



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Mirela de Aparecida Velho Feistauer

Avaliação dos resultados de citologia líquida e detecção de HPV para diagnóstico precoce de câncer de colo do útero em mulheres da Grande Florianópolis/SC

Florianópolis

2024

Mirela de Aparecida Velho Feistauer

Avaliação dos resultados de citologia líquida e detecção de HPV para diagnóstico precoce de câncer de colo do útero em mulheres da Grande Florianópolis/SC

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra Farmácia na área de concentração em Análises Clínicas.

**Orientadora:** Profa. Dra. Maria Luiza Bazzo

**Coorientador:** Prof. Dr. Alexandre Sherlley Casimiro Onofre

Florianópolis

2024

Feistauer, Mirela de Aparecida Velho

Avaliação dos resultados de citologia líquida e detecção de HPV para diagnóstico precoce de câncer de colo do útero em mulheres da Grande Florianópolis/SC / Mirela de Aparecida Velho Feistauer ; orientadora, Maria Luiza Bazzo, coorientador, Alexandre Sherlley Casimiro Onofre, 2024.

78 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. PCR para HPV de alto risco. 3. Citologia em meio líquido. 4. Câncer de colo de útero. 5. Rastreio. I. Bazzo, Maria Luiza. II. Sherlley Casimiro Onofre, Alexandre. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

Mirela de Aparecida Velho Feistauer

Avaliação dos resultados de citologia líquida e detecção de HPV para diagnóstico precoce de câncer de colo do útero em mulheres da Grande Florianópolis/SC

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 25 de março de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Flávia Martinello, Dra.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Pâmela Cristina Gaspar, Dra.  
Ministério da Saúde

Marcos André Schörner, Dr.  
LBMMS/FAPEU

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestra em Farmácia.

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Prof.(a) Maria Luiza Bazzo, Dra.  
Orientador(a)

Florianópolis, 2024

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu marido Rafael, que foi meu grande incentivador, esteve sempre ao meu lado, sendo meu principal apoio.

À Arlete Corso, minha inspiração, que me direcionou para a vida acadêmica e com seu exemplo de vida, mostrou que a dedicação nos leva a lugares impensáveis.

À Dra Annelise Lopes, por sugerir a ideia deste estudo, abrindo as portas do Santa Luzia para disponibilizar os dados, seu apoio foi imprescindível para a conclusão deste trabalho.

À Profa. Dra. Maria Luiza Bazzo, por me acolher e aceitar desenvolver este estudo, mesmo ciente do grande desafio que seria conciliar o trabalho com a vida acadêmica, possibilitou que eu amadurecesse durante o processo e chegasse até o fim.

À minha banca de qualificação Profa. Dra. Flávia Martinello e Prof. Dr. Alexandre Onofre pelas valiosas sugestões e correções. Em especial, Prof. Alexandre que também me acolheu e com sua vasta experiência, direcionou para a construção dos resultados.

À Profa. Dra. Ana Carolina Moraes, por auxiliar nas análises estatísticas e na construção dos resultados, suas aulas de estatística fizeram com que eu gostasse muito desta área e encontrasse prazer em trabalhar nos dados.

Ao Laboratório Santa Luzia / Dasa por disponibilizar os dados deste estudo e possibilitar o desenvolvimento desta pesquisa, a equipe de gestão e colegas que me apoiaram nos momentos em que estava em aulas, dando suporte para as minhas equipes.

## RESUMO

**Introdução/Objetivo:** O câncer de colo de útero é uma das neoplasias malignas mais frequentes entre as mulheres no Brasil e no mundo e o Papilomavírus humano (HPV) é o principal fator etiológico para o desenvolvimento de lesões precursoras de câncer. Estimasse que entre 2023 e 2025 serão diagnosticados 17 mil novos casos no Brasil. O exame de citologia convencional foi a principal ferramenta para o rastreamento do câncer de colo de útero e com o passar do tempo, a citologia em meio líquido surgiu para contribuir com a qualidade dos resultados liberados em conjunto com o PCR para detecção do HPV de alto risco. O principal objetivo deste trabalho é avaliar os resultados da citologia em meio líquido com a detecção de HPV simultaneamente em mulheres em idades entre 18 e 80 anos atendidas em laboratório da rede privada na região da Grande Florianópolis/SC, no período de julho de 2018 até dezembro de 2021. **Método:** Trata-se de um estudo epidemiológico descritivo de dados secundários, extraídos de banco de dados proveniente do Laboratório Dasa na marca Santa Luzia em Florianópolis/SC, Brasil. Os dados foram disponibilizados em planilha Excel. Os exames avaliados foram de citologia em meio líquido, PCR para HPV de alto risco oncogênico, PCR para identificação (se solicitado) dos agentes infecciosos do trato genital como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, Mycoplasma, Ureaplasma, Herpes Simples I e II, *Streptococcus agalactiae* e *Candida albicans*. Os resultados foram organizados e foram tabulados em Excel, as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SPSS® (versão 22). As variáveis foram expressas em frequências absoluta e relativa. Para a associação entre os dados foi empregado o teste de Qui-quadrado. Foi considerado significativo um P-valor  $\leq 0,05$ . Todas as análises foram avaliadas em relação ao total e distribuídas em faixas etárias. **Resultados:** O total de amostras avaliadas foi de 47.822, após as exclusões, avaliamos 36.284 resultados. Para a citologia em meio líquido identificamos positividade de 9,9% com resultado de lesões de alto grau (HSIL) representando 0,28% do total, a prevalência de HPV foi de 14,4%, com maior índice de positividade com o genótipo não 16 e/ou 18. Quando avaliado em relação à faixa etária, a maior prevalência de lesões e a presença do HPV de alto risco foi identificada em dois grupos (18 a 24 anos e 25 a 29 anos). **Conclusões:** Identificamos nesse grupo que as mulheres com idade inferiores a 30 anos estão mais expostas à infecção pelo HPV e a presença de lesões na citologia. Foi possível verificar que as solicitações de exames da rede privada não seguem as diretrizes brasileiras e não tem padronização para o rastreamento e prevenção do câncer de colo de útero, evidenciando a necessidade de revisão nas recomendações de rastreamento e inclusão da pesquisa do HPV por métodos moleculares tanto para a rede pública quanto para privada no Brasil.

**Palavras-chave:** PCR para HPV de alto risco; Citologia em meio líquido; Câncer de colo de útero; Rastreamento.

## ABSTRACT

**Introduction/Objective:** Cervical cancer is one of the most common malignant neoplasms among women in Brazil and around the world and the Human Papillomavirus (HPV) is the main etiological factor for the development of cancer precursor lesions. It is estimated that between 2023 and 2025 17 thousand new cases will be diagnosed in Brazil. The conventional cytology exam was the main tool for screening cervical cancer and over time, liquid cytology emerged to contribute to the quality of the results released in conjunction with PCR for detecting high-quality HPV. risk. The main objective of this work is to evaluate the results of cytology in liquid media with the detection of HPV simultaneously in women aged between 18 and 80 years seen in a private laboratory in the Greater Florianópolis/SC region, from July 2018 to December 2021. **Method:** This is a descriptive epidemiological study of secondary data, extracted from a database from the Dasa Laboratory at the Santa Luzia brand in Florianópolis/SC, Brazil. The data was made available in an Excel spreadsheet. The tests evaluated were liquid cytology, PCR for high oncogenic risk HPV, PCR for identification (if requested) of infectious agents of the genital tract such as Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma, Ureaplasma, Herpes Simplex I and II, Streptococcus agalactiae and Candida albicans. The results were organized and tabulated in Excel, statistical analyzes were carried out using SPSS® software (version 22). The variables were expressed as absolute and relative frequencies. For the association between data, the Chi-square test was used. A P-value  $\leq 0.05$  was considered significant. All analyzes were evaluated in relation to the total and distributed into age groups. **Results:** The total number of samples evaluated was 47,822, after exclusions, we evaluated 36,284 results. For cytology in liquid media, we identified a positivity of 9.9% with the result of high-grade lesions (HSIL) representing 0.28% of the total, the prevalence of HPV was 14.4%, with a higher rate of positivity with the genotype not 16 and/or 18. When evaluated in relation to age group, the highest prevalence of lesions and the presence of high-risk HPV was identified in two groups (18 to 24 years old and 25 to 29 years old). **Conclusions:** We identified in this group that women under 30 years of age are more exposed to HPV infection and the presence of lesions on cytology. It was possible to verify that requests for exams from the private network do not follow Brazilian guidelines and there is no standardization for the screening and prevention of cervical cancer, highlighting the need to review screening recommendations and include HPV research using molecular methods for both the public and private networks in Brazil.

**Keywords:** PCR for high-risk HPV; Cytology in liquid media; Cervical cancer; Tracking.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura HPV 16 .....	18
Figura 2: Resumo das principais atividades das proteínas E.....	20
Figura 3: Ciclo da infecção do HPV.....	21
Figura 4: Estimadas de incidência de câncer de colo de útero no Brasil. ....	25
Figura 5: Comparação entre lâmina de citologia convencional (A) .....	27
Figura 6: Imagens de citologia normal. ....	28
Figura 7: Imagem representando células de ASC-US.....	29
Figura 8: Imagem representando células com ASC-H .....	29
Figura 9: Imagem representando LSIL.....	30
Figura 10: Imagem representando HSIL, .....	31
Figura 11: Imagem de células glandulares atípicas .....	31
Figura 12: Representação do colo do útero e as camadas celulares.....	32
Figura 13 - Resultados diagnóstico descritivo .....	41
Figura 14 - Resultados citologia de mulheres de 18 a 24 anos.....	42
Figura 15 - Resultados citologia de mulheres de 25 a 29 anos.....	42
Figura 16 - Resultados citologia de mulheres de 30 a 45 anos.....	43
Figura 17: Resultados citologia de mulheres de 46 a 65 anos .....	44
Figura 18: Resultados citologia de mulheres de 66 a 80 anos .....	45

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação dos parâmetros da citologia em meio líquido .....	39
Quadro 2– Padronização por idade.....	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Associação entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco.....	47
Tabela 2: Associação entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 18 a 24 anos. ....	49
Tabela 3: Associação entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 25 a 29 anos. ....	50
Tabela 4: Associação entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 30 a 35 anos ....	51
Tabela 5: Associação entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 46 a 65 anos ....	53
Tabela 6: Associação entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 66 a 80 anos ....	54
Tabela 7 – Associação entre os resultados de resultados de citologia em meio líquido, PCR para <i>Chlamydia trachomatis</i> e PCR para HPV. ....	56
Tabela 8 – Agentes infecciosos encontrados por PCR no trato genital feminino de pacientes da grande Florianópolis, em amostra em meio líquido PCR. ....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ASC-US.: Células escamosas atípicas de significado indeterminado.
- ASC-H....: Células escamosas atípicas, não sendo possível excluir lesão intraepitelial escamosa de alto grau.
- CAP.....: Colégio americano de patologia
- CGA.....: Células glandulares atípicas
- CC.....: Câncer de colo de útero
- Ct.....: Cycle threshold
- DASA.....: Diagnósticos da América
- DNA.....: Ácido desoxirribonucleico
- EROS.....: Espécies reativas de oxigênio
- IDH.....: Índice de desenvolvimento Humano
- IEPD.....: Instituto de Ensino e Pesquisa Dasa
- INCA.....: Instituto Nacional do Câncer
- HR.....: High risk
- HPV.....: Papilomavirus Humano
- HSIL.....: Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
- JEC.....: Junção escamo-colunar
- LIS.....: Sistema de informação laboratorial
- LR.....: Low risk
- LSIL.....: Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau
- Mudt.....: Multiple detection temperature
- NTO.....: Núcleo técnico operacional
- OMS.....: Organização mundial da saúde
- PCR.....: Reação em cadeia da polimerase
- pRb.....: Protein retinoblastoma
- TOCE.....: Technology oligonucleotide cleavage and extension

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
3.1	BREVE HISTÓRICO .....	17
3.2	PAPILOMAVÍRUS HUMANO – HPV.....	17
3.3	GENOMA DO HPV .....	18
3.4	PAPEL DAS PROTEÍNAS DA REGIÃO INICIAL (E) .....	18
3.5	CICLO DE INFECÇÃO DO HPV .....	20
3.6	VACINAÇÃO .....	22
3.7	EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER CERVICAL .....	23
3.8	MÉTODOS PARA DIAGNÓSTICO .....	26
<b>3.8.1</b>	<b>Citologia oncótica</b> .....	<b>26</b>
<b>3.8.2</b>	<b>Colposcopia</b> .....	<b>33</b>
<b>3.8.3</b>	<b>Diagnóstico molecular do HPV</b> .....	<b>33</b>
3.8.3.1	<i>Captura Híbrida</i> .....	34
3.8.3.2	<i>PCR em Tempo Real</i> .....	35
3.8.3.3	<i>Anyplex e Allplex</i> .....	35
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>37</b>
4.1	DESENHO DO ESTUDO E CASUÍSTICA .....	37
4.2	TRATAMENTO DOS DADOS NO EXCEL.....	38
4.3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	39
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
5.1	RESULTADOS CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO .....	40
<b>5.1.1</b>	<b>Adequabilidade da amostra</b> .....	<b>40</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Diagnóstico descritivo</b> .....	<b>40</b>
5.2	CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E HPV PCR ALTO RISCO .....	45
5.3	CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E HPV PCR ALTO RISCO ESTRATIFICADOS POR IDADE.....	47
<b>5.3.1</b>	<b>Análise dos resultados de mulheres de 18 a 24 anos</b> .....	<b>48</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Análise dos resultados de mulheres de 25 a 29 anos</b> .....	<b>49</b>

<b>5.3.3</b>	<b>Análise dos resultados de mulheres de 30 a 45 anos .....</b>	<b>50</b>
<b>5.3.4</b>	<b>Análise dos resultados de mulheres de 46 a 65 anos .....</b>	<b>52</b>
<b>5.3.5</b>	<b>Análise dos resultados de mulheres de 66 a 80 anos .....</b>	<b>53</b>
<b>5.4</b>	<b>RESULTADOS DAS ANÁLISES SIMULTANEAS DE CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO, PCR PARA HPV DE ALTO RISCO E PCR PARA <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i> .....</b>	<b>54</b>
<b>5.5</b>	<b>AGENTES INFECCIOSOS EM MEIO LÍQUIDO POR PCR.....</b>	<b>56</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>68</b>
	<b>ANEXO A – PARECER CEP/UFSC E IEPD.....</b>	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer de colo de útero é uma das neoplasias malignas mais frequentes entre as mulheres no Brasil e no mundo. É conhecido que a infecção persistente com tipos de papilomavírus humano (HPV) de alto risco é necessária para o desenvolvimento de câncer de colo de útero, sendo o principal fator de risco para a ocorrência ( KIFF *et al.*, 2021). No Brasil o câncer de colo de útero é o terceiro mais frequente em mulheres, estima-se que entre 2023 e 2025, serão diagnosticados em torno de 17 mil novos casos considerando em média 13 casos em cada 100 mil habitantes e acordo com o relatório anual do INCA, 2023, a incidência por região geográfica é variável, destacando os estados da região Sul que a taxa é de 9,77 casos em cada 100 mil habitantes.

O HPV é a infecção sexualmente transmissível mais comum, com evidências suficientes de sua carcinogenicidade, pois pode infectar pele e membranas mucosas entre diferentes locais como a região anogenital e a cavidade oral. O HPV infecta homens e mulheres, embora seja muito maior em mulheres devido à alta suscetibilidade à infecção pelo HPV das células cervicais ( COLPANI *et al.*, 2020). Mais de 200 genótipos de HPV foram identificados no último século e agrupados em diferentes gêneros, onde os tipos Alfa, de maior importância clínica, podem causar lesões cutâneas e lesões em mucosas em humanos que estão associados com o desenvolvimento do câncer cervical. Para a classificação dos tipos de papilomavírus está baseada na comparação da sequência de nucleotídeos e não na sorologia, com os HPVs individuais como genótipos e a principal proteína de revestimento do vírus (L1) contendo alças hiper variáveis que são expostas na superfície do vírus ( EGAWA *et al.*, 2015).

Os tipos de HPV podem ser divididos em baixo risco e alto risco sendo os de alto risco que podem desenvolver o câncer nas infecções persistentes. A maioria das infecções podem ser eliminadas naturalmente entre 6 meses e dois anos, mas associada à fatores de exposição, podem influenciar no tempo de exposição ao vírus e tornar a infecção persistente e levar ao desenvolvimento do câncer cervical ( ADEBAMOWO *et al.*, 2022).

Desde 1940, a colpocitologia oncótica ou exame de Papanicolau constitui o método de triagem e prevenção para as lesões precursoras do câncer do colo de útero, no entanto, a técnica convencional de colpocitologia apresenta algumas

limitações, como distribuição não homogênea das células no esfregaço, presença de leucócitos, hemácias e restos celulares em excesso, prejudicando a análise microscópica. Ao longo do tempo, foi necessário o desenvolvimento de técnicas como a colpocitologia em meio líquido para amenizar as limitações da colpocitologia convencional, que após a coleta, deve-se depositar a amostra em frasco contendo conservante que possibilita avaliação citológica, além de melhorar os fatores associados à análise citológica, possibilita pesquisa de agentes infecciosos como HPV na mesma amostra ( DASGUPTA, 2023).

Ao longo dos anos, com a descoberta de que o HPV estava diretamente envolvido no câncer de colo de útero, métodos para diagnóstico foram desenvolvidos, além da citologia para identificar a presença do vírus em amostras biológicas, principalmente cervicais. Os especialistas perceberam a necessidade de utilizar testes para identificar o HPV em testes de triagem como alvo de detecção das lesões cervicais e apontar as mulheres que estavam em risco para desenvolver o câncer de colo de útero ( CUZICK *et al.*, 2008).

Este estudo visa avaliar a contribuição da utilização da citologia em meio líquido com a detecção simultânea de HPV de alto risco por PCR em mulheres com idade entre 18 a 80 anos em mulheres atendidas na região da Grande Florianópolis/SC pela rede privada.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a contribuição da citologia líquida com detecção simultânea de HPV no diagnóstico de câncer de colo de útero em idades de 18 a 80 anos em mulheres atendidas na região da Grande Florianópolis/SC, no período de julho de 2018 até dezembro de 2021.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os resultados de citologia em meio líquido de forma individual e em relação à idade das pacientes;
- Comparar os resultados da detecção de HPV por PCR em relação aos achados descritivos na colpocitologia oncótica;
- Avaliar o tipo viral nos casos de colpocitologia oncóticas alteradas;
- Comparar os resultados da citologia líquida com a pesquisa de HPV por faixa etária e determinar se a epidemiologia local justifica realizar a pesquisa de HPV em populações jovens (menos de 30 anos);
- Identificar dentro do banco de dados as pacientes que repetiram os exames de citologia em meio líquido e pesquisa de HPV, como foi o comportamento dos resultados nas repetições e de que forma laboratorialmente evoluiu o quadro;
- Avaliar a coinfeção entre HPV e *Chlamydia trachomatis* e quais as alterações identificadas no exame de citologia em meio líquido;
- Avaliar a prevalência de outros patógenos por meio da técnica de PCR a partir da coleta em meio líquido.

