus respectivos genes e funções estão elencados na tabela 1 (CONSOLARO et al., 2014).

Figura 1 - Representação do Genoma do HPV-16.



Fonte: Consolaro *et al.* (2014)

Tabela 1 - Funções dos genes do genoma do HPV.

Região	Genes	Função
Early	E1	Regula a replicação do DNA viral
	E2	Regula a expressão de genes virais e a replicação do DNA viral
	E4	Contribui para a montagem do capsídeo viral e a liberação de partículas virais
	E5	Interfere na regulação do ciclo celular e promove a proliferação celular
	E6	Suprime a resposta imune do hospedeiro e promove a transformação celular
	E7	Interage com proteínas do hospedeiro envolvidas na regulação do ciclo celular, promovendo a proliferação celular e a transformação maligna
Late	L1	Codifica as proteínas principais do capsídeo viral
	L2	Codifica proteínas estruturais adicionais do capsídeo viral
LCR		Controla a replicação do DNA viral e a expressão gênica viral

DNA: Ácido Desoxirribonucleico, LCR: região regulatória ou *large control region*

Fonte: Consolaro *et al.* (2014)

5.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO

O HPV, sigla em inglês que se denomina papilomavírus humano, são vírus que infectam pele ou mucosas, seja oral, genital ou anal. Podendo afetar tanto homens quanto mulheres, provocando verrugas na região genital ou ânus (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

São mais de 240 tipos de HPV descritos atualmente, sendo 40 deles que acometem os órgãos genitais e ânus, divididos em dois grupos que são classificados de acordo com seu potencial oncogênico conforme tabela 2 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Tabela 2 - Classificação do HPV de acordo com seu potencial oncogênico.

Baixo Risco Oncogênico	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 e CP6108.
Alto Risco Oncogênico	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82.
Risco Indeterminado	34, 57 e 83.

Fonte: Autora com base no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas, 2022

Destacam-se os tipos 16 e 18 como responsáveis por cerca de 70% dos cânceres de colo do útero (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE, 2022).

Os tipos 6 e 11, de baixo risco, são responsáveis por causar as verrugas genitais, que se trata de uma condição que não é maligna, mais comumente na genitália externa (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2022).

Sendo que a infecção por um tipo de vírus não impede que ocorra infecção múltipla, ou seja, por mais de um tipo de HPV ao mesmo tempo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

5.3 TRANSMISSÃO

O papilomavírus humano (HPV) causa uma infecção cuja transmissão se dá na maioria das vezes por contato sexual (BOGANI G, 2018), pode ocorrer mesmo quando não há sinais visíveis de infecção ou presença de feridas (OYOUNI *et al.*, 2023).

Segundo a OMS (2022), cerca de 80% dos indivíduos com vida sexual ativa irão contrair o vírus em algum momento da vida.

Existe também a possibilidade da transmissão vertical, embora seja raro, pode ocorrer quando uma mãe infectada transmite o vírus para o filho durante o parto, onde o recém-nascido pode até desenvolver verrugas genitais ou infecção na garganta (OYOUNI *et al.*, 2023).

Sendo assim, é fundamental ter conhecimento que o HPV é uma infecção comum que pode afetar todas as idades e orientações sexuais, tendo em vista que muitas vezes as pessoas infectadas não apresentam sintomas visíveis transmitindo o vírus sem saber que está infectado.

5.3.1 Manifestações Clínicas

A infecção causada pelo HPV pode se manifestar de três diferentes formas. A forma clínica é caracterizada pela presença das verrugas anogenitais ou também conhecidas vulgarmente como condiloma acuminado, essas lesões geralmente se apresentam em infecções por tipos virais de baixo risco oncogênicos (CASTRO *et al.*, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Essas lesões são massas com caráter benigno, de forma pontiagudas e variam de formato, tamanho e em quantidade (única ou múltiplas). A superfície pode ser achatada ou papulosa, fosca ou aveludada, normalmente não apresentam sintomas, porém, podem manifestar dor, prurido, sangue (GARLAND *et al.*, 2009).

A forma subclínica na maioria dos casos é identificada através de exame de colposcopia e/ou Papanicolaou, que apresenta lesões no colo do útero. A forma latente ocorre quando os indivíduos infectados não apresentam lesões, sejam elas manifestações clínicas, citológicas ou histológicas, sendo assim, a infecção é detectada através de métodos moleculares que detectam o DNA do vírus (CASTRO *et al.*, 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Em geral é uma infecção que na maioria das pessoas é assintomática, mas cerca de 5% apresentaram alguma manifestação clínica, mas somente 1% terão manifestações consideráveis, que podem ser precursoras do câncer do colo, são as chamadas lesões de alto grau ou neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC II e NIC III) (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2018).

Sendo que a maioria das infecções genitais pelo HPV é adquirida, e lentamente eliminadas pelo sistema imune do hospedeiro (CARTER *et al.*, 2000).

As lesões em homens são mais frequentes no prepúcio e glande, podendo ocorrer também na pele do pênis e no escroto, ou até em regiões perianais, sendo mais frequentes em indivíduos que pratiquem atividade sexual anal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

5.3.2 Patogenia e Ciclo de Vida do HPV

A patogenia do HPV está relacionada à capacidade do vírus infectar as células epiteliais da pele e mucosas do indivíduo. O vírus entra em contato com essas células e ocorre uma série de eventos que levam a sua replicação e conseqüentemente, resposta imunológica (LETO *et al.*, 2011).

A infecção inicial do HPV ocorre quando o vírus penetra nas células epiteliais por meio de pequenas lesões ou microtraumas na pele ou mucosas. Durante esse processo, o vírus se liga aos receptores presentes nas células e adentra o interior delas. Uma vez dentro da célula hospedeira, o HPV realiza a replicação viral, aproveitando-se dos recursos da própria célula. O DNA viral se incorpora ao DNA da célula, resultando na ativação dos genes virais e na síntese de proteínas virais. O HPV causa modificações nas células, interferindo na regulação do ciclo celular e estimulando a multiplicação das células infectadas. Isso pode resultar em um aumento descontrolado das células e no surgimento de lesões (NELSON *et al.*, 2023).

Em determinadas situações, a presença contínua da infecção pelo HPV de alto risco pode ocasionar o surgimento de lesões pré-cancerígenas, como neoplasias intraepiteliais cervicais. Essas lesões possuem a capacidade de evoluir para o câncer caso não sejam devidamente tratadas (GARLAND *et al.*, 2009).

Já o ciclo de vida do HPV, é aquele que ocorre dentro das células epiteliais, ou seja, está relacionado com a replicação e disseminação do mesmo no organismo do indivíduo. O vírus libera seu material genético (DNA de fita dupla), que será

transportado para o núcleo da célula, onde irão ocorrer processos de transcrição e replicação. Os genes virais *Early* ou *Late* são expressos, resultando na produção de proteínas virais (VIDAL *et al.*, 2012).

As proteínas virais desempenham um papel fundamental na montagem das partículas virais. Elas se organizam em capsídeos, que são as estruturas que envolvem o material genético viral. O DNA viral é encapsulado dentro desses capsídeos, formando novas partículas virais maduras (CONSOLARO *et al.*, 2014).

5.4 HPV E O CÂNCER CERVICAL

A presença do vírus HPV é um fator essencial, embora não suficiente, para o desenvolvimento do câncer de colo do útero (SILVA *et al.*, 2006).

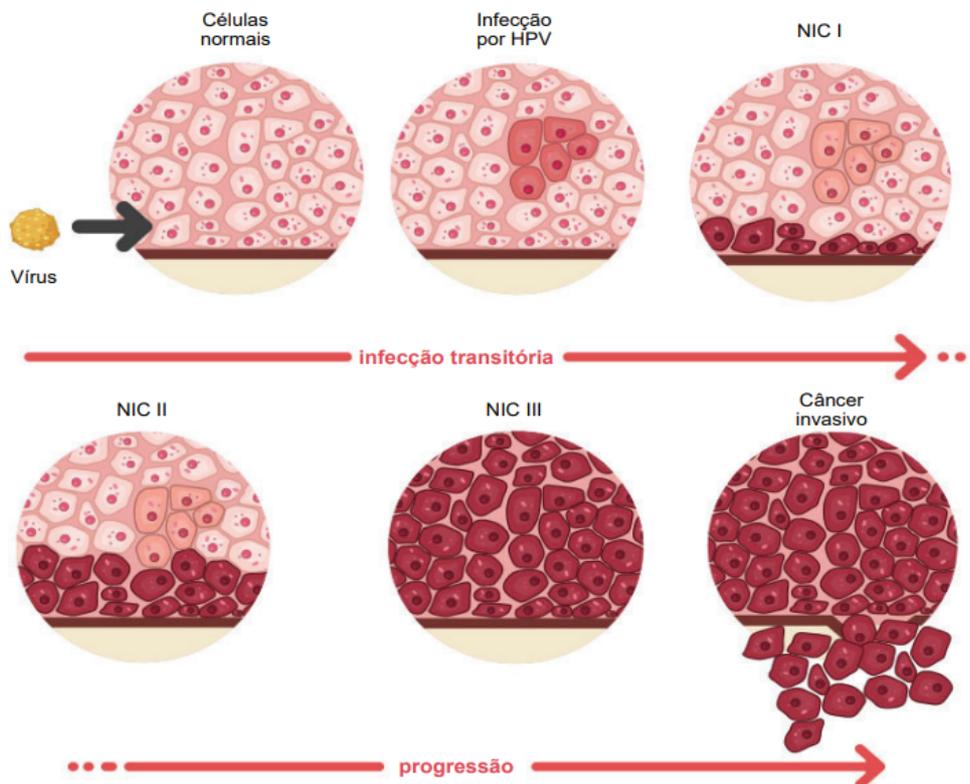
A infecção persistente do HPV pode levar à modificações nas células cervicais, e em alguns casos, evoluir ao câncer. Esse processo geralmente ocorre de maneira gradual, podendo durar aproximadamente de 10 a 20 anos (INCA, 2021).