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 BREVE HISTÓRICO

Até o final da década de 1960, o Papiloma Vírus Humano (HPV) não despertava interesse nos pesquisadores, pois achavam que esse vírus causava apenas verrugas (BERNARD, 2005). Na década de 1970 foram feitos avanços significativos na compreensão que o HPV tinha potencial para causar alterações celulares e levar ao câncer do colo de útero e em 1976 Meisels e Fortin estabeleceram a relação do HPV como agente etiológico para lesões encontradas na citologia cervical (COX, 2009).

Na década de 1980, a partir do desenvolvimento das técnicas moleculares, foi possível a detecção/identificação de diversos tipos de HPV, em especial o HPV 16. Em 1983 o pesquisador Harald Zur Hausen fez o isolamento e a caracterização do HPV 16, por esses resultados ele foi agraciado com o prêmio Nobel de Medicina no ano de 2008. A capacidade de relatar a presença de HPV nas lesões neoplásicas possibilitou estabelecer que o vírus atua como agente etiológico na maioria ou até arrisca-se a relatar que em todos os tipos de câncer cervical, pois naquele período, a suspeita era de que o Herpes vírus era o responsável (COX, 2009)

### 3.2 PAPILOMAVÍRUS HUMANO – HPV

O HPV é um vírus que pertence à família *Papillomaviridae*, com pequenas partículas não envelopadas, que contêm aproximadamente 8.000 pares de base de DNA de fita dupla, que foi isolado em peixes, répteis, aves e mamíferos. Em humanos já foram isolados 441 tipos que estão divididos em cinco gêneros diferentes (*Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, *Gammapapillomavirus*, *Mupapillomavirus* e *Nupapillomavirus*). Essa classificação é baseada na sequência de nucleotídeos da região L1 do capsídeo viral (KING *et al.*, 2022).

A infecção pelo HPV pode ocorrer em homens e mulheres e está dividida em duas categorias baixo (LR) e alto risco oncológico (HR). Os de baixo risco oncológico são conhecidos por causar lesões cutâneas, como verrugas, que podem se desenvolver, por exemplo, nas palmas das mãos, pés, ao redor dos órgãos genitais e ânus. Já os de alto risco oncológico, estão associados, especialmente, a doenças nos

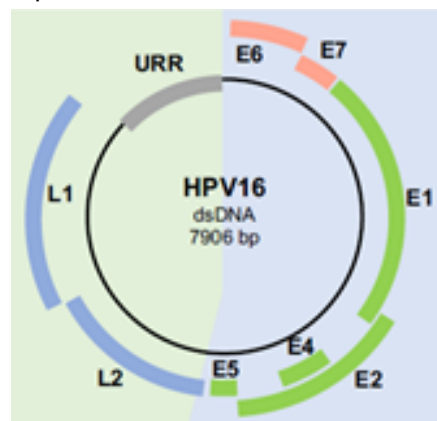
órgãos ano-genitais (cervical, anal, vulvar, vaginal e peniano), cabeça e pescoço (especialmente em orofaringe) e nos casos de infecções persistentes podem levar ao câncer. Dos HPV de alto risco, 15 tipos são considerados oncogênicos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82), sendo os tipos 16 e 18 conhecidos globalmente por estarem associados ao câncer de colo de útero ( WILLIAMS; KOSTIUK; BIRON, 2022).

### 3.3 GENOMA DO HPV

O genoma do vírus HPV se apresenta de forma circular e pode ser dividido em três (3) regiões, a região inicial (E) que se divide em E1, E2, E4, E5, E6 e E7 que produzem proteínas precursoras que estão envolvidas na replicação do DNA viral, controle do ciclo celular e oncogênese ( BHATTACHARJEE *et al.*, 2022). A região tardia (L) codifica as proteínas L1 e L2 e a região de controle longa (URR) que dá a origem e regula a expressão gênica ( SANJOSÉ; BROTONS; PAVON, 2018). Na **figura 1**, está representada a estrutura do HPV 16:

Figura 1: Estrutura HPV 16

Fonte: adaptado de SANJOSÉ; BROTONS; PAVON, 2018



### 3.4 PAPEL DAS PROTEÍNAS DA REGIÃO INICIAL (E)

As proteínas E1 e E2 desempenham papel importante nas fases de inicialização e regulação da replicação do HPV. A proteína E1 está altamente

conservada entre os diferentes tipos de HPV e é decodificada durante a expressão inicial da infecção ( BHATTACHARJEE *et al.*, 2022). A proteína E2 atua com a replicação, transcrição viral e tem a capacidade de controlar as expressões de E6 e E7 que são oncogênicas ( MUÑOZ-BELLO; CARRILLO-GARCÍA; LIZANO, 2022).

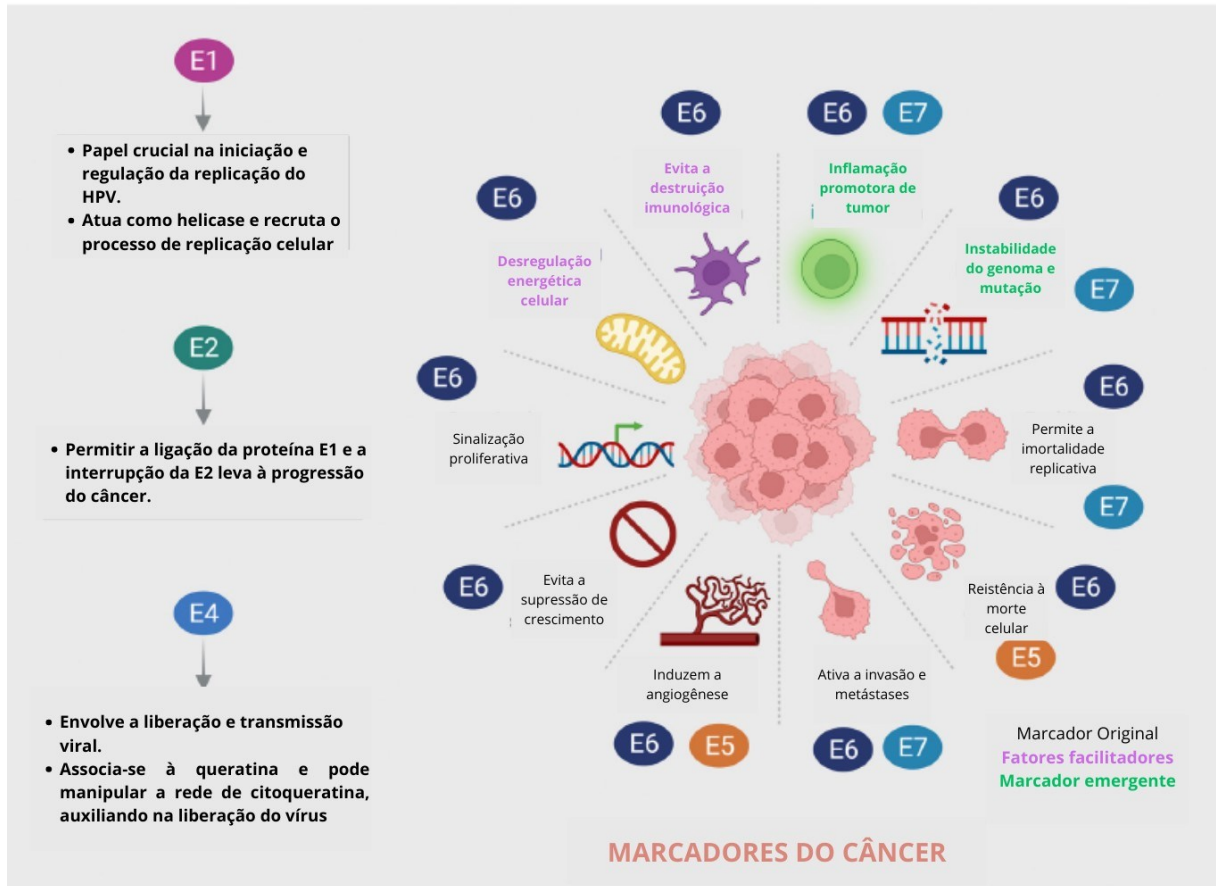
A proteína E4 está localizada dentro do gene E2, se liga à proteína E1 formando um complexo e sua expressão está presente nas fases finais da infecção, quando no ciclo de replicação, essa proteína fica na camada média do epitélio, com a capacidade de quebrar a rede de citoqueratina, tornando assim as células mais frágeis e possibilitando a liberação da carga viral presente ( BHATTACHARJEE *et al.*, 2022 e MUÑOZ-BELLO; CARRILLO-GARCÍA; LIZANO, 2022).

A proteína E5 está ligada à membrana, presente nas fases iniciais da infecção sendo uma das principais oncoproteínas na carcinogênese do HPV. Tem papel importante no suporte de modulação de E6 e E7, propicia o crescimento celular, regulação das vias de transdução dos sinais em células infectadas, está altamente ligada à progressão do câncer de colo de útero (CC) pois tem poder de supressão de apoptose e pode alterar genes de adesão e motilidade celular ( BHATTACHARJEE *et al.*, 2022).

As proteínas E6 e E7 atuam juntas, o principal papel da proteína E6 é promover a degradação do proteossoma da p53, causa proliferação celular desregulada, medeia a invasão e metástase, está associada a produção de EROs que induzem o dano de DNA. Já E7 está envolvida na promoção da displasia cervical, causando desregulação do ciclo celular, seu principal alvo é a inativação da proteína do riboblastoma (pRb), que interrompe o ciclo celular, modula a invasão celular, traz instabilidade genômica. Na figura 2, exemplifica as vias afetadas pela oncoproteínas ( BHATTACHARJEE *et al.*, 2022).

Na **figura 2** Bhattacharjee e colaboradores em 2022, trouxeram resumo das principais atividades das proteínas E de forma ilustrada, como destaque as diversas atividades de E6 e E7 como marcadores do câncer cervical.

Figura 2: Resumo das principais atividades das proteínas E.



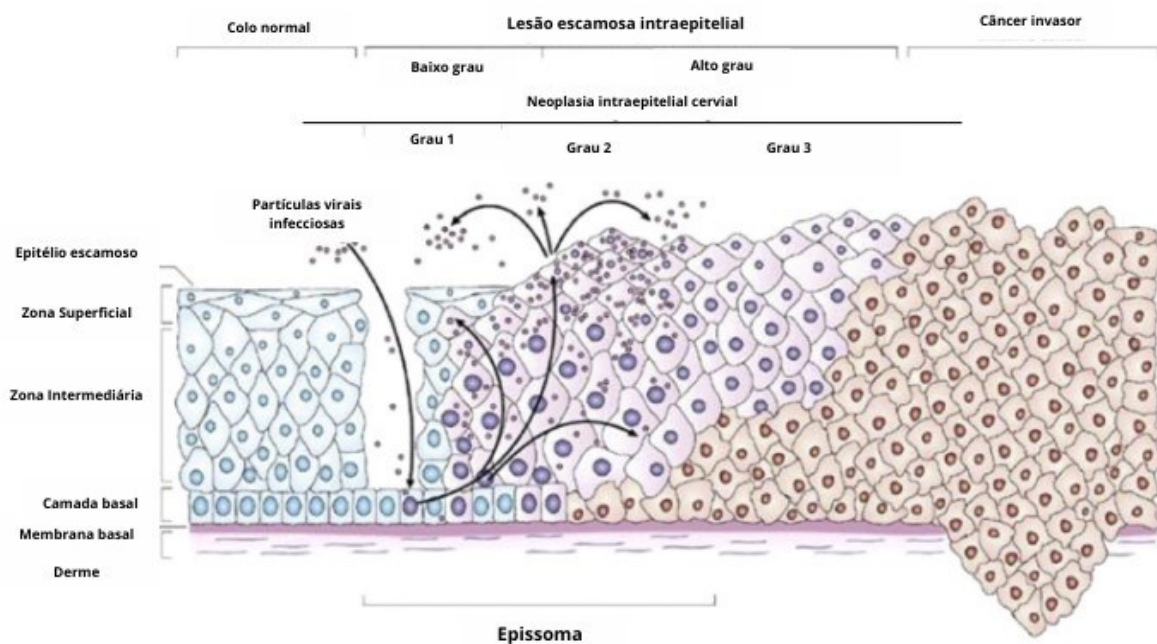
Fonte: Adaptado de BHATTACHARJEE *et al.*, 2022.

### 3.5 CICLO DE INFECÇÃO DO HPV

Embora o vírus tenha potencial de infectar homens e mulheres, o HPV tem grande afinidade pelas células cervicais, fazendo assim, com que as mulheres sejam mais suscetíveis a desenvolver câncer genital ( SANJOSÉ; BROTONS; PAVON, 2018). A **figura 3**, mostra que a partir de micro traumas que comprometem a barreira epitelial, ocorre a ruptura do epitélio estratificado e assim o HPV inicia o seu ciclo de vida e infecta as células da camada basal ( SANJOSÉ; BROTONS; PAVON, 2018). Após atingir e infectar as células basais mitoticamente ativas, os HPVs vão se dividir e entrar nas células da camada parabasal e assim sofrer diferenciação. A entrada do HPV na célula ocorre por endocitose ( MUÑOZ-BELLO; CARRILLO-GARCÍA; LIZANO, 2022).

As proteínas L1 e L2 são produzidas nas camadas mais diferenciadas do epitélio, em um complexo sistema de interação dessas proteínas com outros processos de enzimas e proteínas, o epissoma viral chega ao núcleo celular permitindo a expressão dos genes E necessários para os estágios iniciais de amplificação do genoma viral ( MUÑOZ-BELLO; CARRILLO-GARCÍA; LIZANO, 2022).

Figura 3: Ciclo da infecção do HPV.



Fonte: Adaptado de SANJOSÉ; BROTONS; PAVON, 2018.

No epitélio escamoso, a infecção inicial acontece com as proteínas E1 e E2 fazendo o processo de replicação e transcrição, nesta fase o número de cópias virais é menor, mas com a diferenciação das células basais, o número de cópias aumenta possibilitando que a infecção se propague para as demais células do tecido ( BHATTACHARJEE *et al.*, 2022). Na zona de transição epitelial como endocérvice e ectocérvice que são regiões mais suscetíveis à carcinogênese pelos HPVs de alto risco ( SANJOSÉ; BROTONS; PAVON, 2018). A zona de transformação é a área onde a maioria dos cânceres cervicais (CC) acontecem, pois nesta parte ocorrem vários níveis de maturação do epitélio escamoso metaplásico e faz fronteira com os epitélios colunar alto e subcolunar ( REICH; REGAUER., 2023).

As oncoproteínas E6 e E7 estão presentes em ambos os tipos virais (baixo e alto risco oncológico), nos tipos de baixo risco, essas oncoproteínas possuem um papel limitado ao aumento de aptidão e produção viral, já nos tipos de alto risco desempenham papel crucial para o estabelecimento do câncer, suas expressões são necessárias para que as células entrem em mitose e no ciclo replicativo do HPV, pois regulam diferentes vias. A interação de E6 e E7 com os supressores de tumor e proteínas envolvidas nas vias de sinalização alteram a função normal das células levando à transformação ( MUÑOZ-BELLO; CARRILLO-GARCÍA; LIZANO, 2022).

O ciclo de replicação do HPV é exclusivamente intraepitelial, fazendo com que os sinais pró-inflamatórios passem despercebidos pelo sistema imune do hospedeiro, por isso, o recrutamento das células apresentadoras de antígeno e liberação de citocinas são muito baixas ou ausentes ( SANJOSÉ; BROTONS; PAVON, 2018). O vírus utiliza mecanismos que regulam negativamente a resposta imune inata, facilitando a evasão imunológica e fazendo uma infecção persistente, mas apesar de todo esse mecanismo para inibir a resposta imunológica, 90% das infecções tendem a ser eliminadas com sucesso e uma porção pequena dos casos podem se tornar câncer cervical ( WILLIAMS *et al.*, 2011).

A neoplasia cervical acontece principalmente na junção escamo-colunar (JEC), pois nesta região as células presentes não regulam adequadamente a expressão gênica do HPV, a característica principal da JEC é ser uma zona de transformação onde ficam as células de reserva e as células cuboides ( EGAWA *et al.*, 2015).

A maioria das infecções são eliminadas entre seis (6) meses e dois (2) anos, a exposição aos tipos de HPV de alto risco associada com fatores como tabagismo, exposição hormonal prolongada, tipo de microbiota cérvico vaginal e infecção pelo HIV podem influenciar no tempo de exposição ao vírus e tornar a infecção persistente e levar ao desenvolvimento do câncer cervical ( ADEBAMOWO *et al.*, 2022).

### 3.6 VACINAÇÃO

A vacina contra o HPV levantou a perspectiva de erradicar o câncer de colo de útero, sendo a medida profilática mais eficaz, possibilitando que o cenário mundial na próxima década seja modificado, se incluído esta medida como forma de prevenção primária. Várias vacinas com eficácia e segurança comprovada foram

globalmente licenciadas, como a quadrivalente e a novavalente ambas distribuídas pela empresa Merck, no entanto, a fragilidade dos sistemas de saúde de países de baixa renda, que apresentam altos índices de câncer de colo de útero, não estão em condições de fornecer em doses duplas, a vacinação na população de risco ( AGGARWAL; AGARWAL; GUPTA., 2023)

O SUS disponibiliza a vacina quadrivalente (HPV 6, 11, 16 e 18) que está disponível para meninos e meninas em idades entre 9 e 14 anos, homens e mulheres transplantados, pacientes oncológicos, pessoas vivendo com HIV/Aids e vítimas de violência sexual de 9 a 45 anos ( SAÚDE, 2023). A vacina nonavalente, que protege com nove tipos de HPV (6, 11, 16, 18, 31,33, 45, 52 e 58) está disponível no Brasil apenas pela rede privada, impossibilitando que boa parte da população tenha acesso.

As vacinas profiláticas induzem a imunidade humoral, gerando anticorpos neutralizantes que podem prevenir a infecção pelo HPV. As vacinas terapêuticas foram desenvolvidas para as oncoproteínas E6 e E7, ativando a imunidade celular ( ASHOK *et al.*, 2024). As vacinas incluem o papel terapêutico, pois foi observado que a vacinação pré-operatória contra o HPV em mulheres com lesões reportadas nos testes de citologia teve reduções significativas na incidência de displasias moderadas a graves ( KARIMI-ZARCHI *et al.*, 2020).

### 3.7 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER CERVICAL

Em geral a incidência de neoplasias está mais alta em todo o mundo tanto para os homens quanto para as mulheres, fatores como aumento da expectativa de vida, crescimento populacional, exposição a alguns fatores de risco como tabagismo e exposição à poluentes ambientais podem ser as principais causas ( SANTOS MO, 2023). Segundo a OMS, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo e aproximadamente 70% das mortes causadas pelo câncer ocorrem em países de baixa e média renda ( OPAS, 2020).

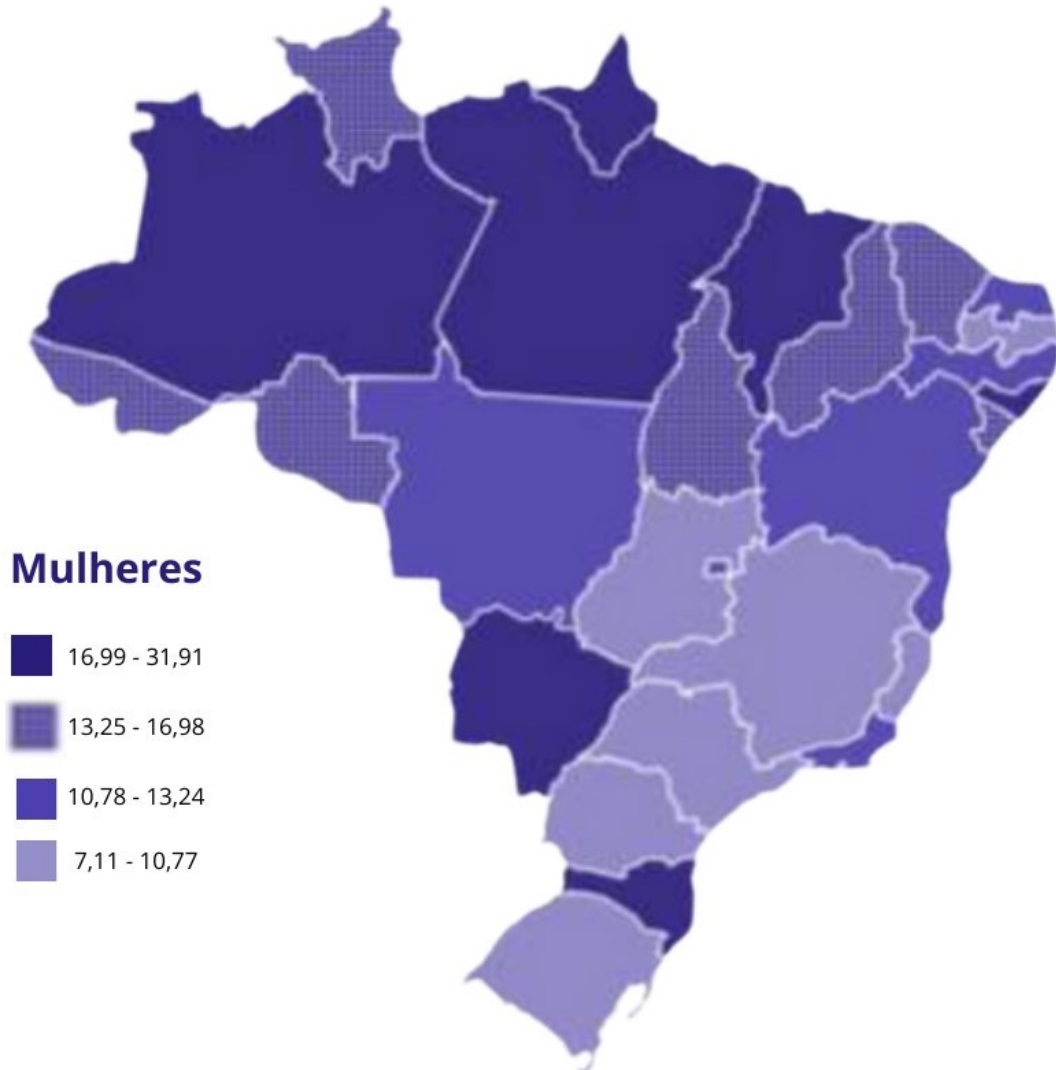
Em países nos quais o IDH (Índice de Desenvolvimento Humano) é mais alto, conseqüentemente o investimento em prevenção e tratamento é mais alto, possibilitando que as taxas de incidência de câncer sejam menores do que as verificadas em países com IDH mais baixo. No câncer de colo de útero especificamente as taxas variam entre os países, principalmente quando são

avaliadas as questões de poder socioeconômico, estilo de vida e fatores sociais (SUNG *et al.*, 2021).

O câncer de colo de útero é o quarto mais frequente no mundo tanto em diagnóstico quanto em causa de morte em mulheres, sendo a principal causa de morte de mulheres em 36 países e a maioria desses países estão na África, América do Sul, Melanésia e Sudeste Asiático. Salienta-se que o câncer de colo de útero é de fácil rastreio e diagnóstico, podendo ser considerado quase evitável, quando as medidas de prevenção primária (vacinas contra o HPV) e secundária (exames de rastreio) forem eficazes (SUNG *et al.*, 2021).

No Brasil o câncer de colo de útero é o terceiro mais frequente em mulheres, estima-se que entre 2023 e 2025, serão diagnosticados entorno de 17 mil novos casos considerando em média 13 casos em cada 100 mil habitantes. De acordo com o relatório anual do INCA, 2023, a incidência por região geográfica é variável conforme figura 4, os estados da região Norte a taxa de incidência foi estimada em 16,77 e Nordeste 13,85 em cada 100 mil habitantes sendo as regiões com maiores taxas estimadas, no estado do Amazonas, por exemplo, apresenta incidência de 31,7 em cada 100 mil habitantes. Nos estados da região Sul a taxa é de 9,77 casos em cada 100 mil habitantes e especificamente no estado de Santa Catarina, local do presente estudo, a taxa de incidência é de 17,2 em cada 100 mil habitantes ficando semelhante à estados da região Norte e Nordeste que apresentaram uma taxa de incidência maior, trazendo um sinal de alerta para as políticas de rastreio e diagnóstico de câncer de colo de útero (SANTOS MO, 2023).

Figura 4: Representação espacial das taxas estimadas de incidência de câncer de colo de útero no Brasil no período de 2023 a 2025.



Fonte: Adaptado de INCA, 2023.

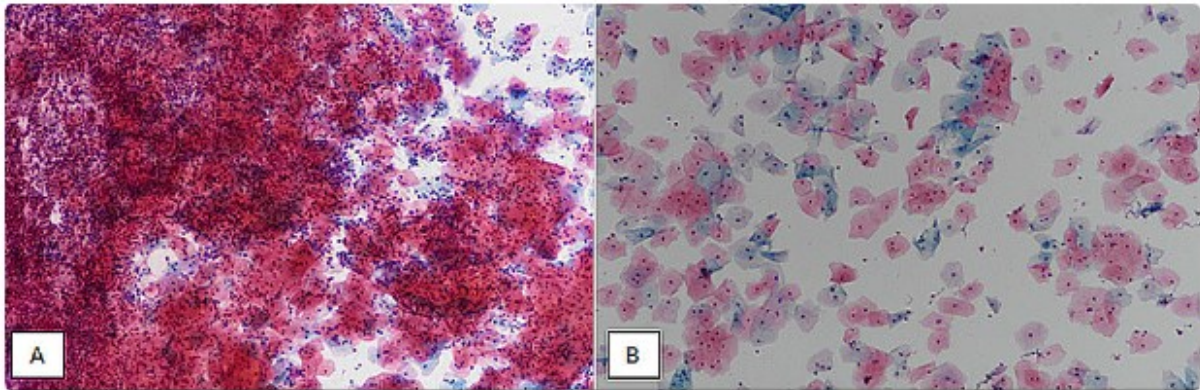
## 3.8 MÉTODOS PARA DIAGNÓSTICO

### 3.8.1 Citologia oncótica

Em meados de 1800, o Dr. Walter Hayle Walsh evidenciou que células cancerígenas poderiam ser vistas por microscopia, mas depois de um século, em 1940 foi que o Dr George Papanicolau descobriu o primeiro teste de rastreio cervical através do esfregaço cérvico vaginal que se tornou a principal forma de rastreio de câncer de colo de útero no mundo ( SWID; MONACO, 2022). Ao longo dos anos o exame de Papanicolau convencional ajudou a reduzir a incidência de câncer em todo o mundo, mas apresenta algumas limitações como amostras insatisfatórias, transferências de células insuficientes nas lâminas, presença de inflamação, células sobrepostas e não possibilita repetição da lâmina na mesma amostra ( DASGUPTA, 2023).

Com as limitações que a citologia convencional apresenta, foi necessário atualizar a técnica e com isso, em 1996 foi apresentada uma nova alternativa, a citologia em meio líquido, possibilitando automação para a confecção das lâminas para análise. Durante a coleta da amostra cervical, as células são inseridas no meio conservante podendo ser o ThinPrep ou CellPreserv, por exemplo, onde as lâminas são processadas por equipamentos possibilitando padronização, reduz a sobreposição de células e as amostras em meio líquido possibilitam análise de outros exames, como exemplo, a pesquisa de HPV de alto risco por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), sendo essas algumas das vantagens da utilização deste método e como desvantagem o alto custo com o equipamento e treinamento adequado dos citologistas pois com preparo das lâminas automatizado, o número de esfregaços com atipias podem ser maiores ( STABILE *et al.*, 2007)

Figura 5: Comparação entre lâmina de citologia convencional (A) e meio líquido (B).



Fonte: Adaptado de HASHMI *et al.*, 2020.

A: No aumento de 100 x esfregaço de citologia convencional, mostrando células escamosas sobrepostas, com fundo inflamatório.

B: Com aumento de 100 x, representando células escamosas, dispersas, possibilitando melhor análise das características celulares.

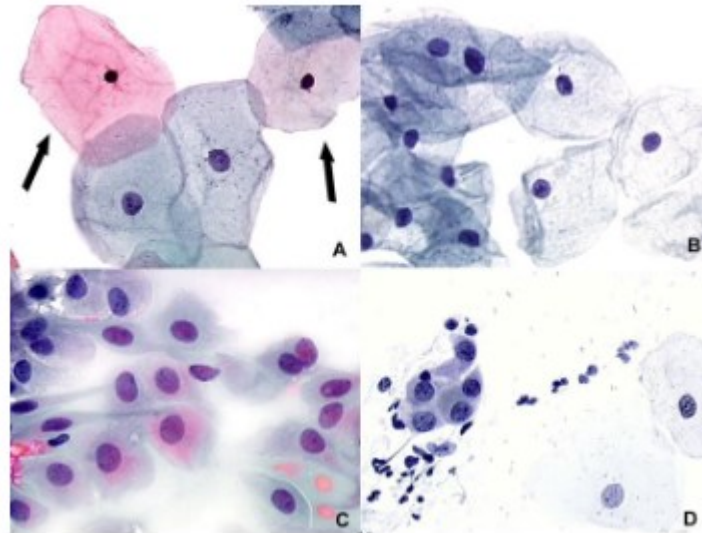
Em 1988 foi implantado nos Estados Unidos o Sistema Bethesda com o intuito de padronizar os resultados de citologia, pois anterior a isso, os resultados liberados eram de baixa qualidade e os médicos tinham dificuldades de realizar o manejo clínico da forma correta ( NAYAR; WILBUR, 2017). Após aceitação e implantação nos Estados Unidos, o Sistema Bethesda foi disseminado por todo o mundo, teve atualizações em 1991, 2001 e 2014 e em 2016 com auxílio do CAP (Colégio Americano de Patologia) no programa de educação continuada do controle externo, a última atualização de 2014 foi disseminada por 67,2% dos laboratórios que possuem a certificação. A contribuição do Sistema Bethesda foi fundamental pois proporcionou conhecimento para o desenvolvimento de diretrizes de rastreamento e gestão do câncer de colo de útero baseado em evidências ( WANG *et al.*, 2023).

JUG R, 2023 publicou um resumo de como o Sistema Bethesda sugere o reporte dos resultados de citologia, que devem conter as informações de tipo de amostra, adequabilidade, categorização geral, interpretação/resultado e outros elementos opcionais (testes auxiliares, notas educacionais e comentários). Como interpretação dos resultados, a seguir, destacamos as principais categorias reportadas:

Negativo para Lesões Intraepiteliais ou malignidade: células escamosas adequadas com ausência de lesões ou malignidade, podem apresentar alterações de

células reativas, achados não neoplásicos como por exemplo, metaplasia escamosa, atrofia, inflamações, organismos como *Trichomonas vaginalis*.

Figura 6: Imagens de citologia normal.

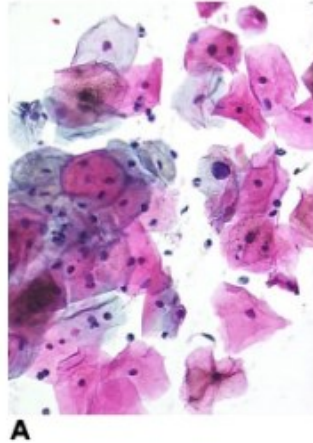


Fonte: Adaptado de FRAPPART; FONTANIÈRE; SANKARANARAYANAN, 2004.  
A: células superficiais, B: células intermediárias, C: células parabasais e D: células metaplásicas.

Anormalidades de células epiteliais: podem sugerir lesões intraepiteliais escamosas ou glandulares:

Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US): são lesões sugestivas de baixo grau, incluindo núcleos 2,5 a 3 vezes do tamanho normal, podendo apresentar ou não hiper cromasia nuclear, com contornos levemente irregulares, com halos ou vacúolos citoplasmáticos, que podem ser semelhantes a coilocitos.

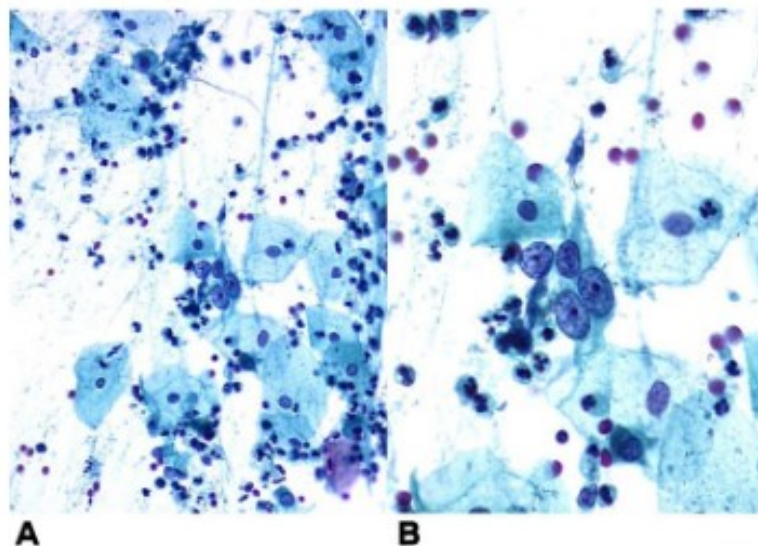
Figura 7: Imagem representando células de ASC-US, núcleos aumentados, irregulares, cromatina homogênea, holos mal definidos.



Fonte: Adaptado de FRAPPART; FONTANIÈRE; SANKARANARAYANAN, 2004.

Células escamosas atípicas que não podem excluir lesões de alto grau (ASC-H): poucas células atípicas com alterações que sugerem lesões de alto grau, com células metaplásicas imaturas atípicas, aglomerado celulares, atrofia grave e reparos atípicos acentuados.

Figura 8: Imagem representando células com ASC-H, de pequeno grupo de células imaturas atípicas e nucléolos aumentados.

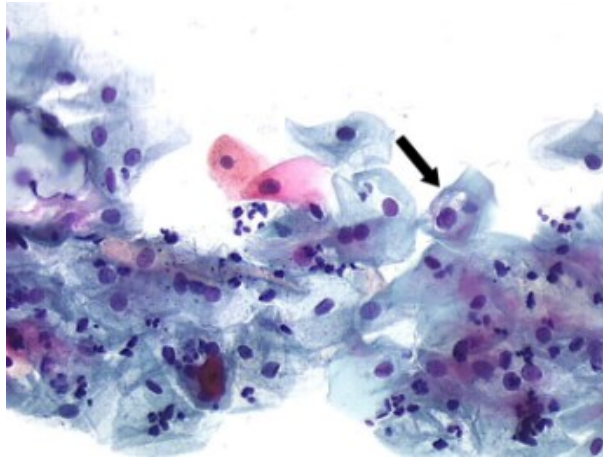


Fonte: Adaptado de FRAPPART; FONTANIÈRE; SANKARANARAYANAN, 2004.

A: objetiva de 20 x. B: objetiva de 40 x.

Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL): apresentam células escamosas grandes, com citoplasma maduro, aumento nuclear maior que três vezes do normal, núcleo hiper Cromático, membranas nucleares variáveis, bi ou multinucleação e coilocitose.

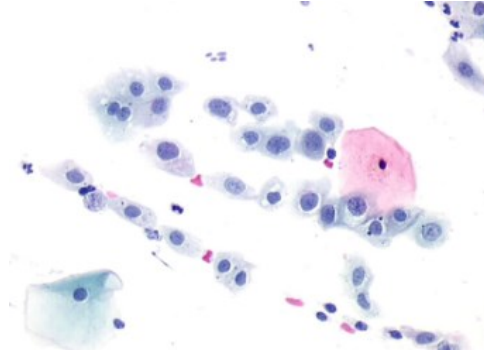
Figura 9: Imagem representando LSIL, a seta indica coilocito típico, binucleado e está acompanhado por outras células discretamente atípicas.



Fonte: Adaptado de FRAPPART; FONTANIÈRE; SANKARANARAYANAN, 2004.

Lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL): células menores que LSIL, podendo estar dispostas isoladas, em camadas ou em agregados, com grande relação entre núcleo e citoplasma, hiper Cromasia nuclear, núcleos irregulares.

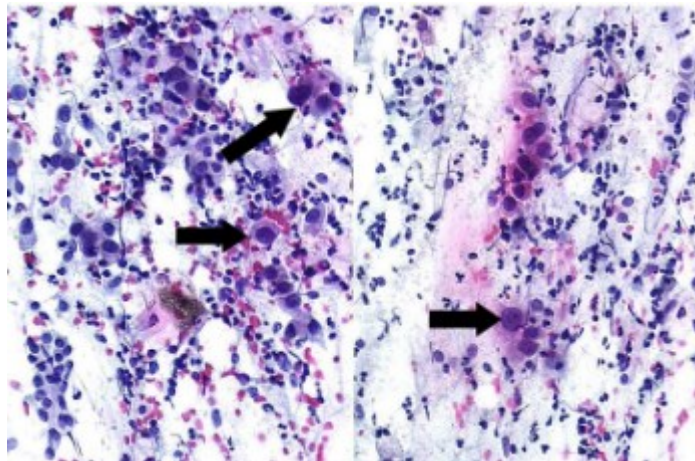
Figura 10: Imagem representando HSIL, células parabasais, com núcleos aumentados, contornos irregulares, com anisocitose em uma população homogênea.



Fonte: Adaptado de FRAPPART; FONTANIÈRE; SANKARANARAYANAN, 2004.

Alterações de células glandulares: essa categoria de células foi criada na revisão de 2014 para categorizar as células glandulares com características que podem ser células inflamatórias ou reativas, mas que não podem ser classificadas como malignas. São semelhantes as células endocervicais, possuem núcleos aumentados e sobrepostos, pode ocorrer variação na forma do núcleo, cromatina irregular, grande relação entre núcleo e citoplasma, apresentam raramente nucléolos ( ARSHI J, 2024).

Figura 11: Imagem de células glandulares atípicas, em formas colunas, núcleos volumosos, no esfregaço inflamatório e hemorrágico.