Entretanto, como dito anteriormente, apenas a infecção pelo HPV não é suficiente para o desenvolvimento do câncer, sendo necessário que haja uma infecção persistente por um tipo oncogênico, além da influência de outros fatores para iniciar as alterações celulares (INCA, 2021).

Os tipos de HPV oncogênicos mais comuns identificados no câncer do colo do útero incluem HPV16 (53%), HPV18 (15%), HPV45 (9%), HPV31 (6%) e HPV33 (3%) (WILD; WEIDERPASS; STEWART, 2020).

As células passam por estágios de lesões precursoras que são assintomáticas, e quando identificadas e tratadas adequadamente são curáveis. A progressão das alterações celulares após infecção pelo HPV até o desenvolvimento do câncer, está representada de forma esquemática na figura 2 (INCA, 2021).

Figura 2 - Progressão do câncer cervical após infecção pelo HPV.



Fonte: Adaptado do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (2021).

Um dos fatores que pode influenciar nas alterações celulares e progressão do câncer cervical é o tabagismo, que está relacionado a redução das células do sistema imunológico presente no revestimento do colo do útero, ocorre uma diminuição dos componentes de defesa do epitélio cervical que pode levar a condições favoráveis para a ocorrência de infecções virais e contribuir para o processo de desenvolvimento do câncer (INCA, 2021).

Outros fatores como o uso prolongado de anticoncepcionais (deve-se ressaltar que os benefícios de um método contraceptivo eficaz para prevenir gestações indesejadas superam a pequena chance de aumento do risco de câncer de colo do útero associado ao uso prolongado de certos contraceptivos orais por mais de cinco anos) (SASIENI, 2007), primeiro parto com idade precoce, aumento de partos, indivíduos imunodeprimidos são determinantes para essa infecção persistente pelo HPV e consequente câncer cervical (MUÑOZ *et al.*, 2006).

A idade também é um fator importante, visto que na maioria das infecções por HPV em mulheres com idade inferior a 30 anos ocorre uma regressão espontânea,

por outro lado, acima dessa faixa etária, a persistência do vírus é mais frequente (INCA, 2021).

A partir disso, foram definidos critérios de identificação dessas lesões persistentes. A denominação foi se atualizando ao passar dos anos, e ainda hoje continua evoluindo. São chamados de displasia, classificado em: leve, moderada e severa ou neoplasia intraepitelial cervical (NIC 1, 2 e 3), ou mais recentemente denominado de lesões de alto grau (HSIL - do inglês high-grade intraepithelial lesion) ou de baixo grau (LSIL, do inglês low-grade intraepithelial lesion) (DARRAGH *et al.*, 2012).

A nomenclatura em outros órgãos segue a mesma lógica: anal (AIN, do inglês anal intraepithelial lesion), vulvar (VIN, do inglês vulvar intraepithelial lesion), vaginal (VaIN, do inglês vaginal intraepithelial lesion) e peniana (PIN, do inglês penile intraepithelial lesion) (A MACHALEK DA *et al.*, 2012).

5.5 DIAGNÓSTICO

O objetivo principal do diagnóstico de infecção pelo HPV está na triagem de lesões precursoras de câncer (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2018).

Para diagnóstico das verrugas é basicamente clínico, sendo que em algumas situações como lesões atípicas ou suspeitas, em pacientes imunodeprimidos, ou lesões com suspeita de neoplasias, é indicativo de biópsia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Os papilomavírus não conseguem se reproduzir por meio de cultura *in vivo* convencional. Sendo assim, sua classificação para determinar o tipo viral, não pode ser antigênica e de sorotipo. É realizada então uma identificação e classificação, através da genotipagem (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2013).

Dessa maneira, a sorologia para HPV não é muito usual para diagnóstico, sendo mais utilizado para a estimativa de idade e prevalência da exposição em locais de pré-vacina e para pós-vacina mensurar a efetividade da vacina (GARLAND *et al.*, 2010).

O diagnóstico das lesões pré cancerosas, pode ser realizado por citologia e histologia, mas a confirmação de infecção pelo HPV é feita por meios moleculares como: hibridização *in situ* (ISH), captura híbrida, imuno-histoquímica (IHQ), reação em cadeia de polimerase (PCR), southern blot, sequenciamento, entre outras (STEINAU *et al.*, 2012; GUO *et al.*, 2008).

5.4.1 Citologia Cérvico Vaginal

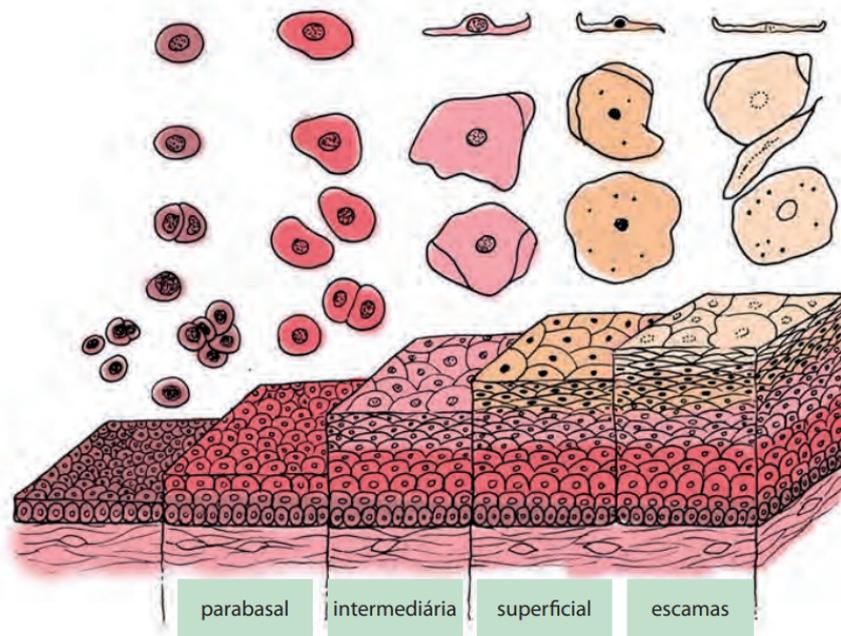
A citologia cérvico vaginal é utilizada amplamente no Brasil e no mundo como o método mais indicado para o rastreamento do câncer de colo do útero (INCA, 2016).

É um método para diagnosticar precocemente as lesões intraepiteliais cervicais, permitindo a detecção das lesões precursoras do câncer em estágios iniciais em mulheres assintomáticas, com intuito de minimizar a progressão do câncer (ARAÚJO et al., 2014).

Através das Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero no Brasil, descrito pelo INCA, o exame preventivo é preconizado para mulheres com idade entre 25 e 64 anos de idade (INCA,2016).

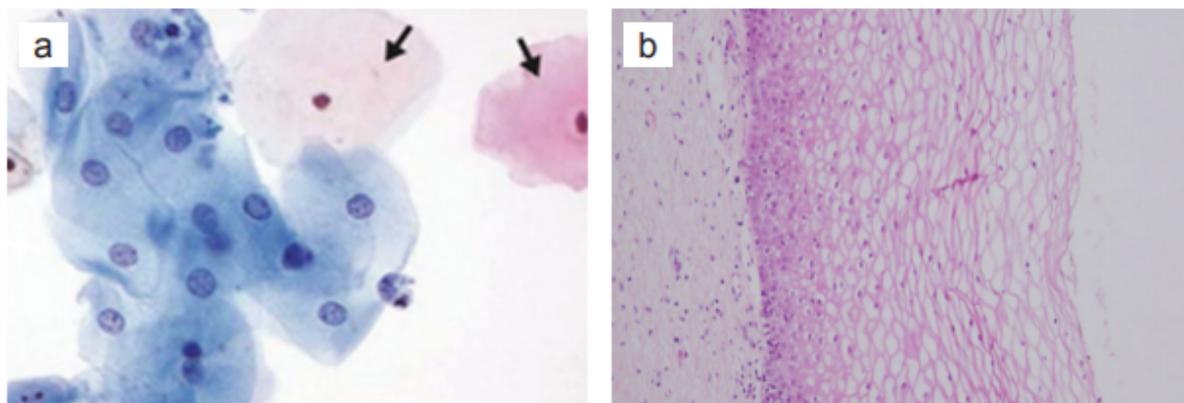
Essa técnica surgiu em 1920 por George Nicholas Papanicolaou, foi desenvolvida para analisar as células vaginais e do colo do útero (figura 3 e 4), e a partir disto observou-se a presença de células malignas, o que o fez empregar a técnica para o diagnóstico do câncer do colo do útero (PAPANICOLAOU, 1973).