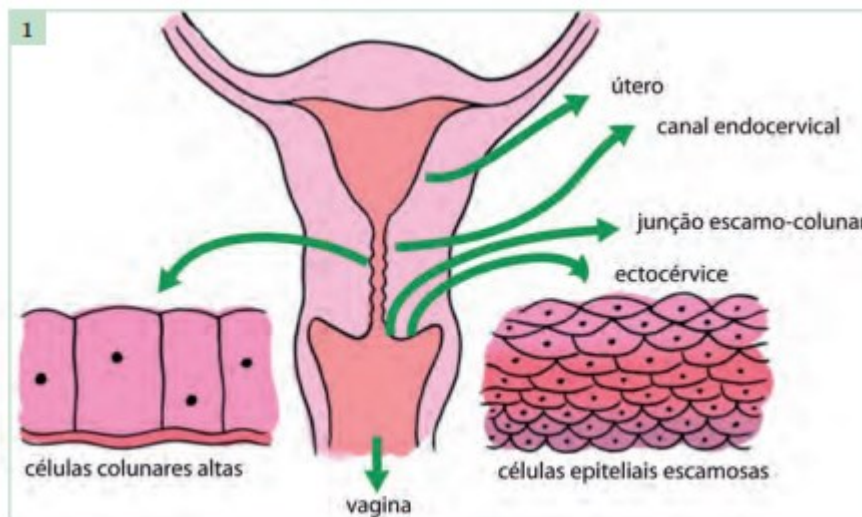


Fonte: Adaptado de FRAPPART; FONTANIÈRE; SANKARANARAYANAN, 2004.

A coleta para a citologia deve ser feita por profissional habilitado, é um exame simples e indolor, cada serviço de saúde padroniza a forma de coletar, mas o ideal é que utilize espéculo de tamanho adequado, que seja realizado em mulheres que já tenham iniciado a atividade sexual, que não estejam menstruadas. A partir da introdução do espéculo, possibilita a inspeção visual do colo do útero, com o auxílio de uma escova, que é introduzida no canal e vai até a JEC ( INCA, 2011).

Para que a coleta seja satisfatória, o ideal é que sejam coletadas células da ectocérvice e endocérvice, conforme representado pela figura 12 ( LIMA, 2012). Se o exame a ser realizado for no método convencional, a escova utilizada na coleta contendo o material, deve ser depositada em lâmina liberando o material e adicionando o fixado para que então é encaminhada para análise. No caso de o exame ser realizado pelo método em meio líquido, a escova utilizada na coleta deve ser depositada no meio conservante (ThinPrep ou CellPreserv, por exemplo), esse frasco é encaminhado para análise, tendo estabilidade de até 30 dias.

Figura 12: Representação do colo do útero e as camadas celulares.



Fonte: Adaptado de LIMA, 2012.

### 3.8.2 Colposcopia

Para mulheres que apresentaram alterações como ASC-H e lesões de alto grau, o exame de colposcopia é recomendado, este exame é utilizado para definir qual local ideal para realizar a biópsia, este método foi desenvolvido em 1925 por Hans Hilseman e continua em prática atualmente ( NAM, 2018). Realizada através do equipamento colposcópico, possibilita a visualização e avaliação em tempo real do colo do útero, em específico, da zona de transformação para detecção de lesões de alto grau e câncer invasivo, possibilitando a realização da biópsia guiada pelo colposcópico para diagnóstico e posterior manejo clínico ( KHAN *et al.*, 2017).

O colposcópico contém uma lente que amplia de 4 a 40 vezes o epitélio e então é aplicado ácido acético de 3% a 5% e onde tiver anormalidades histológicas o epitélio torna-se esbranquiçado devido a precipitação de proteínas. Para ser observada a vascularização o auxílio de luz verde pode ser utilizado. Este é um exame de grande valor para identificar lesões causadas pelo HPV, mas precisa ter muito cuidado pois outras condições como intensa inflamação e mosaicismos podem deixar o epitélio branco, com isso, existe o risco de tratar uma lesão que não seja necessária ( CAVALCANTI; CARESTIATO, 2006).

### 3.8.3 Diagnóstico molecular do HPV

Ao longo dos anos, com a descoberta de que o HPV estava diretamente envolvido no câncer de colo de útero, métodos para diagnóstico foram desenvolvidos, além da citologia para identificar a presença do vírus em amostras biológicas, principalmente cervicais. Os especialistas perceberam a necessidade de utilizar testes para identificar o HPV em testes de triagem como alvo de detecção das lesões cervicais e apontar as mulheres que estavam em risco para desenvolver o câncer de colo de útero ( CUZICK *et al.*, 2008).

Os primeiros testes para HPV iniciaram por volta de 1980 e utilizavam sondas de ácidos nucleicos que eram o que estavam disponíveis para comercialização, mas apresentavam limitações, eram testes complicados e não identificavam todos os tipos oncogênicos necessários ( HUBBARD, 2003). Em 1999 o FDA aprovou o primeiro teste molecular para detecção do HPV de alto risco como teste de triagem, pois

apresenta sensibilidade superior a 90% em relação à citologia e valor preditivo negativo próximo a 100% ( PIÑA-SÁNCHEZ, 2022).

Evidências publicadas em muitos ensaios clínicos randomizados de que o rastreio por técnicas moleculares para identificação do HPV de alto risco oncogênico é mais sensível que o rastreio citológico para detecção de lesões de alto risco. Outro ponto importante a ser considerado é que um teste de HPV não detectado proporciona a estratificação de risco a longo prazo, entorno de 5 a 10 anos de que não irá desenvolver câncer de colo de útero, reforçando o valor preditivo negativo ( SCHIFFMAN *et al.*, 2011).

Com a diversidade de genótipos que são considerados de alto risco que podem causar câncer e a possibilidade de múltiplas infecções trouxe a necessidade de testes confiáveis para detecção dos tipos virais presentes na amostra (que podem ser de diversos materiais como cervical, anal, oral entre outras), utilizado principalmente para acompanhamento das pacientes e para fins de estudos epidemiológicos ( MARTINS, 2017). Com a alta sensibilidade da PCR, vários testes estão disponíveis no mercado, como Captura híbrida, PCR em tempo real, Anyplex e Allplex que estão descritos a seguir.

Os testes moleculares atualmente estão bem estabelecidos na prática clínica e podem ser utilizados em diferentes contextos como triagem e no auxílio no acompanhamento de resultados de citologias com alterações como ASC-US e ASC-H que com o auxílio do teste de HPV auxilia o médico na tomada de decisão, evitando procedimentos mais invasivos desnecessariamente ( SCHIFFMAN *et al.*, 2011).

### 3.8.3.1 *Captura Híbrida*

Sua técnica é baseada em hibridização, mas não amplifica os ácidos nucleicos, utiliza sondas sintéticas de RNA complementares à sequência genômica, este foi o primeiro teste a chegar no mercado, que identifica o grupo viral e não o tipo de HPV presente na amostra, no grupo de alto risco, com 13 tipos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68) e no grupo de baixo risco, com 5 tipos (6, 11, 42, 43 e 44) ( VILLA; DENNY, 2006).

Os híbridos de RNA-DNA são capturados em poços de microtitulação e detectados por anticorpos monoclonais específicos e um substrato subjacente quimioluminescente, fornecendo resultados semiquantitativos ( MOLIJN *et al.*, 2005).

Os híbridos imobilizados são detectados por uma série de reações que geram um produto luminescente que pode ser medido por um luminômetro, onde a intensidade da luz emitida, expressa em unidades relativas de luz (RLUs), sendo então proporcional à quantidade de DNA alvo presente na amostra, possibilitando a distinção dos grupos de alto ou baixo risco, mas não permite a identificação do genótipo específico do HPV ( VILLA; DENNY, 2006).

### 3.8.3.2 *PCR em Tempo Real*

A metodologia convencional de PCR sofreu avanços e atualmente o método mais utilizado é o PCR em tempo real, que permite a detecção e quantificação do HPV e de vários outros agentes infecciosos sem a necessidade de procedimentos como hibridizações ou eletroforese após os processos de amplificação. A técnica é baseada na emissão sinais fluorescentes constantes, que ocorrem dentro de placas de reações ao longo de ciclos de amplificação, pois com a presença de reagentes que fazem a emissão de luz enquanto ocorre a amplificação do DNA do HPV ( MARTINS, 2017).

Atualmente os testes comerciais disponíveis das grandes plataformas, possibilitam que as análises sejam totalmente automatizadas, possibilitando análises em grande escala, como exemplo, a plataforma Abbott m2000 que faz amplificação, extração através de microesferas e genotipagem do HPV de alto risco, com resultados qualitativos de detecção de 14 genótipos do HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59, 66 e 68) através da mistura de primers visando a região L1 conservada do genoma do HPV de alto risco. Uma limitação deste teste é que ele diferencia apenas os genótipos do HPV 16 e ou 18, os demais são relatados como genótipo não 16 e ou 18 ( RANTSHABENG *et al.*, 2019).

### 3.8.3.3 *Anyplex e Allplex*

Recentemente a Seegene desenvolveu dois novos testes que possibilitam através do PCR em tempo real, identificar 28 tipos de HPV, sendo 19 tipos de HPV de alto risco (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82) e de 9 tipos de baixo risco (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61 e 70), possibilitando realizar o controle interno. Ambos os testes utilizam a tecnologia exclusiva de clivagem e

extensão de oligonucleotídeos de marcação (TOCE), que permite a detecção de múltiplos alvos de HPV em um único canal de fluorescência ( BELL *et al.*, 2023).

O Anyplex utiliza o sistema TOCE em combinação com a análise de temperatura de fusão do coletor faz três leituras diferentes, com 3 pontos de cortes para a interpretação dos resultados, com intervalos de ponto de cruzamento determinando a carga viral e gerando resultados semiquantitativos. Já o método Allplex, que foi desenvolvido recentemente em 2022, utiliza uma tecnologia de detecção múltipla de temperatura (MuDT) em conjunto com a TOCE, gerando leituras quantitativas individuais (limiar de ciclo, Ct) com valores dos 28 genótipos diferentes tipos de HPV de uma só vez. Ambas as metodologias utilizam a região L1 dos genótipos do HPV como alvo e co-amplificada simultaneamente com a beta-globina, que serve como controle interno no processamento ( VALENČAK *et al.*, 2024).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 DESENHO DO ESTUDO E CASUÍSTICA

Trata-se de um estudo epidemiológico descritivo de dados secundários, extraídos de banco de dados proveniente do Laboratório Dasa na marca Santa Luzia em Florianópolis/SC, Brasil. O banco de dados foi disponibilizado a partir da aprovação do comitê de ética CEP/UFSC (CAAE 58214522.0.0000.0121) disponível no anexo A e aprovação do órgão de pesquisa IEPD/DASA disponível no anexo B.

O Laboratório Santa Luzia é uma marca da empresa Dasa situada na grande Florianópolis, no estado de Santa Catarina / Brasil. Possui mais de 30 unidades espalhadas entre as cidades de Biguaçu, Florianópolis, São José, Palhoça e Tijucas, que são responsáveis pelas coletas e captação de amostras coletadas em consultórios médicos conveniados. Realiza entorno de 7 milhões de exames por ano, possui convênio com mais de 450 empresas e presta serviço para todos os hospitais privados da região. Possui uma área técnica principal que realiza entorno de 600 mil exames por mês e envia para área técnica principal da Dasa (São Paulo e Rio de Janeiro) exames de alta complexidade, como exemplo, os exames de biologia molecular e patologia.

Os dados foram disponibilizados através da equipe de tecnologia da informação em planilha Excel, contendo ano, mês, data de realização, sexo, idade no momento da realização do exame, código único de cliente, exame realizado identificado pelo código interno do sistema do laboratório e cada resultado corresponde ao código de linha do laudo. O período selecionado foi de 01 de julho de 2018 até 31 de dezembro de 2021.

Os exames avaliados neste estudo são provenientes de material cérvico-vaginais, as amostras foram coletadas e conservadas em solução ThinPrep® ou PreservCyt®, de mulheres que realizaram exames pela rede privada nos municípios da Grande Florianópolis no estado de Santa Catarina, Brasil. Os exames foram coletados em unidades próprias, conveniadas e consultórios médicos. Todas as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente e enviadas para serem processadas no Núcleo Técnico Operacional (NTO) em São Paulo.

Os exames avaliados foram de citologia em meio líquido, PCR para HPV de alto risco, PCR para identificação (se solicitado) dos agentes infecciosos do trato

genital como *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, Mycoplasma, Ureaplasma, Herpes Simples I e II, *Streptococcus agalactiae* e *Candida albicans*.

#### 4.2 TRATAMENTO DOS DADOS NO EXCEL

Em primeira análise na planilha disponibilizada, foram identificados 47.822 resultados, desses foram excluídos os resultados identificados como sexo masculino, as idades de 0 a 17 anos e superiores a 80 anos.

Em seguida, os primeiros dados organizados e separados para análise foram os agentes infecciosos do trato genital feminino (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, Mycoplasma, Ureaplasma, Herpes Simples I e II, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans*) e a PCR para HPV de alto risco. Esses dados foram avaliados de forma isolada, totalizando 13.572 resultados, que foram reportados como detectado ou não detectado.

O exame de citologia em meio líquido incluiu análise de adequabilidade da amostra, epitélios representados, microbiologia e diagnóstico descritivo, 36.284 resultados foram organizados e analisados de forma isolada, para análise dos resultados consideramos apenas a adequabilidade da amostra e o diagnóstico descritivo.

Em seguida, uma segunda planilha foi organizada separando os resultados de citologia em meio líquido e pesquisa de HPV que foram realizadas no mesmo momento, totalizando 6.840 resultados. E uma terceira planilha foi organizada separando os resultados de citologia em meio líquido, PCR para *Chlamydia trachomatis* e pesquisa de HPV de alto risco que foram realizadas no mesmo momento totalizando 2.673 resultados.

Destaca-se que, para os resultados de citologia em meio líquido foi necessário classificar os achados, pois identificamos falta de padronização na descrição dos achados descritivos, pois todos os resultados avaliados foram processados em laboratório de apoio (NTO Alphaville, São Paulo), com isso, os resultados foram interfaceados entre o sistema do apoio e o sistema do laboratório, chamado LIS (sistema próprio, desenvolvido pela instituição).

Para todos os resultados de citologia em meio líquido, foram classificadas conforme descrito no Quadro 1:

Quadro 1 – Classificação dos parâmetros identificados na citologia em meio líquido

<b>Adequabilidade</b>
Insatisfatória para avaliação oncótica devido a material acelular ou hipocelular no esfregaço.
Satisfatória
<b>Diagnóstico descritivo</b>
Células escamosas atípicas, não sendo possível excluir lesão intraepitelial escamosa de alto grau (ASC-H).
Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US).
Células glandulares atípicas.
Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.
Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.
Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.

Fonte: elaborado pela autora.

Para avaliação dos resultados de citologia em meio líquido, outra variável avaliada foi a idade das pacientes, padronizadas conforme quadro 2.

Quadro 2– Faixas etárias estudadas.

<b>Idade das pacientes</b>
De 18 a 24 anos
De 25 a 29 anos
De 30 a 45 anos
De 46 a 65 anos
De 66 a 80 anos

Fonte: elaborado pela autora.

### 4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram tabulados em Excel e as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SPSS® (versão 22). As variáveis foram expressas em frequências absoluta e relativa. Para a comparação entre os dados foi empregado o teste de Qui-quadrado. Foi considerado significativo um P-valor  $\leq 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

### 5.1 RESULTADOS CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO

Para os resultados de citologia em meio líquido, foram avaliados os resultados de adequabilidade da amostra e diagnóstico descritivo. Em primeiro momento, foi realizada análise desse exame de forma individual, avaliando apenas os resultados da citologia em meio líquido.

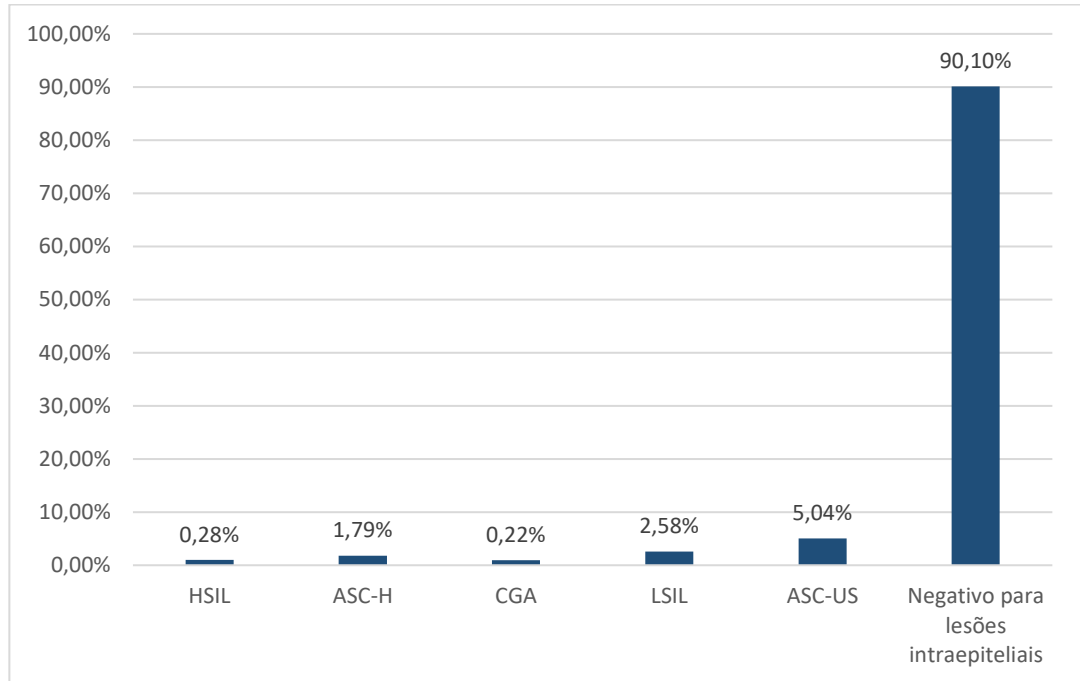
#### 5.1.1 Adequabilidade da amostra

Na avaliação da qualidade das amostras o índice de amostras satisfatórias foi 99,85% (36.228 amostras) enquanto 0,15% (56 amostras) foram consideradas insatisfatórias e a média de idade dessas mulheres foi de 39 anos. Com isso, o total avaliado de resultados de citologia em meio líquido foi de 36.284.

#### 5.1.2 Diagnóstico descritivo

As 36.228 amostras consideradas satisfatórias para análise tiveram seus resultados padronizados e foram divididos em seis (6) categorias, a saber: (1) lesão escamosa de alto grau (HSIL) - 0,28% (102 / 36.228), (2) células escamosas atípicas não sendo possível excluir lesão escamosa de alto grau (ASC-H) - 1,79% (648 / 36.228), (3) células glandulares atípicas (CGA) - 0,22% (78 / 36.228), (4) lesão intraepitelial de baixo grau (LSIL) - 2,58% (934 / 36.228), (5) células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) - 5,04% (1.826 / 36.228) (6) negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade - 90,10% (32.641 / 36.228). Os dados estão representados na Figura 13.

Figura 13 - Resultados de citologia em meio líquido conforme classificação das 6 categorias com total de 36.228 resultados.

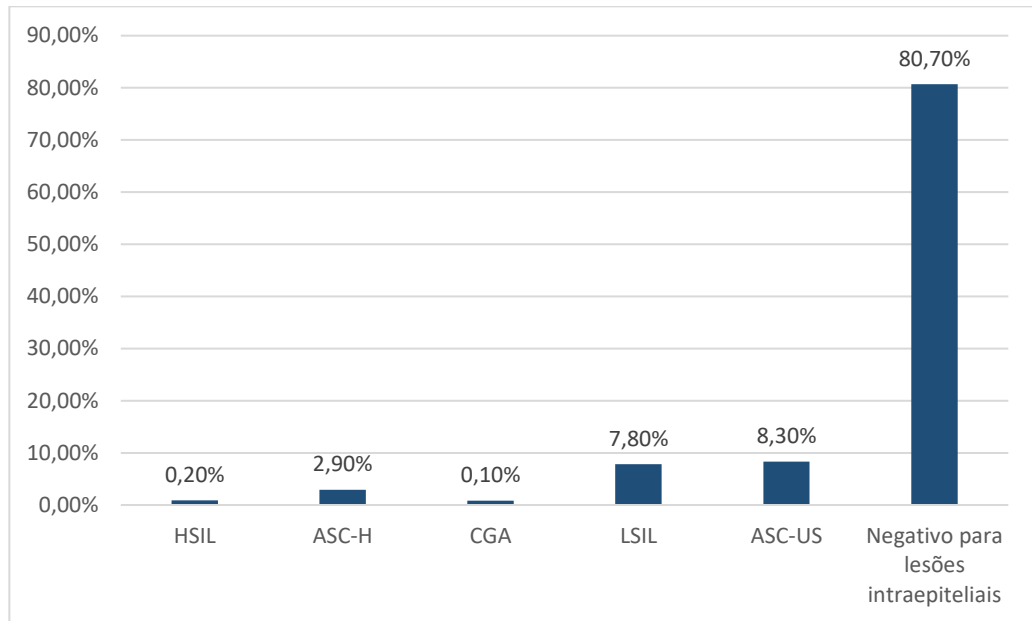


Fonte: elaborado pela autora.

Os resultados das citologias também foram estratificados por idade em cinco faixas (1) de 18 a 24 anos, (2) de 25 a 29 anos, e (3) de 30 a 45 anos, (4) de 46 a 65 anos e (5) 66 a 80 anos para avaliar a necessidade de solicitações em determinadas idades em relação ao recomendado.

No grupo de mulheres de 18 a 24 anos (Figura 14) foram avaliados 3.283 resultados, (1) HSIL - 0,2% (8 / 3.283), (2) ASCH - 2,9% (94 / 3.283), (3) CGA - 0,1% (2 / 3.283), (4) LSIL – 7,8% (256 / 3.283), (5) ASCUS – 8,3% (273 / 3.283) e (6) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade – 80,7% (2.650 / 3.283).

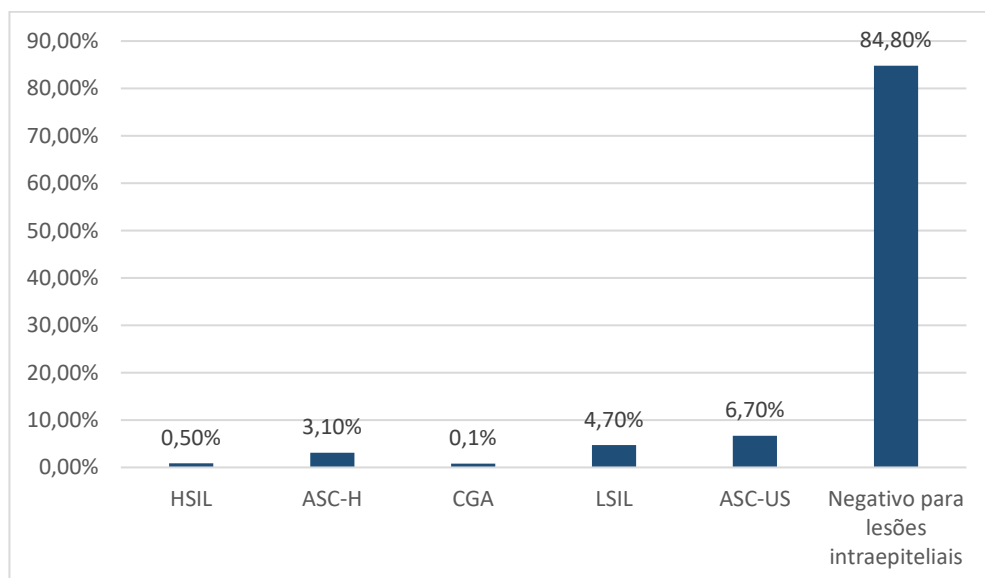
Figura 14 - Resultados de citologia em meio líquido conforme classificação das 6 categorias com total de 3.283 resultados em mulheres do grupo de 18 a 24 anos.



Fonte: elaborado pela autora.

No grupo de mulheres de 25 a 29 anos (Figura 15) foram avaliados 4.435 resultados, (1) HSIL - 0,5% (20 / 4.435), (2) ASC-H 3,1% (138 / 4.435), (3) CGA - 0,2% (11 / 4.435), (4) LSIL – 4,7% (210 / 4.435), (5) ASC-US – 6,7% (295 / 4.435) e (6) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade – 84,8% (3.761 / 4.435).

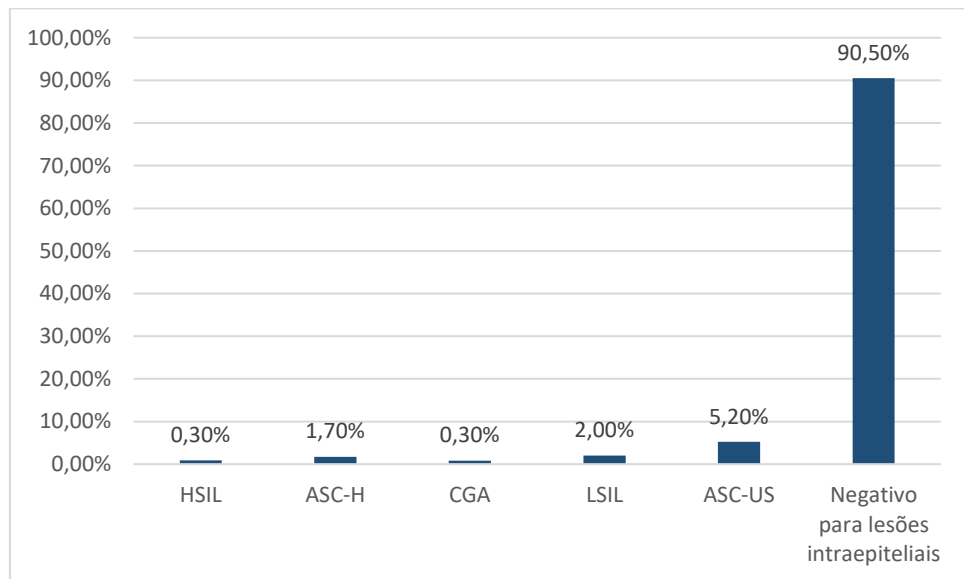
Figura 15 - Resultados de citologia em meio líquido conforme classificação das 6 categorias com total de 4.435 resultados em mulheres do grupo de 25 a 29 anos.



Fonte: elaborado pela autora.

No grupo de mulheres de 30 a 45 anos (Figura 16) foram avaliados 17.354 resultados, (1) HSIL - 0,3% (57 / 17.354), (2) ASC-H 1,7% (296 / 17.354), (3) CGA - 0,3% (45 / 17.354), (4) LSIL – 2,0% (352 / 17.354), (5) ASC-US – 5,2% (905 / 17.354) e (6) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade – 90,5% (15.699 / 17.354).

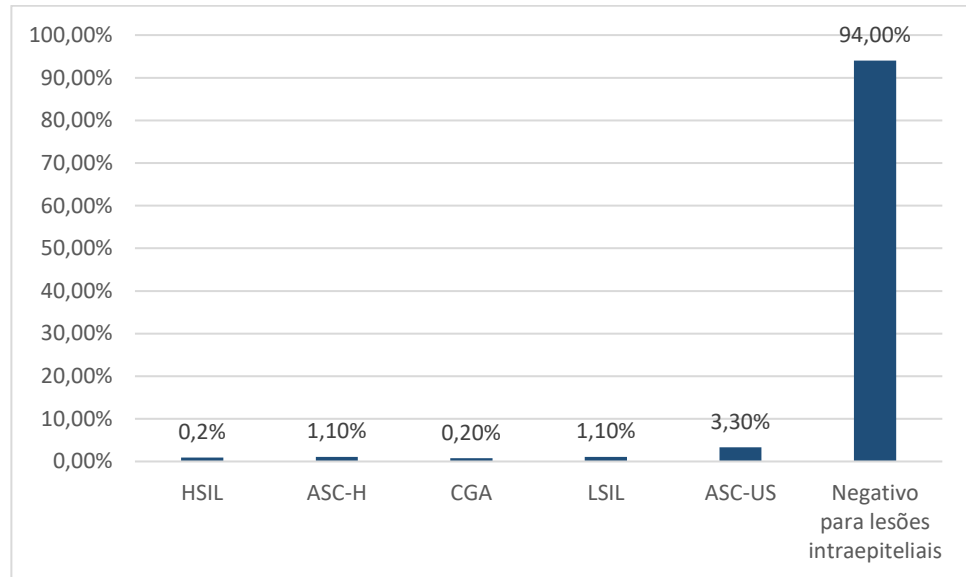
Figura 16 - Resultados de citologia em meio líquido conforme classificação das 6 categorias com total de 17.354 resultados em mulheres do grupo de 30 a 45 anos.



Fonte: elaborado pela autora.

No grupo de mulheres de 46 a 65 anos (Figura 17) foram avaliados 9.463 resultados, (1) HSIL – 0,2% (17 / 9.463), (2) ASC-H 1,1% (108 / 9.463), (3) CGA - 0,2% (20 / 9.463), (4) LSIL – 1,1% (107 / 9.463), (5) ASC-US – 3,3% (316 / 9.463) e (6) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade – 94,0% (8.895 / 9.463).

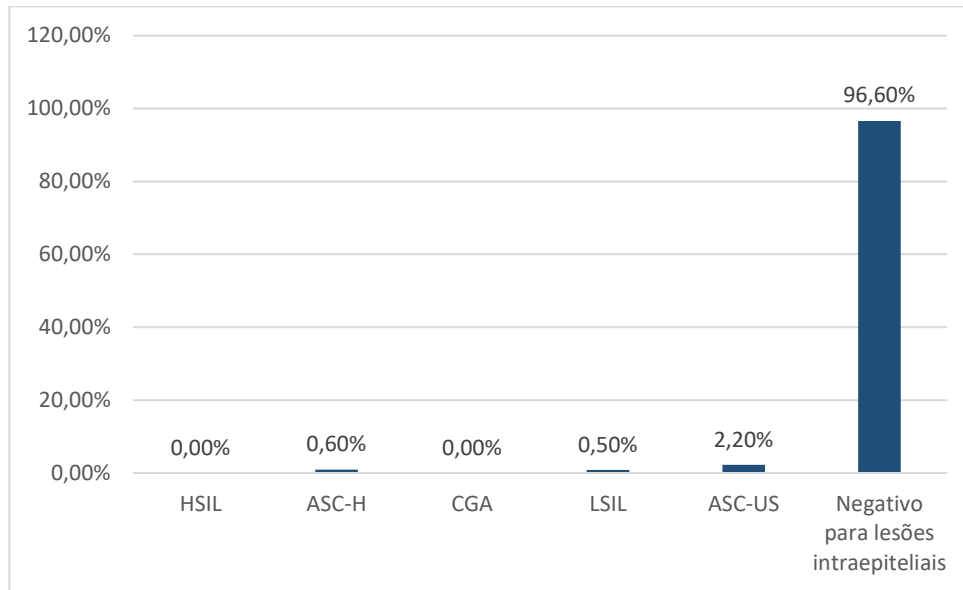
Figura 17: Resultados de citologia em meio líquido conforme classificação das 6 categorias com total de 9.463 resultados em mulheres do grupo de 46 a 65 anos.



Fonte: elaborado pela autora.

No grupo de mulheres de 66 a 80 anos (Figura 18) foram avaliados 1.693 resultados, (1) HSIL – 0,0% (0 / 1.693), (2) ASC-H 0,6% (11 / 1.693), (3) células glandulares atípicas - 0,0% (0 / 1.693), (4) LSIL – 0,5% (9 / 1.693), (5) ASC-US – 2,2% (37 / 1.693) (6) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade – 96,6% (1.636 / 1.693).

Figura 18: Resultados de citologia em meio líquido conforme classificação das 6 categorias com total de 1.693 resultados em mulheres do grupo de 66 a 80 anos.



Fonte: elaborado pela autora.

## 5.2 CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E HPV PCR ALTO RISCO

Os resultados a seguir são referentes ao cruzamento de dados das pacientes que realizaram o exame de citologia em meio líquido e pesquisa de HPV na mesma amostra. Inicialmente a análise foi em relação ao número de amostras avaliadas no total de 6.840. Para avaliação dos resultados de citologia, reduzimos a classificação para quatro variáveis, desta forma, possibilitou a aplicação dos testes estatísticos, essa nova classificação foi baseada no nível de importância clínica dos resultados de ASC, conforme descrito a seguir:

Classificamos os resultados de citologia em meio líquido em quatro variáveis: (1) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade, (2) LSIL (que incluiu as classificações de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau e ASC-US), (3) HSIL (que incluiu as classificações de lesão intraepitelial escamosa de alto grau e ASC-H) e (4) CGA. Para o HPV, classificamos em 3 variáveis: (1) Não detectado HPV de alto risco, (2) detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco e (3) detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).

O teste molecular para pesquisa de HPV identificou 14,4% (987 / 6.840) de amostras positivas, destas 3,6% (245 / 6.840) identificaram a presença do HPV 16

e/ou 18 de alto risco, enquanto 10,8% (742 / 6.840) identificaram a presença do HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18. O cruzamento dos dados entre a pesquisa de HPV e a citologia estão descritos na tabela 1. Houve associação significativa entre o resultado do PCR para HPV de alto risco e a citologia ( $P < 0,0001$ ).

Quando analisamos a presença do HPV em relação à citologia, resultados de HPV 16 e/ou 18 de alto risco foram detectados em 1,4% (94 / 6.840) das citologias classificadas como negativas, 1,7% (117 / 6.840) das citologias classificadas como LSIL, 0,5% (31 / 6.840) das citologias classificadas como HSIL e 0,04% (3 / 6.840) das citologias classificadas com presença de CGA.

Com os resultados de HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18 foram detectados em 5,4% (370 / 6.840) das citologias classificadas como negativas, 5,0% (340 / 6.840) das citologias classificadas como LSIL, 0,4% (28 / 6.840) das citologias classificadas como HSIL e 0,06% (4 / 6.840) das citologias classificadas com CGA.

Com os resultados de HPV não detectado, 80,7% (5.518 / 6.840) apresentaram resultados de citologia negativas, 4,4% (303 / 6.840) das citologias classificadas como LSIL, 0,2% (15 / 6.840) das citologias classificadas como HSIL e 0,2% (17 / 6.840) das citologias com CGA.

Dos 6.840 exames avaliados, identificamos que entorno de 860 pacientes repetiram os exames no período do estudo, por meio do código único de cada cliente conseguimos identificar as duplicatas de exames. As repetições foram de pelo menos duas vezes em períodos diferentes, mas tiveram pacientes com repetições de até 5 vezes dentro do período do estudo. Não conseguimos identificar um padrão entre as repetições, na maioria dos casos percebemos que apresentou resultado alterado de citologia, geralmente com lesões de ASC-S e LSIL com presença de HPV de alto risco e na repetição a infecção foi resolvida, pois tanto na citologia quando na PCR os resultados foram negativos.

Tabela 1: Associação significativa entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco ( $P < 0,0001^*$ ).

<b>DIAGNOSTICO DESCRITIVO COLPOCITOLOGIA e RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR</b>				
<b>Colpocitologia</b>	<b>RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR</b>			<b>Total</b>
	Não detectado HPV de alto risco	Detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco.	Detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).	
<b>Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.</b>	5518 (80,7%)	94 (1,4%)	370 (5,4%)	<b>5982 (87,5%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.</b>	303 (4,4%)	117 (1,7%)	340 (5,0%)	<b>760 (11,1%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.</b>	15 (0,2%)	31 (0,5%)	28 (0,4%)	<b>74 (1,1%)</b>
<b>Células glandulares atípicas.</b>	17 (0,2%)	3 (0,04%)	4 (0,06%)	<b>24 (0,4%)</b>
<b>Total</b>	<b>5853 (85,6%)</b>	<b>245 (3,6%)</b>	<b>742 (10,86%)</b>	<b>6840 (100%)</b>

**\* Significância segundo teste Qui-quadrado. Fonte: autora.**

### 5.3 CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO E HPV PCR ALTO RISCO ESTRATIFICADOS POR IDADE

Os dados também foram estratificados por grupos de idades para identificar se a associação do exame de citologia em meio líquido e a pesquisa de HPV de alto risco têm impacto por estratos populacionais e qual a característica de resultados. Mantivemos a classificação já adotada, ou seja: (1) 18 a 24 anos, (2) 25 a 29 anos, (3) 30 a 45 anos, (4) 46 a 65 anos e (5) 66 a 80 anos.

Classificamos os resultados de citologia em meio líquido em quatro variáveis: (1) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade, (2) LSIL (que incluiu as classificações de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau e ASC-US), (3) HSIL (que incluiu as classificações de lesão intraepitelial escamosa de alto grau e ASC-H) a e (4) CGA. Para o HPV, classificamos em 3 variáveis: (1) não detectado HPV de alto

risco, (2) detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco e (3) detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).

### **5.3.1 Análise dos resultados de mulheres de 18 a 24 anos**

Para esta faixa etária, foram identificados 494 resultados e não foram encontrados resultados em relação a células glandulares atípicas, sendo assim, para fins estatísticos, utilizamos apenas três (3) variáveis para citologia em meio líquido: (1) Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade, (2) LSIL (que incluiu as classificações de lesão intraepitelial escamosa de baixo grau e ASC-US), (3) HSIL (que incluiu as classificações de lesão intraepitelial escamosa de alto grau e ASC-H).

O teste molecular para pesquisa de HPV identificou 35% (173 / 494) de amostras positivas, destas 7,1% (35 / 494) identificaram a presença do HPV 16 e/ou 18 de alto risco, enquanto 27,9% (138 / 494) identificaram a presença do HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18. O cruzamento dos dados entre a pesquisa de HPV e a citologia estão descritos na tabela 2.

Houve associação significativa entre o resultado do PCR para HPV de alto risco e a citologia ( $P < 0,0001$ ). No grupo com resultados de HPV 16 e/ou 18 de alto risco, a maioria dos resultados da citologia foi classificada como LSIL 4,0% (20 / 494), enquanto as citologias negativas apresentaram 2,8% (14 / 494) dos casos positivos para HPV 16 e/ou 18 e as citologias classificadas como HSIL representaram 0,3% (1 / 494) dos casos positivos. Resultados de HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18 foram detectados em 12,1% (60 / 494) das citologias classificadas como negativas, 15,2% (75 / 494) das citologias classificadas como LSIL, 0,6% (3 / 494) das citologias classificadas como HSIL. Resultados de HPV não detectado, 60,3% (298 / 494) apresentaram resultados de citologia negativas, 4,5% (22 / 494) das citologias foram classificadas como LSIL e 0,2% (1 / 494) das citologias classificadas como HSIL.

Tabela 2: Associação significativa entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 18 a 24 anos ( $P < 0,0001^*$ ).