Figura 3 - Representação esquemática das células da camada do epitélio.



Fonte: Ministério da Saúde (2012).

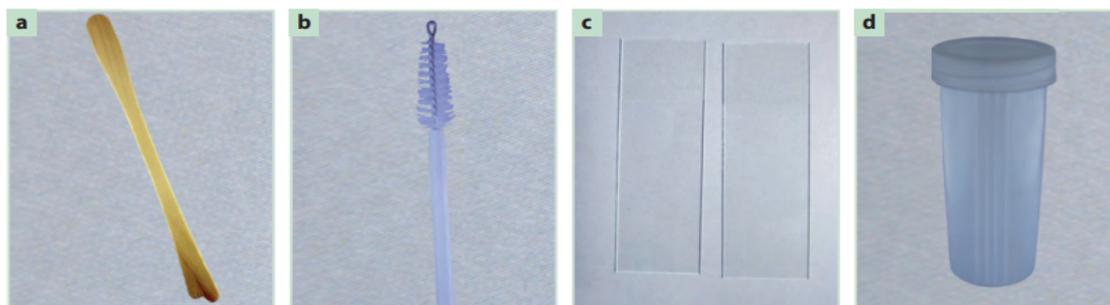
Figura 4 - Células normais do epitélio cervical.



Legenda: (a) Preparação de citologia normal; células intermediárias são indicadas com flechas. (b) Corte histológico normal do epitélio escamoso. Fonte: Prendiville e Sankaranarayanan (2017)

O exame é feito através da coleta de células da superfície externa do colo do útero e da parte inferior do canal cervical, com auxílio de uma escova (Figura 5a) ou espátula de Ayre (Figura 5b). Após, o material coletado é adicionado em fina camada sobre uma lâmina de microscópio de vidro (Figura 5c), coradas com a técnica de coloração de Papanicolaou e analisadas no microscópio (MINISTÉRIO DA SAÚDE,2012).

Figura 5 - Materiais Utilizados para Realização do Exame Papanicolaou.

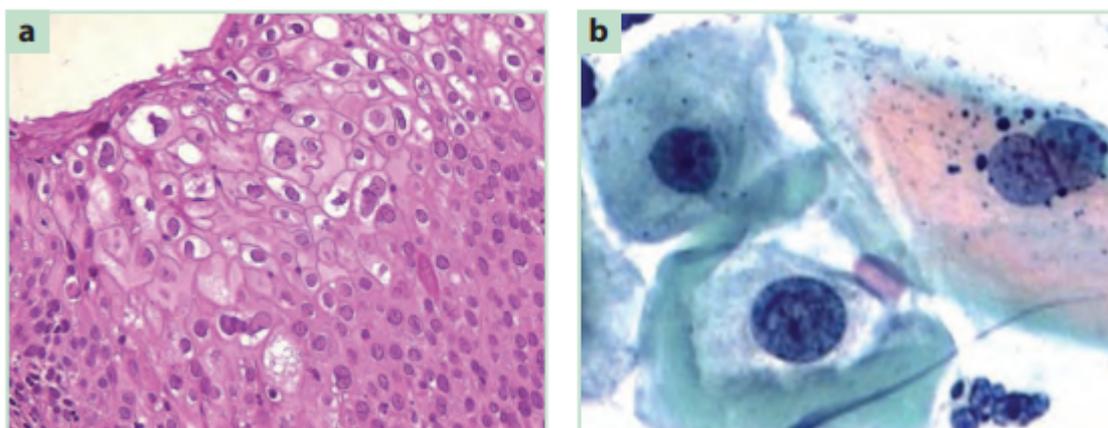


Legenda: (a) Espátula utilizada para coleta de material; (b) Escova para coleta de material; (c) Lâminas de vidro para realização dos esfregaços; (d) Recipiente de plástico com líquido fixador para acomodar a lâmina para transporte. Fonte: Ministério da Saúde (2012).

A análise ao microscópio é feita com intuito de examinar as células coradas procurando quaisquer alterações anormais, como células pré-cancerosas ou cancerosas, a partir da observação da morfologia celular, analisando cor, tamanho, formato e estrutura (MINISTÉRIO DA SAÚDE,2012).

Uma das alterações citológicas encontradas tipicamente em pacientes com infecção pelo HPV são coilócitos encontrados em células escamosas superficiais (Figura 6a) e intermediárias. O citoplasma do coilócito (Figura 6b) é vacuolado, contendo pequenas áreas vazias, e pode apresentar hiperchromasia, ou seja, uma coloração mais escura do núcleo. Porém, só é encontrada em cerca de 30% dos casos de infecção pelo HPV (MINISTÉRIO DA SAÚDE,2012).

Figura 6 - Esfregaço cérvico-vaginal com presença de coilocitose.



Legenda: (a) Coilocitose nas camadas superficiais do epitélio; (b) Coilocitose em esfregaço vaginal.

Fonte: Ministério da Saúde (2012)

No decorrer dos anos houve modos diferentes de nomenclaturas (descritas na tabela 3) utilizadas para classificar as lesões cervicais (INCA, 2016).

Atualmente a nomenclatura utilizada começou a surgir em 2001, a partir de um evento promovido pelo INCA e pela Sociedade Brasileira de Citopatologia chamado Discussão da Nomenclatura Brasileira de Laudos de Exames Citopatológicos - CITO 2001 e posteriormente atualizada em 2002. A nomenclatura em questão é semelhante e baseada na nomenclatura de Bethesda (INCA, 2012).

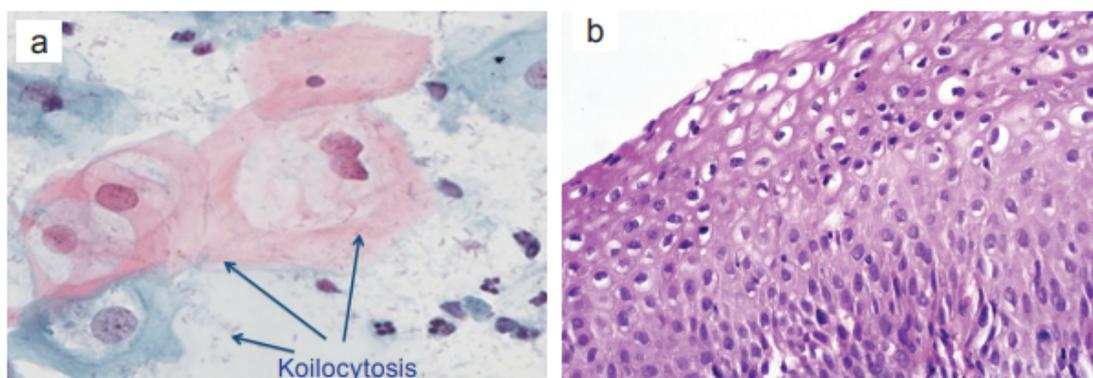
Os achados citológicos podem ser classificados como alterações benignas sem lesões intra epiteliais, atipias de significado indeterminado (ASC-US), lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) (Figura 7), lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL) (Figura 8), atipia glandular, adenocarcinoma in situ (AIS) (Figura 9), carcinoma invasivo e adenocarcinoma invasivo (NAYAR e WILBUR, 2017).

Tabela 3 - Nomenclatura de Diferentes Classificações dos Achados Citológicos.

OMS (1952)	Classificação de Richart (1967)	Sistema Bethesda (2001)
Displasia leve	NIC1	Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
Displasia moderada	NIC 2	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
Displasia acentuada/carcinoma in situ	NIC 3	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
-----	-----	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau com características suspeitas de invasão
Carcinoma escamoso invasivo	Carcinoma escamoso invasivo	Carcinoma escamoso invasivo

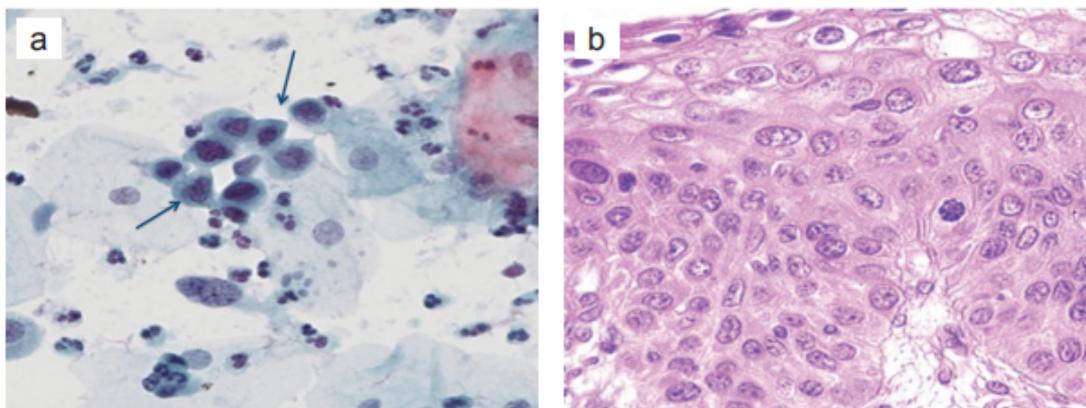
Fonte: Adaptado do Ministério da Saúde (2012)

Figura 7 - Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL).