<b>DIAGNOSTICO DESCRITIVO COLPOCITOLOGIA e RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR EM MULHERES DE 18 A 24 ANOS</b>				
<b>Colpocitologia</b>	<b>RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR</b>			<b>Total</b>
	<b>Não detectado HPV de alto risco</b>	<b>Detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco.</b>	<b>Detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).</b>	
<b>Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.</b>	298 (60,3%)	14 (2,8%)	60 (12,1%)	<b>372 (75,3%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.</b>	22 (4,5%)	20 (4,0%)	75 (15,2%)	<b>117 (23,7%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.</b>	1 (0,2%)	1 (0,3%)	3 (0,6%)	<b>5 (1,0%)</b>
<b>Total</b>	<b>321 (65,0%)</b>	<b>35 (7,1%)</b>	<b>138 (27,9%)</b>	<b>494 (100%)</b>

**\* Significância segundo teste Qui-quadrado. Fonte: autora.**

### 5.3.2 Análise dos resultados de mulheres de 25 a 29 anos

Para esta faixa etária, identificamos 725 amostras, utilizamos as mesmas variáveis citadas no item 5.3. O teste molecular para pesquisa de HPV identificou 25,9% (188 / 725) de amostras positivas, destas 7,3% (53 / 725) identificaram a presença do HPV 16 e/ou 18 de alto risco, enquanto 18,6% (135 / 725) identificaram a presença do HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18. O cruzamento dos dados entre a pesquisa de HPV e a citologia estão descritos na tabela 3.

Houve associação significativa entre o resultado do PCR para HPV de alto risco e a citologia ( $P < 0,0001$ ). Quando analisamos a presença de HPV em relação à citologia, no grupo com resultados de HPV 16 e/ou 18 de alto risco foram detectados em 2,5% (18 / 725) das citologias classificadas como negativas, 3,4% (25 / 725) das citologias classificadas como LSIL, 1,2% (9 / 725) das citologias classificadas como HSIL e 0,2% (1 / 725) das citologias com presença de CGA. No grupo de resultados de HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18 foram detectados em 9,4% (68 / 725) das citologias classificadas como negativas, 8,4% (61 / 725) das citologias classificadas LSIL, 0,7% (5 / 725) das citologias classificadas como HSIL e 0,1% (1 /

725) das citologias classificadas com presença de CGA. No grupo com resultados de HPV não detectado 67,7% (491 / 725) apresentaram resultados de citologia negativas, 5,8% (42 / 725) das citologias classificadas como LSIL, 0,3% (2 / 725) das citologias classificadas como HSIL e 0,3% (2 / 725) das citologias com presença de CGA.

Tabela 3: Associação significativa entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 25 a 29 anos ( $P < 0,0001^*$ ).

<b>DIAGNOSTICO DESCRITIVO COLPOCITOLOGIA e RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR EM MULHERES DE 25 A 29 ANOS</b>				
<b>Colpocitologia</b>	<b>RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR</b>			<b>Total</b>
	Não detectado HPV de alto risco	Detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco.	Detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).	
<b>Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.</b>	491 (67,7%)	18 (2,5%)	68 (9,4%)	<b>577 (79,6%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.</b>	42 (5,8%)	25 (3,4%)	61 (8,4%)	<b>128 (17,7%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.</b>	2 (0,3%)	9 (1,2%)	5 (0,7%)	<b>16 (2,2%)</b>
<b>Células glandulares atípicas</b>	2 (0,3%)	1 (0,2%)	1 (0,1%)	<b>4 (0,6)</b>
<b>Total</b>	<b>537 (74,1%)</b>	<b>53 (7,3%)</b>	<b>135 (18,6%)</b>	<b>725 (100%)</b>

\* Significância segundo teste Qui-quadrado. Fonte: autora.

### 5.3.3 Análise dos resultados de mulheres de 30 a 45 anos

Para esta faixa etária, identificamos 3.632 amostras, utilizamos as mesmas variáveis citadas no item 5.3. O teste molecular para pesquisa de HPV identificou 13,8% (501 / 3.632) de amostras positivas, destas 3,4% (122 / 3.632) com a presença do HPV 16 e/ou 18 de alto risco, enquanto 10,4% (379 / 3.632) com a presença do HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18. O cruzamento dos dados entre a pesquisa de HPV e a citologia estão descritos na tabela 4.

Houve associação significativa entre o resultado do PCR para HPV de alto risco e a citologia ( $P < 0,0001$ ). Quando analisamos a presença de HPV em relação à citologia, o grupo com resultados de HPV 16 e/ou 18 de alto risco foram detectados

em 1,3% (48 / 3.632) das citologias classificadas como negativas, 1,5% (56 / 3.632) das citologias classificadas como LSIL, 0,4% (16 / 3.632) das citologias classificadas como HSIL e 0,1% (2 / 3.632) das citologias com presença de CGA. No grupo com resultados de HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18 foram detectados em 5,5% (199 / 3.632) das citologias classificadas como negativas, 4,4% (159 / 3.632) das citologias classificadas como LSIL, 0,5% (18 / 3.632) das citologias classificadas como HSIL e 0,1% (3 / 3.632) das citologias classificadas com presença de CGA. No grupo com resultados de HPV não detectado, 81,4% (2.956 / 3.632) apresentaram resultados de citologia negativas, 4,3% (155 / 3.632) das citologias classificadas como LSIL, 0,2% (9 / 3.632) das citologias classificadas como HSIL e 0,3% (11 / 3.632) das citologias com presença de CGA.

Tabela 4: Associação significativa entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 30 a 35 anos (P<0,0001\*).

<b>DIAGNOSTICO DESCRITIVO COLPOCITOLOGIA e RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR EM MULHERES DE 30 A 45 ANOS</b>				
<b>Colpocitologia</b>	<b>RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR</b>			<b>Total</b>
	Não detectado HPV de alto risco	Detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco.	Detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).	
<b>Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.</b>	2.956 (81,4%)	48 (1,3%)	199 (5,5%)	<b>3.203 (88,2%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.</b>	155 (4,3%)	56 (1,5%)	159 (4,4%)	<b>370 (10,2%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.</b>	09 (0,2%)	16 (0,4%)	18 (0,5%)	<b>43 (1,2%)</b>
<b>Células glandulares atípicas</b>	11 (0,3%)	2 (0,01%)	3 (0,1%)	<b>16 (0,4%)</b>
<b>Total</b>	<b>3.131 (86,2%)</b>	<b>122 (3,4%)</b>	<b>379 (10,4%)</b>	<b>3.632 (100%)</b>

\* Significância segundo teste Qui-quadrado. Fonte: autora.

#### 5.3.4 Análise dos resultados de mulheres de 46 a 65 anos

Para essa faixa etária, identificamos 1.592 amostras, utilizamos as mesmas variáveis citadas no item 5.3. O teste molecular para pesquisa de HPV identificou 6,9% (110 / 1.592) de amostras positivas, destas 1,9% (30 / 1.592) identificaram a presença de HPV 16 e/ou 18 de alto risco, enquanto 5,0% (80 / 1.592) identificaram a presença de HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18. O cruzamento dos dados entre a pesquisa de HPV e a citologia estão descritos na tabela 5.

Houve associação significativa entre o resultado do PCR para HPV de alto risco e a citologia ( $P < 0,0001$ ). Quando analisamos a presença do HPV em relação à citologia, o grupo com resultados de HPV 16 e/ou 18 de alto risco foi detectado em 0,8% (12 / 1.592) das citologias classificadas como negativas, 0,8% (13 / 1.592) das citologias classificadas como LSIL, 0,3% (5 / 1.592) das citologias classificadas como HSIL e 0,0% (0 / 1.592) das citologias com presença de CGA. No grupo com resultados de HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18 foi detectado em 2,3% (37 / 1.592) das citologias classificadas como negativas, 2,6% (42 / 1.592) das citologias classificadas como LSIL, 0,1% (1 / 1.592) das citologias classificadas como HSIL e 0,0% (0 / 1.592) das citologias classificadas com presença de CGA. No grupo com resultados de HPV não detectado, 88,1% (1.402 / 1.592) apresentaram resultados de citologia negativas, 4,6% (74 / 1.592) das citologias classificadas como LSIL, 0,1% (2 / 1.592) das citologias classificadas como HSIL e 0,3% (4 / 1.592) das citologias com presença de CGA.

Tabela 5: Associação significativa entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 46 a 65 anos ( $P < 0,0001^*$ ).

<b>DIAGNOSTICO DESCRITIVO COLPOCITOLOGIA e RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR EM MULHERES DE 46 A 65 ANOS</b>				
<b>Colpocitologia</b>	<b>RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR</b>			<b>Total</b>
	Não detectado HPV de alto risco	Detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco.	Detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).	
<b>Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.</b>	1.402 (88,1%)	12 (0,8%)	37 (2,3%)	<b>1.451 (91,1%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.</b>	74 (4,6%)	13 (0,8%)	42 (2,6%)	<b>129 (8,1%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.</b>	02 (0,1%)	5 (0,3%)	1 (0,1%)	<b>8 (0,56%)</b>
<b>Células glandulares atípicas</b>	4 (0,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	<b>4 (0,3%)</b>
<b>Total</b>	<b>1.482 (93,1%)</b>	<b>30 (1,9%)</b>	<b>80 (5,0%)</b>	<b>1.592 (100%)</b>

\* Significância segundo teste Qui-quadrado. Fonte: autora.

### 5.3.5 Análise dos resultados de mulheres de 66 a 80 anos

Para essa faixa etária, identificamos 397 amostras, utilizamos as mesmas variáveis citadas no item 5.3 e não foram reportados resultados em relação às células glandulares atípicas, sendo assim, utilizamos apenas três (3) variáveis para citologia em meio líquido. O teste molecular para pesquisa de HPV identificou 3,8% (15 / 397) de amostras positivas, destas 1,3% (5 / 397) identificaram a presença do HPV 16 e/ou 18 de alto risco, enquanto 2,5% (10 / 397) identificaram a presença do HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18. O cruzamento dos dados entre a pesquisa de HPV e a citologia estão descritos na tabela 6.

Houve associação significativa entre o resultado do PCR para HPV de alto risco e a citologia ( $P < 0,0001$ ). Quando analisamos a presença do HPV em relação à citologia, no grupo com resultados de HPV 16 e/ou 18 de alto risco foi detectado em 0,5% (2 / 397) das citologias classificadas como negativas, 0,8% (3 / 397) das citologias classificadas como LSIL, 0,0% (0 / 397) das citologias classificadas como

HSIL. No grupo com resultados de HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18 foi detectado em 1,5% (6 / 397) das citologias classificadas como negativas, 0,8% (3 / 397) das citologias classificadas como LSIL, 0,3% (1 / 397) das citologias classificadas como HSIL. No grupo com resultados de HPV não detectado, 93,5% (371 / 397) apresentaram resultados de citologia negativas, 2,5% (10 / 397) das citologias classificadas como LSIL, 0,3% (1 / 397) das citologias classificadas como HSIL.

Tabela 6: Associação significativa entre os resultados de citologia em meio líquido e PCR para HPV de alto risco em mulheres de 66 a 80 anos ( $P < 0,0001^*$ ).

DIAGNOSTICO DESCRITIVO COLPOCITOLOGIA e RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR EM MULHERES DE 66 A 80 ANOS				
Colpocitologia	RESULTADO HPV ALTO RISCO POR PCR			Total
	Não detectado HPV de alto risco	Detectado HPV 16 e/ou HPV 18 de alto risco.	Detectado HPV de alto risco (genótipo não 16 e/ou 18).	
<b>Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.</b>	371 (93,5%)	2 (0,5%)	6 (1,5%)	<b>379 (95,5%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.</b>	10 (2,5%)	3 (0,8%)	3 (0,8%)	<b>16 (4,0%)</b>
<b>Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.</b>	01 (0,3%)	0 (0,0%)	1 (0,3%)	<b>2 (0,5%)</b>
<b>Total</b>	<b>382 (96,2%)</b>	<b>5 (1,3%)</b>	<b>10 (2,5%)</b>	<b>397 (100%)</b>

\* Significância segundo teste Qui-quadrado. Fonte: autora.

#### 5.4 RESULTADOS DAS ANÁLISES SIMULTANEAS DE CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO, PCR PARA HPV DE ALTO RISCO E PCR PARA *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Para este grupo de análise, utilizamos o cruzamento dos dados de mulheres que realizaram simultaneamente os exames de citologia em meio líquido, PCR para HPV de alto risco e *Chlamydia trachomatis*. O total de resultados das amostras avaliadas neste grupo foi de 2.673. A padronização dos resultados de citologia seguiu

o descrito no item 5.3, para os resultados de HPV de alto risco e para os resultados de *Chlamydia trachomatis* foram utilizadas duas (2) variáveis, detectado e não detectado. O cruzamento dos dados entre a pesquisa de HPV, *Chlamydia trachomatis* e a citologia estão descritos na tabela 7. Houve associação significativa entre os resultados do PCR para HPV de alto risco, *Chlamydia trachomatis* e citologia ( $P < 0,0001$ ).

Quando analisamos a presença de HPV de alto risco e a presença de *Chlamydia trachomatis*, identificamos que 0,6% (16 / 2.673) apresentaram infecção simultânea dos dois agentes. Ao relacionar os resultados de PCR detectado para os dois agentes e a citologia, identificamos que 0,3% (7 / 2.673) das citologias foram classificadas como negativas, 0,2% (6 / 2.673) das citologias foram classificadas como lesões de baixo grau, 0,1% (3 / 2.673) das citologias foram classificadas como lesões de alto grau e das citologias com presença de células glandulares atípicas não tiveram amostras neste grupo.

Quando analisamos a pesquisa de HPV de alto risco com resultados detectado e a pesquisa de *Chlamydia trachomatis* com resultados não detectado identificamos que 8,1% (217 / 2.673) das citologias foram classificadas como negativas, 6,7% (180 / 2.673) das citologias classificadas como lesões de baixo grau, 0,7% (17 / 2.673) das citologias foram classificadas como lesões de alto grau e 0,1% (4 / 2.673) das citologias identificaram a presença de células glandulares atípicas.

Quando analisamos a pesquisa de HPV de alto risco com resultados não detectado e a pesquisa de *Chlamydia trachomatis* com resultados detectados, identificamos que 0,7% (19 / 2.673) das citologias classificadas como negativas, 0,1% (2 / 2.673) das citologias classificadas como lesões de baixo grau, e para os grupos de lesões de alto grau e células glandulares atípicas não foi identificado a presença de *Chlamydia trachomatis*.

Tabela 7 – Associação significativa entre os resultados de resultados de citologia em meio líquido, PCR para *Chlamydia trachomatis* e PCR para HPV (P<0,0001\*).

DIAGNOSTICO DESCRITIVO COLPOCITOLOGIA, RESULTADO HPV ALTO RISCO E <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>					
COLPOCITOLOGIA	Pesquisa por PCR HPV alto risco e <i>Chlamydia trachomatis</i>				Total
	HPV e <i>Chlamydia</i> Não detectado	HPV e <i>Chlamydia</i> Detectados	HPV Detectado e <i>Chlamydia</i> Não detectado	HPV Não detectado e <i>Chlamydia</i> Detectado	
Negativo para lesões intraepiteliais ou malignidade.	2.084 (78,0%)	7 (0,3%)	217 (8,1%)	19 (0,7%)	<b>2.327 (87,1%)</b>
Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau.	123 (4,6%)	6 (0,2%)	180 (6,7%)	2 (0,1%)	<b>311 (11,6%)</b>
Lesão intraepitelial escamosa de alto grau.	7 (0,3%)	3 (0,1%)	17 (0,7%)	0 (0,0%)	<b>27 (1,0%)</b>
Células glandulares atípicas.	4 (0,1%)	0 (0,0%)	4 (0,1%)	0 (0,0%)	<b>8 (0,3%)</b>
<b>Total</b>	<b>2.218 (83,0%)</b>	<b>16 (0,6%)</b>	<b>418 (15,6%)</b>	<b>21 (0,8%)</b>	<b>2.673 (100%)</b>

\* Significância segundo teste Qui-quadrado. Fonte: autora.

## 5.5 AGENTES INFECCIOSOS EM MEIO LÍQUIDO POR PCR

Foram incluídos no banco de dados os resultados referentes à pesquisa de agentes infecciosos por PCR provenientes de amostras de conteúdo vaginal em meio líquido. Para estes exames o grande volume de solicitações ficou concentrado apenas em *Chlamydia trachomatis* e HPV pois são os únicos que possuem cobertura para a maioria dos planos de saúde, pesquisas de demais microrganismos são oferecidas apenas na modalidade particular restringindo as possibilidades de alcance para esta tecnologia.

Do total de 13.572 amostras com pesquisa de algum tipo de microrganismo, identificamos uma positividade total de 9,1%, das quais 1.235 amostras foram reportadas com resultados detectado para a presença de um dos agentes e 12.333 foram reportados resultados como não detectado. Conforme descrito na tabela 8.

Para a pesquisa de *Chlamydia trachomatis* identificamos o total de 5.600 resultados onde 146 resultados foram reportados como detectado, com índice de

positividade de 2,61% e 5.454 resultados foram reportados como não detectado. Para a pesquisa de HPV alto risco, identificamos o total de 6.855 resultados onde 984 foram reportados como detectado, com índice de positividade de 14,35% e 5.871 resultados foram reportados como não detectado. Para a pesquisa de *Neisseria gonorrhoeae* identificamos o total de 365 resultados onde 3 foram reportados como detectado, com índice de positividade de 0,82% e 362 resultados foram reportados como não detectado.

Para a pesquisa de *Candida albicans* identificamos o total de 99 resultados onde 23 foram reportados como detectado, com índice de positividade de 23,2%, 4 amostras foram reportadas com resultado inconclusivo e 72 resultados foram reportados como não detectado. Para a pesquisa de Herpes Simples tipo I identificamos o total de 5 resultados onde todos foram reportados como não detectado. Para a pesquisa de Herpes Simples tipo II identificamos o total de 5 resultados onde 1 foi reportado como detectado e 4 resultados foram reportados como não detectado.

Para a pesquisa de *Streptococcus agalactie* identificamos o total de 14 resultados onde todos foram reportados como não detectado. Para a pesquisa de *Mycoplasma* identificamos o total de 293 resultados onde 11 resultados foram reportados como detectado, com índice de positividade de 3,75% e 282 resultados foram reportados como não detectado.

Para a pesquisa de *Ureaplasma parvum* identificamos o total de 168 resultados onde 53 foram reportados como detectado, com índice de positividade de 31,5% e 115 resultados foram reportados como não detectado. Para a pesquisa de *Ureaplasma urealiticum* identificamos o total de 168 resultados onde 14 foram reportados como detectado, com índice de positividade de 8,33% e 154 resultados foram reportados como não detectado

Tabela 8 – Agentes infecciosos encontrados por PCR no trato genital feminino de pacientes da grande Florianópolis, em amostra em meio líquido PCR.

Descrição do exame	Detectado	Inconclusivo	Não detectado	Total	Índice de positividade
<i>Chlamydia trachomatis</i>	146	0	5454	5600	2,61
HPV alto risco	984	0	5871	6855	14,35
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	3	0	362	365	0,82
<i>Candida albicans</i>	23	4	72	99	23,23
Herpes Simples I	0	0	5	5	0,00
Herpes Simples II	1	0	4	5	20,00
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	14	14	0,00
<i>Mycoplasma</i>	11	0	282	293	3,75
<i>Ureaplasma parvum</i>	53	0	115	168	31,55
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	14	0	154	168	8,33
<b>Total</b>	<b>1235</b>	<b>4</b>	<b>12333</b>	<b>13572</b>	<b>9,10</b>

## 6 DISCUSSÃO

Ao longo dos últimos anos o exame de citologia convencional foi utilizado como principal método para rastreamento e diagnóstico de câncer de colo de útero, tornando-se muito praticado e trazendo resultados excelentes para a redução da incidência desta neoplasia que é um dos principais problemas de saúde globalmente. Embora o grande avanço em relação à diminuição dos casos de câncer de colo de útero com a utilização do teste convencional, o método automatizado em meio líquido foi desenvolvido para amenizar as limitações que o teste convencional apresenta (DASGUPTA, 2023).