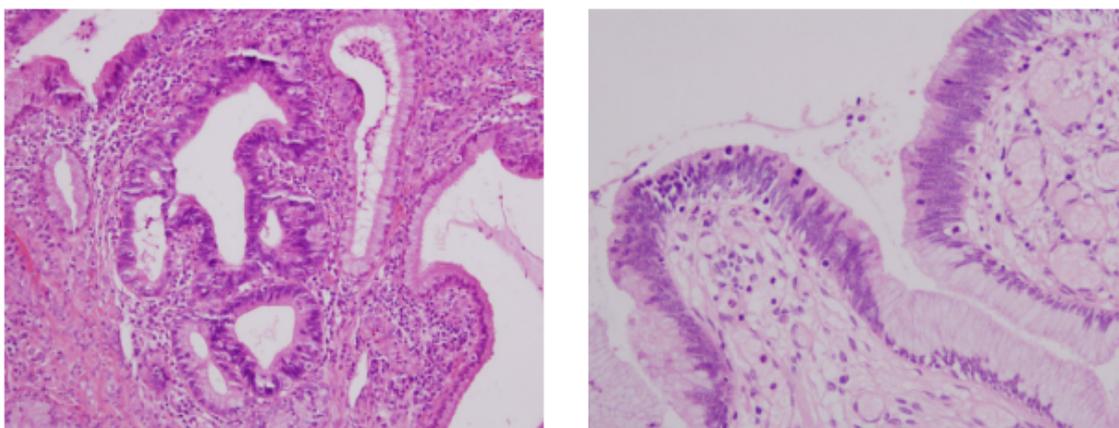
Legenda: (a) Lâmina de citologia de LSIL com presença de coilócitos (setas); (b) Corte histológico de LSIL. Fonte: Prendiville e Sankaranarayanan (2017)

Figura 8 - Lesão intraepitelial de alto grau (HSIL).



Legenda: (a) Lâmina de citologia de HSIL, as setas indicam células basais escamosas anormais; (b) Corte histológico de HSIL. Fonte: Prendiville e Sankaranarayanan (2017)

Figura 9 - Adenocarcinoma in situ (AIS).



Fonte: Prendiville e Sankaranarayanan (2017)

Sendo assim, o exame de rotina mais importante para a triagem de pacientes é o citopatológico, servindo como alicerce para a prevenção do câncer do colo do útero. Entretanto, os testes moleculares têm substituído os exames convencionais em relação a diversas doenças infecciosas, sendo empregados como complemento nos testes de detecção do HPV e nos exames genotípicos tradicionais. Essa abordagem tem o potencial de reduzir consideravelmente o número de casos e óbitos decorrentes do câncer (RONCO *et al.*, 2014).

5.4.2 Métodos Moleculares

Os métodos moleculares para diagnóstico estão cada vez mais sendo desenvolvidos, pois são capazes de detectar o DNA viral, ou seja, identificar qual o tipo do vírus, e conseqüentemente, ter conhecimento se é de alto ou baixo risco oncogênico (VILLA, L.L.; DENNY, L., 2006). Sendo assim, esses métodos moleculares são de grande importância, pois são efetivos na identificação do vírus mesmo sem alterações morfológicas (WOLSCHICK et al., 2007).

No mercado global, estão disponíveis, segundo uma análise recente, pelo menos 254 testes distintos de HPV e 425 diferentes variações de ensaios, constatados em 2020. O estudo mostra também um comparativo do ano de 2015 com 193 testes de HPV distintos e 127 variantes, demonstrando um aumento de 31%. Apesar desse aumento exponencial na quantidade de testes, mais de 90% deles não foram submetidos a uma avaliação regulatória ou não passaram por um protocolo rigoroso de validação clínica, e a grande maioria deles não possui qualquer avaliação analítica ou clínica publicada na literatura (POLJAK *et al.*, 2020).

A detecção do DNA ou RNA do HPV através de técnicas moleculares é considerada o padrão-ouro para identificação do vírus. Existem três categorias de ensaios moleculares disponíveis para detectar a infecção por HPV em amostras de tecidos e células esfoliadas. Esses ensaios são baseados na detecção do DNA do vírus e incluem: ensaios de hibridização não amplificada, como a hibridização por transferência de Southern (STH), a hibridização por transferência de ponto (DB) e a hibridização *in situ* (ISH); ensaios de hibridização amplificada de sinal, como a captura híbrida; e ensaios de amplificação de alvo, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e a PCR *in situ* (LIE; KRISTENSEN, 2008).

Segundo o site oficial do *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos, atualizado em fevereiro de 2023, possui mais de quatro testes aprovados pelo *Center for Devices e pela Radiological Health*, baseados em ácidos nucleicos para detecção do HPV. Os mesmos estão listados na tabela 4 (FDA, 2023).

Tabela 4 - Testes de detecção do HPV aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA)

Nome do Teste	Nome Fabricante	Princípio do Teste
APTIMA HPV 16 18/45 Genotype Assay	Gen-Probe, Inc.	Detecção qualitativa do mRNA E6/E7 viral dos tipos 16, 18 e 45 do HPV
APTIMA HPV Assay	Gen-Probe, Inc.	Amplificação de ácido nucleico capaz de detectar mRNA dos tipos de alto risco.
BD ONCLARITY HPV ASSAY	BECTON, DICKINSON AND COMPANY	Amplificação do DNA por PCR e Hibridização de ácido nucleico, detecta 14 tipos de alto risco.
Cobas HPV	Roche Molecular Systems, Inc	Teste qualitativo in vitro, por PCR, para detecção dos tipos de alto risco de HPV.
Cervista HPV 16/18	Hologic, Inc.	Detecção DNA do tipo 16 e 18 por sequências específicas de ácidos nucleicos.
Cervista HPV HR and Genfind DNA Extraction	Hologic, Inc.	Qualitativo para detecção in vitro de DNA de 14 tipos diferentes de HPV de alto risco.
Cobas® HPV Test	Roche Molecular Systems, Inc.	Detecta DNA de 14 tipos de HPV de alto risco por PCR ou Hibridização de ácidos nucleicos
Digene Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test	Digene Corporation	Teste de captura híbrida capaz de detectar o DNA do HPV.

Legenda: mRNA: ácido ribonucleico mensageiro; HPV: papilomavírus humano; PCR: reação em cadeia de polimerase; DNA: ácido desoxirribonucleico; Fonte: Adaptado de *Food and Drug Administration* (FDA), 2023.

5.4.2.1 Captura Híbrida (CH)

A captura híbrida é um método de diagnóstico realizado através da coleta de células cérvico-vaginais com o auxílio de escova específica. A técnica é baseada na hibridização entre o DNA do vírus e sondas presentes no reagente, há sondas para vírus de baixo e alto risco. Na execução do método, são utilizadas placas com poços que possuem revestimento com anticorpos anti-híbridos, que possibilita a formação dos híbridos que são detectados por quimioluminescência, após a adição de substâncias que emitem luz, sendo assim, quanto maior o número de híbridos, maior será a emissão luminosa (MARTINS, 2014).

O teste baseado em captura híbrida que foi aprovado pela FDA e é utilizado amplamente como padrão ouro, é o *Hybrid Capture 2* da fabricante Qiagen® Corporation (ADORNO *et al.*, 2020).

Segundo a bula, o teste é capaz de detectar de forma qualitativa, 18 tipos de DNA do HPV de alto (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) e baixo risco em amostras cervicais. O procedimento se baseia em uma mistura específica de sonda de RNA do HPV, que hibridiza com amostras que possuem a presença do DNA alvo, formando a conjugação de híbridos RNA:DNA. Após, ocorre a ligação dos híbridos formados à um revestimento de anticorpos específicos com fosfatase alcalina alocados em uma microplaca. Ocorre a clivagem do substrato pela fosfatase alcalina, e a luz emitida é medida com auxílio de um luminômetro, que através da intensidade de luz, é capaz de indicar presença do DNA alvo na amostra. Sendo assim, a interpretação do resultado do teste (tabela 5) é emitido em Unidades Relativas de Luz (URL) (QIAGEN, 2017, IFTNER *et al.*, 2003).

O teste pode ser realizado de forma manual ou utilizando o equipamento chamado *Rapid Capture® System (RCS)*, que processa cerca de 352 amostras em um período de oito horas (QIAGEN, 2017).

Tabela 5 - Interpretação dos Resultados de testes Digene® HC2 HPV DNA pela fabricante Qiagen®

Valor de URL	Resultado
≥ 1,0 APENAS com sonda de HPV de baixo risco	“Positivas” para 1 ou mais tipos de HPV 6, 11, 42, 43 ou 44.
≥ 1,0 APENAS com sonda de HPV de alto risco	“Positivas” para 1 ou mais dos tipos de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 ou 68.
≥ 1,0 com a sonda de HPV de baixo risco e a sonda de HPV de alto risco	“Positivas” para 1 ou mais tipos de HPV de cada grupo de sondas
≥ 1,0 com a mistura de sondas combinadas	“Positivas” para 1 ou mais dos tipos de HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68.

Fonte: Adaptado pela bula do teste Digene® HC2 HPV DNA pela fabricante Qiagen® (2017)

5.4.2.2 Hibridização *in situ* (ISH)

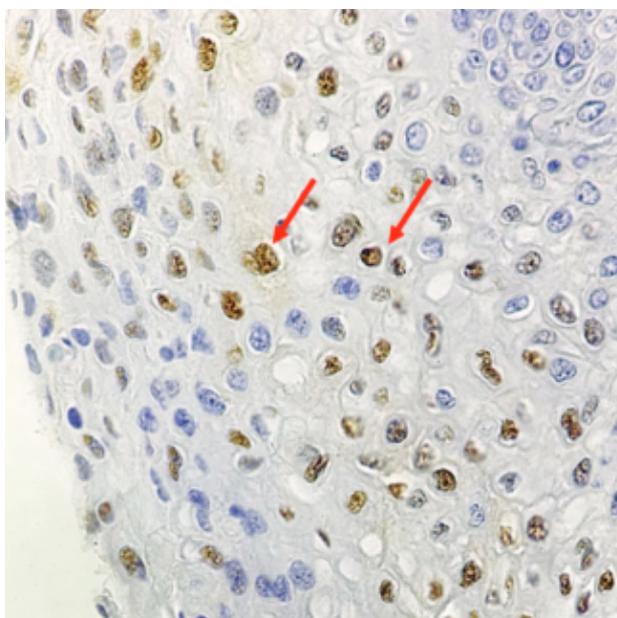
A hibridização *in situ* é uma técnica que pode ser aplicada em células individuais, seções de tecido ou tecidos inteiros, é utilizada para identificar e localizar sequências específicas de nucleotídeos, baseando-se na ligação complementar entre uma sonda de nucleotídeo (como cDNA, cRNA ou oligonucleotídeo sintético) e uma sequência alvo de RNA ou DNA. Os híbridos formados entre a sonda marcada e as sequências alvo específicas podem ser visualizados e detectados por meio de vários métodos, como:

1. Microscopia de fluorescência: os híbridos podem ser visualizados através de um microscópio de fluorescência, onde a sonda é marcada com um fluoróforo que emite luz quando excitado por uma determinada faixa de comprimento de onda;
2. Autorradiografia: a sonda é marcada com um isótopo radioativo, como o trítio (³H) ou o fósforo-32 (³²P) que emite uma radiação capaz de ser capturada em uma placa fotográfica ou um filme radiográfico, gerando uma imagem que revela a localização dos híbridos.

3. Detecção enzimática: O produto formado a partir da sonda marcada com uma enzima, como a fosfatase alcalina ou a peroxidase, é visualizado por coloração ou reação química específica, produzindo um sinal que indica a presença dos híbridos.
4. Detecção por amplificação: Algumas técnicas de hibridização *in situ* utilizam métodos de amplificação para aumentar a sensibilidade da detecção. Por exemplo, a reação em cadeia da polimerase (PCR) pode ser combinada com a hibridização *in situ* para amplificar os sinais de detecção (JENSEN *et al.*, 2014).

A hibridização *in situ* cromogênica (CISH) é uma variante da hibridização *in situ* que utiliza uma reação enzimática de peroxidase para permitir a visualização do HPV. As sondas são marcadas com digoxigenina e são utilizadas para se ligarem ao DNA do vírus nas células hospedeiras, em seguida a enzima peroxidase é adicionada e a partir de substratos apropriados, como a 3,3'-diaminobenzidina (DAB), ocorre a reação resultando na formação de um produto insolúvel de coloração amarronzada (Figura 10), com auxílio de um microscópio, pode ser observada no núcleo das células que contêm o DNA do HPV, permitindo a visualização e a identificação das células infectadas (ARAÚJO *et al.*, 2019).

Figura 10 - Foto da reação de hibridização *in situ* em amostra de colo uterino, com marcação positiva para HPV.



5.4.2.3 Método de Southern Blot

O método de Southern Blot é uma técnica molecular que foi amplamente utilizada para detectar e analisar a presença de sequências específicas de DNA em uma amostra. A metodologia do método envolve uma série de passos que acaba levando bastante tempo para realização do mesmo (MENDONÇA, L. M.; NETO, J. C. A., 2005).

Primeiro ocorre a extração do DNA a partir de células cervicais de pacientes, por exemplo. Esse DNA é digerido com auxílio de enzimas de restrição, também conhecidas como endonucleases de restrição que são enzimas que cortam o DNA em locais específicos, reconhecendo sequências de nucleotídeos específicas. Existem muitas enzimas de restrição diferentes, e cada uma reconhece uma sequência de DNA-alvo específica. Os fragmentos de DNA gerados são separados por tamanho, através de eletroforese em gel de agarose ou poliacrilamida, conforme seu tamanho e velocidade. Em seguida, os fragmentos são transferidos, através da técnica de transferência (blotting), para uma membrana de nitrocelulose ou nylon, que é incubada com uma sonda específica para o HPV, para ocorrer a hibridização. Uma lavagem ocorre após a hibridização para remover sondas não ligadas e então é feita a revelação, por meio de uma reação química usando autorradiografia, quimioluminescência ou fluorescência (WOLSCHICK et al., 2007; WANG *et al.*, 2013; TANG, 2002).

Essa metodologia permite identificar a presença do DNA do HPV na amostra e analisar sua presença ou quantidade por meio da análise dos fragmentos de DNA visualizados na membrana após a detecção. No entanto, é importante ressaltar que o método de Southern Blot não é mais amplamente utilizado para diagnóstico clínico do HPV, sendo substituído por técnicas mais sensíveis e específicas, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e a Captura Híbrida (CH) (CORRÊA *et al.*, 2009).

5.4.2.4 Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

O método de reação em cadeia de polimerase (PCR), é um exame altamente sensível, empregado principalmente em investigações para confirmar a presença ou ausência do material genético do HPV (NONNENMACHER *et al.*, 2002).

A técnica envolve a multiplicação do material genético viral, por meio da utilização de iniciadores (primers) que correspondem a sequências conservadas da região L do HPV, e com auxílio de enzima termoestável chamada de Taq polimerase.

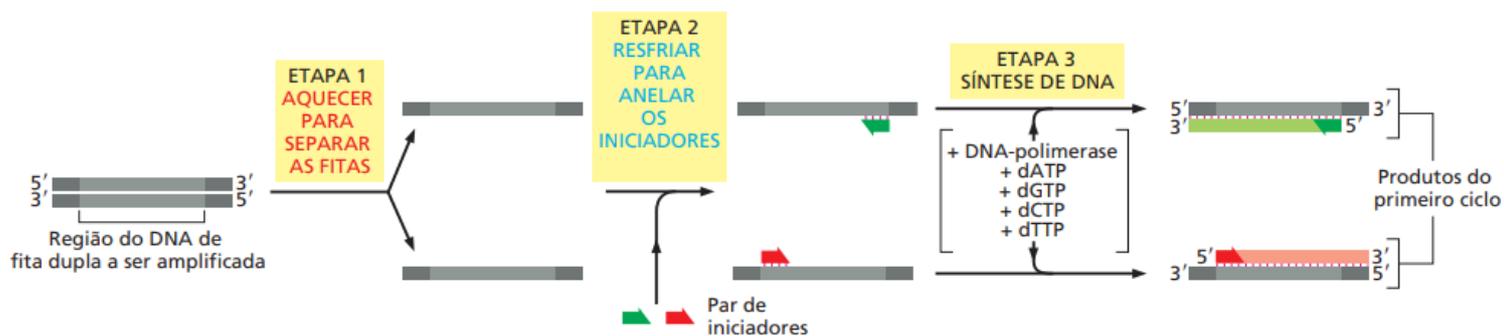
Além disso, quando o DNA é detectado nas amostras, possibilita a determinação do tipo genético do HPV através da amplificação de áreas particulares para cada um dos subtipos de alto ou baixo risco, frequentemente relacionadas às sequências dos genes E6 e E7 do HPV (BRINGHENTI *et al.*, 2010).

Para o HPV são utilizados iniciadores genéricos que têm a capacidade de amplificar uma região que é comum em 43 variedades de HPV, está localizada dentro do gene L1 do HPV. Os quatro iniciadores mais utilizados são MY09/11 e PGMY09/11 que promovem a amplificação de fragmentos de 450 pares de base (pb), MWP 170 pb, GP5+/GP6+ 110 pb e SPF/2 65 pb. A detecção desse método geralmente é realizada por meio de gel de eletroforese. Além disso, há outros tipos de kits disponíveis comercialmente que podem diferenciar os tipos de HPV por meio de genotipagem, utilizando iniciadores com alvos específicos para cada tipo de vírus. (PRAZERES B. 2011; DEL PINO *et al.*, 2017).