Outro avanço importante foi a descoberta do envolvimento do Papilomavírus Humano (HPV) na etiologia do câncer de colo de útero, as técnicas moleculares possibilitam identificar os principais tipos de HPV que podem causar as lesões precursoras do câncer cervical. A associação da citologia e dos testes de PCR para HPV possibilitam traçar estratégias para rastrear e tratar as lesões, diminuindo a mortalidade por esta neoplasia. O teste de HPV por PCR apresenta algumas vantagens, entre elas ter maior sensibilidade que a citologia e proporcionar mais segurança em relação aos resultados negativos, apresentando alto valor preditivo negativo possibilitando ampliar os intervalos de rastreios (SWID; MONACO, 2022).

Este estudo fornece dados epidemiológicos atuais de mulheres que realizaram exames para prevenção do câncer de colo de útero na rede privada de um laboratório de grande porte na região da grande Florianópolis, no estado de Santa Catarina / Brasil, com dados de prevalência das anormalidades citológicas identificadas no exame de citologia em meio líquido e detecção de HPV de alto risco simultaneamente em amostras cervicais coletadas em meio conservante. As solicitações dos exames da rede privada são atendidas conforme pedido médico e são realizados mediante pagamento de planos de saúde privados ou particular da própria paciente.

Os dados epidemiológicos encontrados nesse estudo possibilitam identificar o perfil das pacientes da rede privada que procuram o serviço laboratorial para realização dos seus exames e possibilitou comparar os resultados encontrados com o que está sendo realizado na rede pública de saúde. Os exames de rastreamento, quando realizados em laboratórios credenciados ao Sistema Único de Saúde (SUS), tem os registros dos resultados no sistema SISCOLO e, desta forma, os casos de exames

alterados são acompanhados e os números de casos são registrados, mas quando realizados pela rede privada essas informações não são registradas e fica a cargo da paciente em voltar ao médico para acompanhamento. Os resultados encontrados neste estudo poderão ser úteis para evidenciar a importância da utilização do teste de HPV de alto risco por PCR em conjunto com a citologia em meio líquido e assim, auxiliar nas discussões para definição de qual a forma mais adequada de rastreamento para a população brasileira.

Desde 2014 a OMS recomenda a utilização do teste molecular para rastreamento se este recurso estiver disponível. No Brasil, o Instituto do Câncer (INCA) recomenda que o rastreamento seja realizado através de colpocitologia em mulheres de 25 a 64 anos que tenham iniciado a atividade sexual, com repetição no primeiro ano para descartar resultados falso-negativos e com dois testes consecutivos de resultados negativos, seguir o acompanhamento com exames a cada três (3) anos ( INCA, 2016). Em 2018 um grupo da Associação Brasileira de Patologia do Trato Genital Inferior e Colposcopia realizou uma revisão com atualizações para as Diretrizes Brasileiras de Rastreamento do Câncer de Colo de Útero, pois identificou que o teste de HPV de alto risco por PCR estava sendo utilizado na rede privada sem diretrizes nacionais definidas. O método de biologia molecular para detecção do HPV de alto risco está sendo incluso pelo SUS a partir do mês de março de 2024, até então as diretrizes disponível no Brasil, com última atualização em 2016 não sugeria a utilização desta metodologia e recomendava apenas a utilização da citologia para rastreamento e prevenção do câncer de colo de útero ( ZEFERINO *et al.*, 2018).

Na publicação de Zefferino e colaboradores de 2018, há recomendações de utilizar o teste de HPV de alto risco por PCR em conjunto com a citologia em meio líquido em mulheres de 30 a 64 anos com intervalos de 5 anos para as amostras negativas. Levando em consideração que os resultados de HPV de alto risco por PCR em conjunto com a citologia possui alto valor preditivo negativo, possibilitando segurança para ampliar o intervalo de rastreamento.

Ao avaliar o número de exames solicitados no período que incluiu este estudo, identificamos que a rede privada segue as recomendações do rastreamento com uso apenas da citologia, visto que de 36.284 amostras com a solicitação de colpocitologia em meio líquido, apenas em 18,8% (6.840) possuíam também solicitações de PCR para HPV de alto risco. Quando avaliamos apenas os resultados de citologia identificamos que em relação à idade das pacientes não tem padronização no rastreamento,

este estudo foi aprovado para mulheres entre 18 e 80 anos, mas foi excluído idades inferiores a 18 anos e superiores a 80 anos. Na faixa etária de 18 e 24 anos identificamos 3.283 resultados e destes, apenas oito (8) resultados apresentaram HSIL e 94 ASC-H, que possivelmente foram encaminhados para tratamento, naturalmente a clínica é soberana, mas se avaliado conforme as recomendações, apenas 0,3% apresentaram resultados alterados o que não justificaria as solicitações, principalmente do ponto de vista de custos para a saúde pública.

Os resultados citológicos do nosso estudo indicam distribuição comum para uma população de rastreamento, apresentando taxas de anormalidades citológicas de 9,9% de positividade. Esses resultados encontrados estão de acordo com o descrito no INCA, 2023, que é o Relatório Anual de Dados e Números Sobre o Câncer do Colo de Útero, que preconiza índice de positividade acima de 3,0% e informa que acima de 10% são considerados centros de referência; para os resultados de ASC-US é estimado no máximo 5,0% e para HSIL o recomendado é de maior ou igual a 0,4%.

O índice de positividade em relação à citologia foi inversamente relacionado à idade em nosso estudo. Resultados que reforçam que as infecções causadas pelo HPV em mulheres jovens são transitórias e raramente evoluem para infecções persistentes que serão precursoras do câncer de colo de útero ( CARVALHO *et al.*, 2022). Importante ressaltar que a infecção persistente depende de qual idade a mulher iniciou a atividade sexual, entretanto por este estudo ser retrospectivo não há questionário clínico-epidemiológico que possa ratificar as observações feitas à partir dos resultados dos testes e justificar a solicitação de exames para faixas etárias inferior a 30 anos.

Se utilizada a diretriz INCA, 2016 como referência, que recomenda o rastreio por citologia de 25 a 65 anos, nos grupos estudados identificamos que a faixa etária que mais apresenta resultados de HSIL e ASC-H é nas mulheres de 30 a 45 anos com índice de positividade de 2,0% (453 / 17.354) que possivelmente foram encaminhadas para colposcopia. E no grupo de 46 a 65 anos o índice de positividade de alterações com ASC-H e HSIL foi de 1,3% (125 / 9.463).

Um dos achados importantes do nosso estudo foi relação à qualidade das amostras, com apenas 0,15% (56 amostras) de amostras insatisfatórias reforçando a superioridade da citologia em meio líquido. Neste estudo não realizamos comparação entre os dois métodos de citologia, mas muitos estudos reforçam a superioridade da

citologia em meio líquido. Em Patel e colaboradores de 2023, realizaram a comparação entre citologia convencional e meio líquido, observando que no método convencional 5% das amostras foram insatisfatórias, enquanto em meio líquido foram 1,4% reforçando a qualidade das lâminas e as melhores condições de análise quando preparadas a partir das amostras em meio líquido. Os autores destacaram qualidade das lâminas com fundo mais limpo, distribuição uniforme e menor sobreposição de células ( PATEL *et al.*, 2023).

Após avaliar a citologia de forma isolada, identificamos que 6.840 resultados de citologia tinham resultados simultâneos de pesquisa de HPV de alto risco por PCR, que é um dos benefícios da coleta em meio líquido poder pesquisar agentes infecciosos por PCR na mesma amostra que a utilizada para citologia. Nas análises estatísticas identificamos associação entre as variáveis e em todas as análises. Deste grupo, identificamos que o índice de positividade do HPV de alto risco nas 6.840 amostras que foi de 14,4% (987 amostras), destes 10,8% (742 amostras) correspondem ao genótipo não 16 e/ou 18 e 3,6% (245 amostras) são genótipo 16 e/ou 18. Resultado este que fica em concordância com o estudo realizado na cidade de São Paulo por Levi e colaboradores em 2019, que identificaram prevalência do HPV em 14,9% das pacientes incluídas no estudo ( LEVI *et al.*, 2019). Essa prevalência foi maior no estudo de Silveira e colaboradores em 2023, que identificaram 49,6% de HPV de alto risco na população de seu estudo que foi realizado em 6 capitais Brasileiras, dentre elas Florianópolis, que teve prevalência de 37,2%, porém o estudo possui uma característica importante, pois recrutou apenas mulheres com diagnóstico de HIV, por sua condição imunológica, tendem a ter mais infecções ( SILVEIRA *et al.*, 2023). No presente estudo não tivemos acesso a informações sobre situação sorológica para HIV ou sobre outras comorbidades nas mulheres incluídas, esta limitação do nosso estudo, conforme já mencionada, se deve à característica de estudo retrospectivo.

Outro estudo importante de dados por estados brasileiros foi o Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecções pelo Papilomavírus Humano POP-Brasil, desenvolvido entre os anos de 2015 e 2017 em todas as capitais brasileiras, que incluiu homens e mulheres, em que a prevalência geral do estudo foi de 53,6% que apresentaram pelo menos um tipo de HPV, e destes 35,2% apresentaram algum tipo de HPV de alto risco. No Sul do país a prevalência de HPV foi de 49,68% e em Florianópolis a prevalência de pelo menos um tipo de HPV foi de

56,4% e destes 37,3% apresentaram pelo menos um tipo de alto risco ( WENDLAND *et al.*, 2020).

A metodologia disponível para as testagens de HPV do nosso estudo foi da Abbott m2000 que possibilita detectar quatorze tipos de HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) mas traz a genotipagem apenas dos tipos 16 e 18, o que impossibilita a identificação de quais são os tipos mais prevalentes quando o resultado genótipo não 16 e/ou não 18 é reportado, visto que, neste estudo identificamos alta prevalência de resultados (não 16 e/ou não 18) com 742 amostra representando 10,8%. No estudo de Silveira e colaboradores em 2023, que genotipou 14 tipos de alto risco e 9 de baixo risco, foi identificado que o HPV tipo 53 (provavelmente de alto risco) foi o mais frequente encontrado em 11,1% das amostras e o tipo 16 se encontra em terceiro dos mais frequentes, encontrado em 9,0% das amostras da população do estudo ( SILVEIRA *et al.*, 2023).

Para Siqueira e colaboradores em 2024, reforçam a importância dos dados de genotipagem nos testes de HPV, pois o conhecimento sobre a epidemiologia viral possibilita avaliar a prevalência dos tipos de HPV cobertos pelas vacinas disponíveis e desenvolvimento de novas estratégias de vacinação e manejo das pacientes. Esses autores, identificaram maior prevalência do HPV de alto risco tipos 31, 56 e 68 na população estudada no estado de Minas Gerais/Brasil e os tipos 16 e/ou 18 estavam presentes em apenas 7 amostras das 114 avaliadas ( SIQUEIRA *et al.*, 2024).

Quando avaliamos as citologias que apresentaram resultados negativos, mas com a presença de HPV, identificamos que 1,4% (94 amostras) tiveram resultados de PCR para HPV de alto risco tipo 16 e/ou 18 e 5,4% (370 amostras) tiveram resultado de PCR para HPV de alto risco genótipo não 16 e/ou 18. Esses resultados com a presença do HPV e a citologia com resultado negativo possibilitam que essas pacientes façam acompanhamentos periódicos para avaliar a eventual evolução para lesão ou mesmo algum tratamento e reforço vacinal. A detecção de HPV de alto risco antes do desenvolvimento de lesão é de fato oportunidade para intervir/tratar/acompanhar e prevenir a evolução para o câncer.

Quando comparamos os resultados encontrados entre os grupos por idades, percebemos que as mulheres de 18 a 24 anos estão mais expostas ao vírus do HPV e quanto maior a idade, menores foram as taxas de positividade. Segundo a Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO) desde 2007, o Brasil disponibiliza gratuitamente a vacina contra o HPV, inicialmente

estava disponível a vacina quadrivalente que inclui os tipos de HPV 16 e 18 de alto risco e 6 e 11 de baixo risco e desde 2023 foi liberado a vacina nonavalente que inclui os tipos de HPV 31, 33, 45, 52 e 58 ( FEBRASGO, 2023). As pacientes mais jovens deste estudo, podem ter sido vacinadas, mas devido a característica deste estudo, não temos informações sobre vacinação das pacientes, mas justificaria a alta prevalência dos genótipos não 16 e/ou18 na população estudada.

Com a avaliação dos resultados de citologia e PCR para HPV realizados simultaneamente, conseguimos identificar que 860 pacientes repetiram os exames no período do estudo pelo menos uma vez, mas não conseguimos identificar um padrão nos resultados, pois as repetições não tiveram tempo de repetição padronizado. Os resultados em grande maioria foram de lesões de baixo grau (ASC-US e LSIL), com presença de HPV e na repetição os resultados estavam dentro da normalidade na citologia e com HPV não mais detectado o que nos leva à duas hipóteses, ou a infecção foi resolvida pelo sistema imune ou o médico propôs alguma intervenção de tratamento. Karimi-Zarchi e colaboradores em 2020 destacaram que muitos estudos recentes apoiam que a vacina apresenta papel terapêutico contra o HPV e os autores identificaram que 58,7% das mulheres que receberam duas ou mais doses da vacina quadrivalente apresentaram redução na recorrência de lesões após tratamento conservador ( KARIMI-ZARCHI *et al.*, 2020)

Analisar os resultados de citologia em conjunto com a pesquisa do HPV pode auxiliar os citologistas a avaliar com cautela a citologia quando há presença do HPV e assim classificar com mais precisão as alterações citológicas. Martins e colaboradores (2018) relataram que o conhecimento do resultado do HPV pode influenciar na análise da citologia, evidenciando que o conhecimento prévio do resultado do HPV aumentou em 26,7% a sensibilidade da citologia ( MARTINS *et al.*, 2018).

No sistema de saúde privado brasileiro, o teste de HPV por PCR possui cobertura pela maioria dos planos de saúde, possibilitando que o teste seja incluso no rastreio junto com a citologia sem que as mulheres tenham custos adicionais. No final de 2023 e início de 2024 uma consulta pública foi divulgada para que a proposta de incorporação do teste molecular para detecção do HPV fosse discutida e posteriormente incorporada no SUS, com isso, a política de rastreio e prevenção do câncer de colo de útero no Brasil terá a possibilidade modificar as recomendações de

forma oficial, propondo um novo algoritmo de rastreio conforme outros países do mundo já aplicam ( SAFATLE, 2023).

Após a consulta pública, em março de 2024 foi publicada a portaria SECTICS/MS número 3 de 7 de março de 2024 que tornou pública a decisão de incorporar através do SUS, os testes moleculares para detecção do HPV de alto risco por técnica de HPV, com possibilidade de genotipagem. Os testes realizados precisam ser validados segundo critérios internacionais e conforme diretrizes do Ministério da Saúde.

Nosso estudo possibilitou avaliar também resultados de citologia com a pesquisa por PCR de HPV e *Chlamydia trachomatis* realizados simultaneamente, e podemos identificar que a coinfeção foi presente em 0,6% (16 amostras). Um estudo semelhante de Suehiro e colaboradores em 2021, identificou que 5 mulheres das 210 estudadas tiveram a coinfeção entre o HPV e a *Chlamydia trachomatis*. Tanto HPV quanto a *Chlamydia trachomatis* são doenças sexualmente transmissíveis assintomáticas e que não são controladas como doenças de notificação compulsórias, com isso, dificulta o acompanhamento ( GRASSI *et al.*, 2021).

Por fim, os resultados de pesquisa dos agentes infecciosos por PCR, identificamos positividade de 9,1% no geral, sendo a pesquisa de HPV a mais solicitada e com índice de positividade de 14,35%, em seguida a pesquisa de *Chlamydia trachomatis* com índice de positividade de 2,61%. Para os agentes infecciosos, o volume maior de solicitações foi para os exames de *Chlamydia trachomatis* e HPV e o provável motivo pode ser pela cobertura dos planos de saúde, pois a pesquisa de outros agentes etiológicos de infecções não tem cobertura pela maioria dos convênios, com isso, o pagamento é de forma particular, e isso pode ter influenciado no menor número de exames. Como exemplo, para os agentes de *Mycoplasma*, ureaplasma e *Streptococcus agalactie* o exame disponível pelos convênios geralmente é o método de cultura e não a PCR. Nesses casos, o médico deve avaliar a necessidade da solicitação e a paciente deve se dispor a pagar para ter acesso a esses exames, sendo essa uma limitação do estudo.

## 7 CONCLUSÃO

A prevalência de HPV na população deste estudo foi de 14,4%, sendo 10,8% com genótipo não 16/18 evidenciando a necessidade de estudos com metodologias que possibilitem a genotipagem possibilitando que o tipo viral mais prevalente seja identificado para melhor estratégia de tratamento e as estratégias de vacinação. A positividade da citologia em meio líquido foi de 9,9%, com prevalência de 0,28% de HSIL.

Quando avaliamos os resultados separados por idade, identificamos que as mulheres com idades entre 18 e 29 anos apresentaram maior índice de positividade tanto na avaliação da citologia de forma isolada, quanto com a associação dos resultados de HPV, evidenciando que esta população está mais exposta a infecções causadas pelo HPV, mas levantando o questionamento se o rastreamento para estas faixas etárias está adequado.

O rastreamento para o câncer do colo do útero realizado pela rede privada na região da grande Florianópolis/Brasil não está padronizado, identificamos que as solicitações de exames abrangem uma extensa faixa etária, apesar da cobertura do HPV pela maioria dos planos de saúde, apenas 18,8% das amostras avaliadas possuíam solicitações em conjunto com a citologia, evidenciando a necessidade de revisões nos manuais de orientações sobre rastreamento e prevenção do câncer do colo do útero. E ainda, quando avaliamos as repetições, percebemos que as citologias alteradas com a presença do HPV de alto risco, com o tempo foram resolvidas, mas não identificamos padrões de tempo na repetição e com a característica do estudo, não podemos afirmar qual foi a abordagem realizada.

Nosso estudo possibilitou avaliar o perfil das mulheres que buscam o sistema privado de saúde na região da grande Florianópolis, dado inédito na região, visto que a maioria dos estudos são realizados a partir de dados disponibilizados pelo atendimento na atenção básica de saúde pelo sistema público, evidenciando que independente da condição socioeconômica, o HPV está presente em todas as faixas etárias e precisa ser tratado com atenção. E ainda, levantamos o alerta de que forma os dados dos atendimentos privados estão sendo contabilizados para a epidemiologia do câncer de colo de útero no Brasil.

Estudos futuros com os dados da rede privada de saúde no Brasil são necessários para possibilitar que melhores estratégias sejam traçadas para rastreamento e

prevenção do câncer de colo de útero em todo o país. A inclusão do HPV de alto risco nas estratégias de diagnóstico e prevenção precisam ser padronizadas tanto na rede pública quanto na rede privada de saúde possibilitando que todas as mulheres tenham acesso a este exame e os números de câncer possam ser reduzidos drasticamente como em países desenvolvidos que modificaram a forma de rastrear a população exposta a essa doença tão grave que acomete as mulheres de todo o mundo e que pode ser facilmente reduzida ou até erradicada.