O mecanismo do PCR (Figura 8) normalmente compreende três principais etapas:

1. Desnaturação: através do aquecimento a temperatura elevada (90 a 95°C, geralmente) da amostra contendo a sequência alvo de DNA, ocorre o rompimento das ligações e conseqüentemente a desnaturação, ou seja, abertura da fita de DNA em fita simples.
2. Anelamento: com as fitas de DNA separadas, à temperatura reduzida (60°C) um par de primers se liga às sequências complementares do DNA alvo. Os primers complementam a fita oposta da sequência de DNA a ser amplificada, ou seja, um é complementar à sequência de uma das fitas e o outro complementar à outra fita.
3. Extensão: geralmente entre 72° a 75°C, a partir de um molde preparado, a enzima DNA polimerase é inserida na reação e acrescenta os nucleotídeos complementares que são essenciais para a síntese do DNA como dATP, dCTP, dGTP e dTTP (ALBERTS *et al.*, 2017).

Figura 11 - Principais Etapas do mecanismo do PCR.



Fonte: Alberts *et al.* (2017)

Ao longo de várias rodadas, ocorre a repetição dessas três etapas em um ciclo de amplificação, fazendo uso de um termociclador que regula automaticamente a temperatura. A cada ciclo, a quantidade de DNA-alvo presente é duplicada, resultando em uma amplificação exponencial, que posteriormente pode ser analisada de várias maneiras como sequenciamento de DNA, eletroforese em gel ou detecção fluorescente em tempo real (ALBERTS *et al.*, 2017).

A PCR é uma técnica poderosa e versátil que tem sido amplamente utilizada em uma variedade de aplicações, incluindo diagnóstico de doenças, pesquisa genética, análise forense e biologia molecular em geral (ALBERTS *et al.*, 2017).

Existe também, uma variação do método, que é o PCR-RT (do inglês, *real time*), que também segue a mesma metodologia do PCR convencional (desnaturação, anelamento e extensão) destacando-se pela habilidade de medir a expressão viral em tempo real, ou seja, consegue detectar e quantificar ao decorrer da sintetização. Sua vantagem em comparação com as outras técnicas moleculares é que além de detectar diversos tipos virais de alto risco determina também o tipo viral específico, consegue revelar a presença do vírus no início da infecção e possui um menor índice de contaminação da amostra (RODRIGUES, A. *et al.* 2009; MENÊSES *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2015).

Embora a técnica de PCR seja mais complexa e cara, em comparação com o método de captura híbrida 2 (CH2), a PCR tem a capacidade de identificar diversos tipos de HPV, indo além da simples classificação em grupos oncogênicos e não oncogênicos. Além disso, permitem uma quantificação mais precisa e reprodutível

da carga viral, oferecendo maior exatidão nos resultados (RODRIGUES, A. *et al.* 2009; SILVA *et al.*, 2015)

O teste BD Onclarity HPV Assay™ foi desenvolvido pela BD (Becton, Dickinson and Company) para detectar o HPV em amostras cervicais coletadas por citologia em meio líquido. É um teste baseado em PCR-RT, tem como alvo E6/E7, amplifica e detecta simultaneamente o DNA alvo com auxílio de primers e sondas de detecção marcadas com fluorescência, sendo possível a detecção de 14 genótipos de HPV de alto risco (EJEGOD *et al.*, 2021).

5.4.2.5 Testes Baseados em Microarray

Os testes baseados em microarranjo ou microarray, são utilizados para analisar a expressão gênica e identificar diferenças nos níveis de expressão entre amostras biológicas. Consiste em uma matriz de sondas de DNA ou RNA imobilizadas em um suporte sólido, como uma lâmina de vidro ou chip. Cada sonda representa um gene ou uma sequência específica de ácido nucleico (OH *et al.*, 2004).

Geralmente, é realizado a partir de uma amostra coletada por meio de um esfregaço ou raspado do colo do útero. O princípio fundamental desse teste é a hibridização entre as sondas marcadas e o material genético do HPV na amostra. A formação do pareamento entre as sequências complementares permite a detecção específica dos tipos de HPV presentes, proporcionando informações sobre a presença e a identificação dos vírus na amostra clínica (GROVER *et al.*, 2023; BALDWIN *et al.*, 2014).

Alguns passos são essenciais para a realização do teste:

1. Extração do DNA/RNA da amostra coletada, que pode ser realizado de diversos modos, como procedimentos laboratoriais ou com auxílio de kits comerciais específicos;
2. A partir do material genético extraído é realizada a amplificação do mesmo. Caso seja DNA pode ser amplificado através de PCR, com intuito de aumentar a quantidade de DNA disponível para análise. Se for RNA, é realizado através da PCR por transcrição reversa (RT-PCR) para gerar DNA complementar (cDNA);

3. Com a formação das sondas específicas para os diferentes tipos de HPV, elas são marcadas com corantes ou fluorescência para permitir sua detecção posteriormente;
4. Essas sondas são adicionadas à amostra e incubadas, para que se liguem seletivamente a sequências complementares de DNA ou RNA do HPV presente na amostra;
5. Com auxílio de um scanner de microarray ou sistema de identificação de marcações fluorescentes ou corante, é realizada a leitura para visualizar a intensidade dos sinais fluorescentes em cada sonda, que correspondem aos níveis de expressão gênica do vírus;
6. Os sinais detectados são analisados e comparados com um painel de sondas que representa os diferentes tipos de HPV conhecidos, com base no padrão de ligação das sondas é possível identificar quais os tipos de HPV estão presentes na amostra (SETLOW, 2011; BALDWIN *et al.*, 2014).

5.6 PREVENÇÃO

De acordo com a *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), a forma mais segura de prevenção de infecção pelo HPV é a vacinação, ela protege contra os mais frequentes vírus associados ao câncer (CDC, 2022).

A partir de 2014, o Calendário Nacional de Vacinação foi ampliado pelo Ministério da Saúde, com a adição da vacina quadrivalente contra os tipos de HPV 6 e 11 (aqueles que são de baixo risco oncogênico, mas são os maiores responsáveis pelas lesões mucosas) e 16 e 18 (que são os de alto risco oncogênico) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

A vacina apresenta maior eficácia em adolescentes antes do primeiro contato sexual (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Portanto, a recomendação é que a vacinação seja aplicada em meninas de idade entre 9 a 14 anos e meninos de 11 a 14 anos, com reforço de dose após 6 meses da 1ª dose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Em estudos de Holman *et al.* (2014) e Cates *et al.* (2018), trazem evidências sobre as dificuldades e hesitações dos pais e responsáveis dos indivíduos com idade indicada para a vacinação, uma vez que é necessário dialogar sobre como é transmitido o vírus.

O rastreamento consiste na utilização de exames em indivíduos sem sintomas, dentro de uma população-alvo estabelecida, com o intuito de diminuir a ocorrência de doenças específicas e seus efeitos negativos na saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020)

Sendo assim, o rastreamento do câncer cervical tem como objetivo detectar precocemente alterações no colo do útero que possam progredir para o câncer cervical. Através de testes de triagem como exame de Papanicolaou (citologia cérvico-vaginal) ou outros testes diagnósticos (CDC, 2022).

As Diretrizes para o Rastreamento do câncer do colo do útero recomenda o exame citopatológico em mulheres ou qualquer pessoa que possui útero, a partir dos 25 até os 64 anos, que já tiveram ou têm atividade sexual. O recomendado é realizar o exame Papanicolaou repetidamente a cada três anos, após dois exames normais consecutivos com um intervalo de um ano. Essa abordagem tem como objetivo minimizar a chance de resultado falso-negativo na primeira etapa do rastreamento (INCA, 2016).

Também é recomendado, embora não ofereça uma proteção completa contra o HPV, o uso de preservativo durante relações sexuais pode ajudar a redução do risco de infecção, além de possuir um número reduzido de parceiros (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2018).

6 CONCLUSÃO

Os exames moleculares para diagnóstico do HPV têm se mostrado ferramentas valiosas na detecção e monitoramento dessa infecção viral. Esses exames oferecem diversas vantagens em comparação com os métodos tradicionais, como a colposcopia e a citologia cérvico-vaginal (Papanicolaou).

Os exames moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e o teste de Captura Híbrida (CH), permitem a identificação do DNA do HPV com alta sensibilidade e especificidade. Eles são capazes de detectar a presença do vírus mesmo em casos de infecção subclínica ou quando a carga viral é baixa, o que pode passar despercebido em outros métodos.

Esses testes também fornecem informações sobre o tipo de HPV presente, sendo alguns tipos considerados de alto risco para o desenvolvimento de lesões pré-cancerígenas e câncer do colo do útero. Essa informação é essencial para orientar o acompanhamento e o tratamento adequado, permitindo a intervenção precoce e reduzindo os riscos de complicações.

Outra vantagem dos exames moleculares é a possibilidade de avaliar a carga viral, ou seja, a quantidade de DNA do HPV presente. Esse dado pode ser útil na monitorização da resposta ao tratamento, auxiliando os profissionais de saúde na avaliação da eficácia terapêutica e na tomada de decisões clínicas.

No entanto, é importante ressaltar que os exames moleculares para o diagnóstico de HPV têm custos mais elevados em comparação com os métodos tradicionais. Portanto, é necessário considerar os aspectos econômicos e a disponibilidade desses testes em diferentes contextos de saúde.

Em suma, os exames moleculares têm se mostrado valiosos na detecção e monitoramento do HPV, fornecendo informações precisas sobre a presença do vírus, o tipo de HPV e a carga viral. Essas informações são fundamentais para o planejamento do tratamento e a prevenção de complicações relacionadas ao HPV, contribuindo para uma abordagem mais eficaz e personalizada no cuidado da saúde das pessoas afetadas por essa infecção viral.

REFERÊNCIAS

ADORNO, Flora A. *et al.* The usefulness of high-risk HPV hybrid capture in patients with squamous cell atypia in cervical cytological examination. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 56, n. 1, p. 1-20, 20 jan. 2020. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/1676-2444.20200006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/7qrnx97XcvFKfQFHZWjBMPj/?lang=en>. Acesso em: 12 maio 2023.

ALBERTS, Bruce *et al.* **Biologia Molecular da Célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 1464 p.

A MACHALEK, Dorothy *et al.* Anal human papillomavirus infection and associated neoplastic lesions in men who have sex with men: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Oncology**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 487-500, maio 2012. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(12\)70080-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(12)70080-3).

ANTONSSON, Annika; MCMILLAN, Nigel A. J.. Papillomavirus in healthy skin of Australian animals. **Journal Of General Virology**, [S.L.], v. 87, n. 11, p. 3195-3200, 1 nov. 2006. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.82195-0>.

ARAÚJO, E. S. *et al.* Avaliação do Seguimento de Mulheres com Exames Citopatológicos Alterados de acordo com as Condutas Preconizadas pelo Ministério da Saúde do Brasil em Goiânia , Goiás. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 60, n. 1, p. 7–13, 2014.

ARAÚJO, *et al.* A pesquisa do papilomavírus humano (HPV) pela reação de hibridização in situ realizada no Núcleo de Patologia Quantitativa do Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 16, n. 184, p. 1-11, abr. 2019. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/BEPA182/issue/view/2268/90>. Acesso em: 30 maio 2023.

BERNARD, Hans-Ulrich; BURK, Robert D.; CHEN, Zigui; VAN DOORSLAER, Koenraad; ZUR HAUSEN, Harald; VILLIERS, Ethel-Michele de. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. **Virology**, [S.L.], v. 401, n. 1, p. 70-79, maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2010.02.002>.

BOGANI, Giorgio *et al.* The role of human papillomavirus vaccines in cervical cancer: prevention and treatment. **Critical Reviews In Oncology/Hematology**, [S.L.], v. 122, p. 92-97, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.12.017>.

BRAVO, Ignacio G.; SANJOSÉ, Silvia de; GOTTSCHLING, Marc. The clinical importance of understanding the evolution of papillomaviruses. **Trends In Microbiology**, [S.L.], v. 18, n. 10, p. 432-438, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2010.07.008>.

BRINGHENTI, Márcia Elena *et al.* Prevenção do Câncer Cervical: associação da citologia oncótica a novas técnicas de biologia molecular na detecção do

papilomavírus humano (hpv). **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, [S.L.], v. 22, n. 3, p. 135-140, 2010. Zeppelini Editorial e Comunicacao. <http://dx.doi.org/10.5533/2177-8264-201022305>.

BRUNI L et al. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report 17 June 2019.

CARTER, Joseph J. *et al.* Comparison of Human Papillomavirus Types 16, 18, and 6 Capsid Antibody Responses Following Incident Infection. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 181, n. 6, p. 1911-1919, jun. 2000. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1086/315498>.

CASTRO, Therezita M. Peixoto Patury Galvão *et al.* Detecção de HPV na mucosa oral e genital pela técnica PCR em mulheres com diagnóstico histopatológico positivo para HPV genital. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, [S.L.], v. 75, n. 2, p. 167-171, abr. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-72992009000200002>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rboto/a/S9z7MKr7Rz5mn6TQnC7nFNM/?lang=pt>. Acesso em: 26 maio 2023.

CATES, Joan R. *et al.* Developing a Serious Videogame for Preteens to Motivate HPV Vaccination Decision Making: land of secret gardens. **Games For Health Journal**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 51-66, fev. 2018. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/g4h.2017.0002>.

CONSOLARO *et al* (org.). **CITOLOGIA CLÍNICA, CÉRVICO-VAGINAL**: texto e atlas. São Paulo: Editora Roca Ltda, 2014.

CORRÊA, Christine Miranda *et al.* Coinfecção HIV-HPV: prevalência e multiplicidade de genótipos do HPV no colo uterino. **Feminina**, São Paulo, v. 37, n. 6, p. 319-323, jun. 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Nara-Carvalho/publication/222089881_Coinfeccao_HIV-HPV_prevalencia_e_multiplicidade_de_genotipos_do_HPV_no_colo_uterino/links/0d1c84f77643c76a20000000/Coinfeccao-HIV-HPV-prevalencia-e-multiplicidade-de-genotipos-do-HPV-no-colo-uterino.pdf. Acesso em: 31 maio 2023.

DARRAGH, Teresa M. *et al.* The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the college of american pathologists and the american society for colposcopy and cervical pathology. **Archives Of Pathology & Laboratory Medicine**, [S.L.], v. 136, n. 10, p. 1266-1297, 1 out. 2012. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. <http://dx.doi.org/10.5858/arpa.lgt200570>.

DEL PINO, M. *et al.* Comparison of the analytical and clinical performance of five tests for the detection of human papillomavirus genital infection. **Journal of virological methods**, v. 248, p. 238–243, 2017.

EJEGOD, Ditte Møller *et al.* Clinical Validation of the Onclarity Assay After Assay Migration to the High-Throughput COR Instrument Using SurePath Screening

Samples From the Danish Cervical Cancer Screening Program. **American Journal Of Clinical Pathology**, [S.L.], v. 157, n. 3, p. 390-398, 21 set. 2021. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/aqab138>.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ (org.). **Prevenção e tratamento do HPV**. 2018.

Disponível em:

<https://portal.fiocruz.br/noticia/prevencao-e-tratamento-do-hpv#:~:text=A%20infec%C3%A7%C3%A3o%20pelo%20HPV%20%C3%A9,red%C3%A7%C3%A3o%20do%20risco%20dessa%20infec%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 25 maio 2023.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Nucleic Acid Based Tests**. 2023.

Disponível

em: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/nucleic-acid-based-tests>. Acesso em: 22 maio 2023.

GARLAND, Suzanne M. *et al.* Natural History of Genital Warts: analysis of the placebo arm of 2 randomized phase iii trials of a quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) vaccine. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 199, n. 6, p. 805-814, 15 mar. 2009. Oxford University Press (OUP).

<http://dx.doi.org/10.1086/597071>.

GARLAND, Suzanne M. *et al.* Human Papillomavirus Vaccines. **Drugs**, [S.L.], v. 70, n. 9, p. 1079-1098, jun. 2010. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.2165/10898580-000000000-00000>.

GUO, Ming *et al.* Evaluation of a Commercialized In Situ Hybridization Assay for Detecting Human Papillomavirus DNA in Tissue Specimens from Patients with Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cervical Carcinoma. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 46, n. 1, p. 274-280, jan. 2008. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.01299-07>. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2224284/>. Acesso em: 09 maio 2023.

HOLMAN, Dawn M. *et al.* Barriers to Human Papillomavirus Vaccination Among US Adolescents. **Jama Pediatrics**, [S.L.], v. 168, n. 1, p. 76, 1 jan. 2014. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jamapediatrics.2013.2752>.

IFTNER, T. *et al.* Chapter 12: human papillomavirus technologies. **Jnci Monographs**, [S.L.], v. 2003, n. 31, p. 80-88, 1 jun. 2003. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a003487>.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. **Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero**. – 2. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: INCA, 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Detecção precoce do câncer**. Rio de Janeiro: Coordenação de Ensino, 2021.

Disponível em:

<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//deteccao-precoce-do-cancer.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2023.

INCA. (org.). **DADOS E NÚMEROS SOBRE CÂNCER DO COLO DO ÚTERO:** relatório anual 2022. Relatório Anual 2022. 2022. Disponível em: <https://antigo.inca.gov.br/publicacoes/relatorios/dados-e-numeros-sobre-cancer-do-colo-do-utero-relatorio-anual-2022>. Acesso em: 25 maio 2023.

INCA (org.). **Estimativa | 2023 Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Coordenação de Ensino, 2022. 162 p. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 25 maio 2023.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Cancer today**. Lyon: WHO, 2020. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/home> Acesso em: 25 mar. 2023.

LIE, A Kathrine; KRISTENSEN, Gunnar. Human papillomavirus E6/E7 mRNA testing as a predictive marker for cervical carcinoma. **Expert Review Of Molecular Diagnostics**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 405-415, jul. 2008. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1586/14737159.8.4.405>.

JENSEN, Ellen *et al.* Technical Review: in situ hybridization. **The Anatomical Record**, [S.L.], v. 297, n. 8, p. 1349-1353, 9 maio 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ar.22944>.