## 8 REFERÊNCIAS

- ADEBAMOWO, S. N. *et al.* Different human papillomavirus types share early natural history transitions in immunocompetent women. **International Journal of Cancer**, 2022.
- AGGARWAL, S.; AGARWAL, P.; GUPTA., N. A comprehensive narrative review of challenges and facilitators in the implementation of various HPV vaccination program worldwide. **Cancer Medicine**, 2023.
- ARSHI J, F. F. **Atypical Glandular Cells (AGS)**. [S.l.]: StatPearls Publishing, 2024.
- ASHOK, G. *et al.* Coinfections in human papillomavirus associated cancers and prophylactic recommendations. **Medical Virology**, 2024.
- BELL, M. *et al.* Comparison between the Roche Cobas 4800 Human Papillomavirus (HPV), Abbott RealTime High-Risk HPV, Seegene Anyplex II HPV28, and Novel Seegene Allplex HPV28 Assays for High-Risk HPV Detection and Genotyping in Mocked Self-Samples. **Clinical Microbiology**, 2023.
- BERNARD, H.-U. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. **Journal of Clinical Virology**, 2005.
- BHATTACHARJEE, R. *et al.* Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: Molecular pathways and targeted therapeutic strategies. **Critical Reviews in Oncology / Hematology**, 2022.
- CARVALHO, C. F. *et al.* Cervical Cancer Screening with HPV Testing: Updates on the Recommendation. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 2022.
- CAVALCANTI, S. M.; CARESTIATO, F. N. Infecções causadas pelo papiloma vírus humanos: atualização sobre aspectos virológicos, epidemiológicos e diagnóstico. **DST – Jornal brasileiro de doenças sexualmente transmissíveis**, 2006.
- COLPANI, V. *et al.* Prevalence of human papillomavirus (HPV) in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **Plos One**, 2020.
- COX, J. T. History of the use of HPV testing in cervical screening and in the management of abnormal cervical screening results. **Journal of Clinical Virology**, 2009.
- CUZICK, J. *et al.* Overview of Human Papillomavirus-Based and Other Novel Options for Cervical Cancer Screening in Developed and Developing Countries. **Vaccine**, 2008.
- DASGUPTA, S. The Efficiency of Cervical Pap and Comparison of Conventional Pap Smear and Liquid-Based Cytology: A Review. **Cureus**, 2023.

- EGAWA, N. *et al.* Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms, and the Development of Neoplasia. **Viruses**, 2015.
- FEBRASGO. Informações sobre a Vacinação contra HPV. **FEBRAGO**, 2023. Disponível em: <https://www.febasgo.org.br/pt/noticias/item/1621-informacoes-sobre-a-vacinacao-contra-hpv>. Acesso em: 08 Maio 2024.
- FRAPPART, L.; FONTANIÈRE, B.; SANKARANARAYANAN, E. L. E. R. Histopatologia e citopatologia do colo uterino - atlas digital. **IARC CancerBase**, 2004. ISSN ISBN: 978-92-832-2424-2. Disponível em: <https://screening.iarc.fr/atlascyto.php?lang=4>. Acesso em: 23 fevereiro 2024.
- GRASSI, V. M. T. *et al.* Analysis of Chlamydia trachomatis infection and associated factors in women with Human Immunodeficiency Virus (HIV) and high rate of Human Papillomavirus (HPV) coinfection in Maranhão. **Brazilian Journal of Development**, 2021.
- HASHMI, A. A. *et al.* Comparison of Liquid-Based Cytology and Conventional Papanicolaou Smear for Cervical Cancer Screening: An Experience From Pakistan. **Cureus**, 2020.
- HUBBARD, R. A. Human papillomavirus testing methods. **Arch Pathol Lab Med**, 2003.
- INCA. Papanicolau, exame preventivo do colo do útero. **Biblioteca Virtual em Saúde**, 2011. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/papanicolau-exame-preventivo-de-colo-de-utero/#:~:text=Para%20garantir%20um%20resultado%20correto,anteriores%20%C3%A0%20realiza%C3%A7%C3%A3o%20do%20exame>. Acesso em: 24 Fevereiro 2024.
- INCA. **Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro, p. 116. 2016. (ISBN 978-85-7318-296-5).
- INCA. **Dados e números sobre câncer do colo do útero - relatório anual 2023**. INCA - Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro, p. 31. 2023. ([https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//dados\\_e\\_numeros\\_colo\\_22marco2023.pdf](https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//dados_e_numeros_colo_22marco2023.pdf)).
- JAIME M. KIFF, M. C. E. G. M. M. E. L. T. K. M. A. A. S. B. Cervical Cancer Screening in Postmenopausal Women: Is It Time to Move Toward Primary High-Risk Human Papillomavirus Screening? **Journal of Women's Health**, 2021.

JUG R, B. S. Sistema Betesda. Site PathologyOutlines.com., 2023. Disponível em: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/cervixcytologybethesda.html>. Acesso em: 22 fevereiro 2024.

KARIMI-ZARCHI, M. *et al.* Can the prophylactic quadrivalent HPV vaccine be used as a therapeutic agent in women with CIN? A randomized trial. **BMC Public Health**, 2020.

KARIMI-ZARCHI, M. *et al.* Can the prophylactic quadrivalent HPV vaccine be used as a therapeutic agent in women with CIN? A randomized trial. **BMC Public Health**, 2020.

KHAN, M. J. M. M. *et al.* ASCCP Colposcopy Standards: Role of Colposcopy, Benefits, Potential Harms, and Terminology for Colposcopic Practice. **Journal of Lower Genital Tract Disease**, 2017.

KIFF, J. *et al.* Cervical Cancer Screening in Postmenopausal Women: Is It Time to Move Toward Primary High-Risk Human Papillomavirus Screening? **Journal of Women's Health**, Oregon, USA, 2021.

KING, K. M. *et al.* Synonymous nucleotide changes drive papillomavirus evolution. **Tumour Virus Research**, December 2022.

LEVI, J. E. *et al.* High-Risk HPV Testing in Primary Screening for Cervical Cancer in the Public Health System, Sao Paulo, Brazil. **American Association for Cancer Research**., 2019.

LIMA, D. N. D. O. Atlas de citopatologia ginecológica. **Ministério da Saúde**., 2012.

MARTINS, T. R. *et al.* Influence of Prior Knowledge of Human Papillomavirus Status on the Performance of Cytology Screening. **American Society for Clinical Pathology**, 2018.

MARTINS, T. R. Citologia líquida e teste molecular para HPV de alto risco: avaliação de novas modalidades de rastreamento para prevenção de câncer de colo do útero na rede pública de Saúde do Estado de São Paulo. **Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.**, São Paulo, 2017.

MOLIJN, A. *et al.* Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. **Journal of Clinical Virology**, 2005.

MUÑOZ-BELLO, J. O.; CARRILLO-GARCÍA, A.; LIZANO, M. Epidemiology and Molecular Biology of HPV Variants in Cervical Cancer: The State of the Art in Mexico. **International Journal of Molecular Sciences**, 2022. ISSN <https://doi.org/10.3390/ijms23158566>.

NAM, K. Colposcopy at a turning point. **Obstetrics & Gynecology Science**, 2018.

NAYAR, R.; WILBUR, D. C. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: A Historical Perspective. **Acta Cytologica**, 2017.

OPAS. **OPAS - Organização Pan-americana de Saúde**, 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer#:~:text=O%20c%C3%A2ncer%20%C3%A9%20a%20segunda,de%20baixa%20e%20m%C3%A9dia%20renda>. Acesso em: 07 janeiro 2024.

PATEL, N. *et al.* A Comparison of Conventional Pap Smear and Liquid-Based Cytology for Cervical Cancer Screening. **Gynecology and Minimally Invasive Therapy**, 2023.

PIÑA-SÁNCHEZ, P. Human Papillomavirus: Challenges and Opportunities for the Control of Cervical Cancer. **Archives of Medical Research**, 2022.

RANTSHABENG, P. *et al.* Prevalence of high-risk human papilloma virus in women with high-grade squamous cell intraepithelial lesions in Botswana using Abbott RealTime HPV assay. **PLoSOne**, 2019.

REICH, O.; REGAUER., S. Elimination of reserve cells for prevention of HPV-associated cervical cancer. **Virus Research**, February 2023.

SAFATLE, L. P. **CONSULTA PÚBLICA SECTICS/MS Nº 65**. Diário Oficial da União. Brasília. 2023. (ISSN 1677-7042).

SANJOSÉ, S.; BROTONS, M.; PAVON, M. The natural history of human papillomavirus infection. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, p. 2 e 13, 2018. ISSN <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015>.

SANTOS MO, L. F. M. L. O. J. A. L. C. M. Estimated Cancer Incidence in Brazil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 2023.

SAÚDE, M. D. HPV: A vacina está disponível pelo SUS. **Secretária do Estado de Saúde**, 2023. Disponível em: <https://www.saude.mg.gov.br/hpv#:~:text=O%20Brasil%2C%20por%20meio%20do,e%20v%C3%ADtimas%20de%20viol%C3%A2ncia%20sexual>. Acesso em: 29 fevereiro 2024.

SCHIFFMAN, M. *et al.* Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, 2011.

SILVEIRA, M. F. D. *et al.* Detection of HPV DNA in vaginal samples self-collected by women living with HIV treated through the Brazilian public health system: Prevalence and analysis of risk factors. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, 2023.

- SIQUEIRA, J. D. *et al.* Comparison of four different human papillomavirus genotyping methods in cervical samples: Addressing method-specific advantages and limitations. **Heliyon**, 2024.
- STABILE, S. A. B. *et al.* Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncológica cérvico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. **Einstein (São Paulo)**, 2007.
- SUEHIRO, T. T. *et al.* High molecular prevalence of HPV and other sexually transmitted infections in a population of asymptomatic women who work or study at a Brazilian university. **Journal Of The São Paulo Institute Of Tropical Medicine**, 2021.
- SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, 2021.
- SWID, M. A.; MONACO, S. E. Should screening for cervical cancer go to primary human papillomavirus testing and eliminate cytology? **Modern Pathology**, 2022.
- VALENČAK, A. O. *et al.* Allplex HPV HR Detection assay fulfils all clinical performance and reproducibility validation requirements for primary cervical cancer screening. **Journal of Clinical Virology**, 2024.
- VILLA, L. L.; DENNY, L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, 2006.
- WANG, T. *et al.* Updates in Cervical Cancer Screening Guidelines, The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology, and Clinical Management Recommendations. **Journal of Clinical and Translational Pathology** , 2023.
- WENDLAND, E. M. D. R. *et al.* Estudo Epidemiológico sobre a Prevalência Nacional de Infecção pelo HPV (POP-BRASIL) - 2015-2017. **Associação Hospitalar Moinhos de Vento**, Porto Alegre, 2020.
- WILLIAMS, J.; KOSTIUK, M.; BIRON, V. L. Molecular Detection Methods in HPV-Related Cancers. **Frontiers in Oncology**, 27 April 2022.
- WILLIAMS, V. M. *et al.* HPV-DNA integration and carcinogenesis: putative roles for inflammation and oxidative stress. **Future Virol**, 2011.
- ZEFERINO, L. C. *et al.* Guidelines for HPV-DNA Testing for Cervical Cancer Screening in Brazil. **Rev Bras Ginecol Obstet**, 2018.

## ANEXO A – PARECER CEP/UFSC E IEPD

### **PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

#### **DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Avaliação dos resultados de citologia líquida e detecção de HPV para diagnóstico precoce de câncer de colo do útero em mulheres da Grande Florianópolis/SC.

**Pesquisador:** Maria Luiza Bazzo

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 58214522.0.0000.0121

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Santa Catarina

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### **DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 5.402.795

#### **Apresentação do Projeto:**

Segundo os pesquisadores:

Diante disto, o objetivo deste estudo é avaliar a contribuição da citologia líquida com detecção simultânea de HPV no diagnóstico precoce de câncer de colo do útero com resultados extraídos do banco de dados de um laboratório da rede privada, de mulheres com idades de 18 a 80 anos na Grande Florianópolis, no período de 2018 a 2021.

O presente estudo poderá contribuir para a construção de dados da região da grande Florianópolis, avaliar a qualidade da triagem, identificar se as mulheres estão seguindo as recomendações de rastreamento e prevenção do câncer de colo uterino.

Hipótese:

A detecção de HPV é mais precoce do que as alterações celulares. Os dados secundários serão extraídos anonimizados de resultados de exames realizados no Laboratório Médico Santa Luzia localizado em Florianópolis, analisados em amostras de secreção cervico-vaginais de mulheres com idades entre 18 e 80 anos que realizaram exames pela rede privada nos municípios da Grande Florianópolis (Biguaçu, Florianópolis, São José, Palhoça e Tijucas) no estado de Santa Catarina, Brasil. Os exames avaliados serão de citologia convencional, citologia em meio líquido, PCR para HPV, CH

**Endereço:** Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº

**Bairro:** Trindade

**CEP:** 88.040-400

**UF:** SC

**Município:**

**Telefone:** (48)3721-6094

**E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 5.402.795

(captura híbrida) para HPV, PCR para identificação dos agentes infecciosos do trato genital como Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma, Ureaplasma, Herpes Simples I e II, Streptococcus agalactiae, Candida albicans e fragmentos de biópsias provenientes de colposcopias. Exceto a citologia convencional, os demais exames serão analisados nas amostras colhidas em meio Thinprep. Estima-se que serão avaliados 36 mil resultados de colpocitologia em meio líquido, 7 mil resultados de HPV em meio líquido e mais 24 mil resultados de outros testes que serão avaliados.

**Objetivo da Pesquisa:**

Segundo os pesquisadores:

Objetivo Primário:

- Avaliar a contribuição da citologia líquida com detecção simultânea de HPV no diagnóstico precoce de câncer de colo de útero em mulheres com idades de 18 a 80 anos na Grande Florianópolis, no período 2018a 2021.

Objetivo Secundário:

- Comparar os resultados da citologia líquida e pesquisa de HPV por faixa etária e determinar se a epidemiologia local justifica realizar a pesquisa de HPV em populações jovens (menos de 30 anos);
- Comparar os resultados da detecção de HPV por PCR em relação aos achados descritivos na colpocitologia oncológica;
- Avaliar o tipo viral nos casos de colpocitologia oncológicas alteradas;
  - Avaliar a frequência dos resultados obtidos na avaliação dos epitélios representados na amostra, comparando se há diferença de representatividade dos epitélios na citologia convencional e na citologia líquida;
- Avaliar a prevalência dos patógenos identificados a partir da coleta em meio líquido;
  - Correlacionar os resultados da citologia em meio líquido com resultados de biópsias, para avaliar se os resultados estão sendo satisfatórios e se estão sendo confirmados os diagnósticos.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Segundo os pesquisadores:

Riscos:

Os dados serão obtidos de forma anônima, mas sempre há risco, ainda que remoto de quebra de sigilo.

Benefícios:

O presente estudo poderá contribuir para a construção de dados da região da grande

**Endereço:** Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº  
**Bairro:** Trindade **CEP:** 88.040-400  
**UF:** SC **Município:**  
**Telefone:** (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

Florianópolis, avaliando a qualidade do rastreio. Por ser um estudo retrospectivo, identificar se as mulheres estão seguindo as recomendações de periodicidade do rastreio e prevenção do câncer de colo de útero. Com os exames complementares de pesquisa de HPV, observaremos se o agente infeccioso está sendo detectado antes de causar as lesões

que poderão a vir desenvolver o câncer.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Vide Campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Folha de Rosto OK;

Anuência da Instituição OK;

Faltou Termo de Compromisso para Uso de Dados;

Declaração de anonimização dos dados assinada pela Diretora do Laboratório;

**Recomendações:**

Vide Campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há inadequações.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1928442.pdf	26/04/2022 17:03:31		Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_Mirela_assinado.pdf	26/04/2022 17:03:00	Maria Luiza Bazzo	Aceito
Declaração de concordância	concordancia.pdf	08/04/2022 16:48:19	Maria Luiza Bazzo	Aceito
Outros	anonimi_Mirela.pdf	08/04/2022 16:41:18	Maria Luiza Bazzo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_final_Mirela.pdf	08/04/2022 16:38:52	Maria Luiza Bazzo	Aceito

**Endereço:** Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº

**Bairro:** Trindade

**CEP:** 88.040-400

**UF:** SC

**Município:**

**Telefone:** (48)3721-6094

**E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 5.402.795

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

FLORIANOPOLIS, 11 de Maio de 2022

---

**Assinado por:**

**Nelson Canzian da Silva(Coordenador(a))**

**Endereço:** Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº

**Bairro:** Trindade

**CEP:** 88.040-400

**UF:** SC

**Município:**

**Telefone:** (48)3721-6094

**E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br

A pesquisadora

Mirela De Aparecida Velho Feistauer

Prezada, vimos por meio desta apresentar nosso parecer técnico quanto ao projeto de pesquisa submetido para avaliação pelo nosso Conselho científico.

**Parecer número:** 20230001

**Título do Projeto:** Avaliação dos resultados de citologia líquida e detecção de HPV para diagnóstico precoce de câncer de colo do útero em mulheres da Grande Florianópolis/SC.

**Breve resumo:**

Trata-se de um estudo retrospectivo, para avaliar a contribuição da citologia líquida com detecção simultânea de HPV no diagnóstico precoce de câncer de colo do útero com resultados extraídos do banco de dados de um laboratório da rede privada, de mulheres com idades de 18 a 80 anos na Grande Florianópolis, no período de 2018 a 2021

**Itens solicitados ao IEPD/ Dasa:** Anuência da Dasa.

O projeto supracitado foi avaliado pelo Instituto de Ensino e Pesquisa Dasa em 11/01/2023.

Foram avaliados os seguintes quesitos:

- Potencial benefício institucional
- Viabilidade e razoabilidade da proposta e dos prazos
- Aspectos financeiros (FINANCIAMENTO) e orçamento
- Aspectos jurídicos / riscos
- Necessidade e segurança de mudanças na rotina logística e assistencial da unidade
- Objetivos e metodologia da pesquisa
- População de estudo
- Local aonde será realizado o estudo

Aspectos Jurídicos/ Riscos:

- Baixo Risco

Desta forma consideramos o projeto: **Aprovado**

Conclusão e/ou lista de inadequações e pendências:

Projeto já aprovado pelo CEP local e com anuência dos gestores locais na Dasa.

Considerações finais do colegiado do IEPD:

- Estudo interessante, de baixo custo. Diante do exposto nos colocamos à disposição para quaisquer necessidades adicionais.

São Paulo, 11 de janeiro de 2023.

Atenciosamente, Conselho Consultivo IEPD:

Alessandro Conrado de Oliveira Silveira

Ana Tarina Alvarez Lopes

Cristina Mendes de Oliveira

Cristovam Scapulatempo Neto

Darine Villela Eduardo Lima

Flávia Paiva Lopes

Felipe D'Almeida Costa

Fernanda Sousa Cardoso Lopes

Leonardo Kayat Bittencourt

Maria Helane Costa Gurgel Castelo

Marianna Andrade

Otávio Gebara Romualdo Barroso

Sergio Henrique Rodolpho Ramalho

Wolney de Andrade Martins