LETO, Maria das Graças Pereira et al. **Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas**. Anais Brasileiros de Dermatologia, [S.L.], v. 86, n. 2, p. 306-317, abr. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962011000200014>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abd/a/W8xQS6MSSk7tT8CLRCnbs8f/?lang=pt>. Acesso em: 05 jun. 2023

MARTINS, Nelson Valente (ed.). **Patologia do Trato Urinário Inferior: diagnóstico e tratamento**. 2. ed. São Paulo: Editora Roca Ltda, 2014.

MENDONÇA, L. M.; NETO, J. C. A. **Importância da infecção pelo papilomavírus humano em pacientes do sexo masculino**. DST - Jornal Brasileiro Doenças Sexualmente Transmissíveis, [S.l.] v. 17, n. 4, p. 306 - 310, 2005. Disponível em: <https://www.bjstd.org/revista/article/view/597/528> Acesso em: 30 maio 2023.

MENÊSES, Marta Soraia L. *et al.* Evolução da técnica de PCR: sua contribuição no diagnóstico da infecção por HPV. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 18, n. 3, p. 361-366, dez. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. (org.). **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST)**. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/aids/pt-br/centrais-de-conteudo/pcdts/2022/ist/pcdt-ist-2022_isbn-1.pdf/view Acesso em: 22 maio 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (org.). **HPV**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/h/hpv> Acesso em: 25 maio 2023

MINISTÉRIO DA SAÚDE (org.). **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: atenção integral às pessoas com infecções sexualmente transmissíveis (ist)**. Brasília: Assessoria de Comunicação, 2015. 122 p. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_diretrizes_terapeutica_atencao_integral_pessoas_infecoes_sexualmente_transmissiveis.pdf. Acesso em: 25 maio 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (org.). **Técnico em Citopatologia**: Caderno de Referência 1: Citopatologia Ginecológica. 2012. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tecnico_citopatologia_caderno_referencia_1.pdf. Acesso em: 24 maio 2023.

MUÑOZ, Nubia *et al.* Chapter 1: hpv in the etiology of human cancer. **Vaccine**, [S.L.], v. 24, p. 1-10, ago. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.05.115>.

NAYAR, Ritu *et al.* The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: a historical perspective. **Acta Cytologica**, [S.L.], v. 61, n. 4-5, p. 359-372, 2017. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000477556>.

NELSON, Chase W. *et al.* **Human papillomavirus genomics: understanding carcinogenicity**. *Tumour Virus Research*, [S.L.], v. 15, p. 200258, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvr.2023.200258>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666679023000058?via%3Dihub#sec2>. Acesso em: 05 jun. 2023.

NONNENMACHER, Bernadete *et al.* Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. **Revista de Saúde Pública**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 95-100, fev. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-89102002000100015>.

OYOUNI, Atif Abdulwahab A. *et al.* **Human papillomavirus in cancer: infection, disease transmission, and progress in vaccines**. *Journal Of Infection And Public Health*, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 626-631, abr. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2023.02.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034123000564?via%3Dihub#bib20>. Acesso em: 05 jun. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (org.). **O câncer cervicouterino**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer> Acesso em: 25 maio 2023.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE (org.). **HPV e câncer do colo do útero**. 2022. Disponível em: [https://www.paho.org/pt/topicos/hpv-e-cancer-do-colo-do-utero#:~:text=Dois%20tipos%20de%20HPV%20\(16,%2C%20vagina%2C%20p%3C%AAAnis%20e%20orofaringe](https://www.paho.org/pt/topicos/hpv-e-cancer-do-colo-do-utero#:~:text=Dois%20tipos%20de%20HPV%20(16,%2C%20vagina%2C%20p%3C%AAAnis%20e%20orofaringe).

. Acesso em: 22 maio 2023.

PAPANICOLAOU, G. N.. New Cancer Diagnosis. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 174-179, 1 maio 1973. Wiley.
<http://dx.doi.org/10.3322/canjclin.23.3.174>.

POLJAK, M. *et al.* Commercially available molecular tests for human papillomaviruses: a global overview. **Clinical Microbiology And Infection**, [S.L.], v. 26, n. 9, p. 1144-1150, set. 2020. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2020.03.033>.

PRAZERES, B. A. P. Prevalência de HPV em material cérvico-uterino de mulheres de ToméAçú – PA. 2011. 56 f. Dissertação (Mestrado) – Curso Doenças Tropicais. Universidade Federal do Pará, Belém, 2011.

PRENDIVILLE, Walter; SANKARANARAYANAN, Rengaswamy. **COLPOSCOPY AND TREATMENT OF CERVICAL PRECANCER**. 45. ed. Lyon: International Agency For Research On Cancer, 2017. Disponível em:
<https://publications.iarc.fr/555>. Acesso em: 14 jun. 2023.

QIAGEN. **Manual do kit QIAamp® DSP DNA FFPE Tissue**. 2017.

RODRIGUES, Adriana Dalpicolli *et al.* Comparação das técnicas de captura de híbridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, [S.L.], v. 45, n. 6, p. 457-462, dez. 2009. FapUNIFESP (SciELO).
<http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442009000600004>. Disponível em:
<https://www.scielo.br/j/jbpm/a/bYb4qQQNZBgZVjyQQBqwzGC/abstract/?lang=pt>.
Acesso em: 30 maio 2023.

RONCO, Guglielmo *et al.* Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four european randomised controlled trials. **The Lancet**, [S.L.], v. 383, n. 9916, p. 524-532, fev. 2014. Elsevier BV.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)62218-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(13)62218-7).

SASIENI, P. Cervical cancer prevention and hormonal contraception. **The Lancet**, [London], v. 370, n. 9599, p. 1591-1592, 10 Nov 2007.

SILVA, Elisvania Rodrigues da *et al.* Diagnóstico molecular do papilomavírus humano por captura híbrida e reação em cadeia da polimerase. **Feminina**, São Paulo, p. 181-184, jul. 2015. Disponível em:
<https://www.febrasgo.org.br/pt/femina/item/68-revista-femina-2015-vol-43-n-4>.
Acesso em: 20 maio 2023.

STEINAU, Martin *et al.* Performance of Commercial Reverse Line Blot Assays for Human Papillomavirus Genotyping. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 50, n. 5, p. 1539-1544, maio 2012. American Society for Microbiology.
<http://dx.doi.org/10.1128/jcm.06576-11>.

STOLER, Mark H. *et al.* Human Papillomavirus Biology and Cervical Neoplasia: implications for diagnostic criteria and testing. **Archives Of Pathology & Laboratory**

Medicine, [S.L.], v. 127, n. 8, p. 935-939, 1 ago. 2003. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. <http://dx.doi.org/10.5858/2003-127-935-hpbacn>.

TANG, Dr. W. K. Oncogenic Human Papillomavirus Infection: Epidemiology in Local High-Risk Women. **Social Hygiene Service, Department Of Health**, Hong Kong, v. 10, n. 4, p. 160-163, dez. 2002. Disponível em: <https://medcomhk.com/hkdvb/pdf/200212-03.pdf>. Acesso em: 30 maio 2023.

VAN DOORSLAER, Koenraad *et al.* The Papillomavirus Episteme: a central resource for papillomavirus sequence data and analysis. **Nucleic Acids Research**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 571-578, 23 out. 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gks984>.

VIDAL, Flávia Castello Branco *et al.* **Análise crítica dos métodos moleculares para detecção do papilomavírus humano: revisão da literatura**. Feminina, São Paulo, p. 263-267, ago. 2012. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2012/v40n5/a3416.pdf>. Acesso em: 05 jun. 2023.

VILLA, L.L.; DENNY, L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility, International Journal of Gynecology & Obstetrics, vol. 94, suppl. 01, p. S71-S80, 2006.

VILLIERS, Ethel-Michele de *et al.* Classification of papillomaviruses. **Virology**, [S.L.], v. 324, n. 1, p. 17-27, jun. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2004.03.033>.

WANG, Jin-Liang *et al.* Application of Human Papillomavirus in Screening for Cervical Cancer and Precancerous Lesions. **Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention**, [S.L.], v. 14, n. 5, p. 2979-2982, 30 maio 2013. Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. <http://dx.doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.5.2979>.

WILD, C. P.; WEIDERPASS, E.; STEWART, B. W. (ed.). **World cancer report: cancer research for cancer prevention**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020. Disponível em: <http://publications.iarc.fr/586>. Acesso em: 13 jun. 2023.

WOLSCHICK, N. M. *et al.* Câncer do colo do útero: tecnologias emergentes no diagnóstico, tratamento e prevenção da doença. Revista Brasileira de Análises Clínicas, [S.L.] v. 39 n. 2, p. 123 - 129, Fev., 2007. Disponível em http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac_39_02/rbac_39_2_08.pdf. Acesso em: 12 mai. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus**. 2013. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85343/9789241505840_eng.pdf. Acesso em: 20 maio 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO report on cancer:** setting priorities, investing wisely and providing care for all. Geneva: World Health Organization, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/who-report-on-cancer-setting-priorities-investing-wisely-and-providing-care-for-all>. Acesso em: 21 dez. 2020.