

**INSTITUTO NACIONAL DE ENSINO SUPERIOR E PESQUISA  
CENTRO DE CAPACITAÇÃO EDUCACIONAL  
PÓS GRADUAÇÃO EM CITOLOGIA CLÍNICA**

**CHRISTINNE CARDOSO BEZERRA LÓCIO DOS ANJOS**

**PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) E CÂNCER DE COLO DO ÚTERO:  
PREVENÇÃO E DIAGNÓSTICO**

**RECIFE - PE**

**2016**

**CHRISTINNE CARDOSO BEZERRA LÓCIO DOS ANJOS**

**PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) E CÂNCER DE COLO DO ÚTERO:  
PREVENÇÃO E DIAGNÓSTICO**

Monografia apresentada ao Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e ao Centro de Capacitação Educacional como exigência do Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Citologia Clínica.

Orientador: MSc. Bruno de Almeida Andrade

**RECIFE - PE**

**2016**

Anjos, Christinne Cardoso Bezerra Lócio dos.

Papilomavírus Humano (HPV) e câncer de colo do útero: prevenção e diagnóstico / Christinne Cardoso Bezerra Lócio dos Anjos. – Recife, PE, 2015.  
32.: il.

Orientador: Prof. Me. Bruno de Almeida Andrade.

Monografia (Especialização em Citologia Clínica) – Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa. Centro de Capacitação Educacional. Programa de Pós-graduação em Citologia Clínica.

1. Citologia Clínica – Monografia. 2. Doenças Sexualmente Transmissíveis – mulheres – Monografia. 3. Papilomavírus Humano – Monografia. 4. Câncer de Colo do Útero – Monografia. 5. Prevenção e Diagnóstico - Monografia I. Andrade, Bruno de Almeida. II. Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa. III. Título.

CDU 618.1

**CHRISTINNE CARDOSO BEZERRA LÓCIO DOS ANJOS**

**PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) E CÂNCER DE COLO DO ÚTERO:  
PREVENÇÃO E DIAGNÓSTICO**

Monografia apresentada ao Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e ao Centro de Capacitação Educacional, como exigência do Curso de Pós-graduação Lato Sensu em Citologia Clínica.

Recife-PE, 05 de Janeiro de 2016

**EXAMINADOR**

Nome: \_\_\_\_\_

Titulação: \_\_\_\_\_

**PARECER FINAL:**

---

---

---

---

## RESUMO

O câncer cervical, causado pelo papilomavírus humano (HPV), é uma das neoplasias mais comuns no mundo, é a segunda que mais acomete as mulheres, 500.000 a cada ano. Aqui no Brasil, o carcinoma uterino ocupa o terceiro lugar no ranking das neoplasias com 15.590 novos casos, segundo as estimativas do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) para 2014, sendo responsável por 4.800 mortes no nosso país, no entanto esta é uma neoplasia bastante prevenível, visto que se sabe sua causa, o papilomavírus humano (HPV), e as formas de rastreamento dessa doença em fases iniciais, as quais se forem tratadas, tem chances bastante diminuídas de evoluírem para o câncer. Este é o tipo de câncer que possui maior possibilidade de prevenção e cura quando descoberto no início. Este estudo pretende difundir e atualizar o conhecimento sobre o HPV e suas formas de diagnóstico e profilaxia para que, as mulheres possam se prevenir e os homens saibam orientá-las. Foi realizada revisão de publicações de artigos da literatura médica. O teste de Papanicolaou, também chamado de citologia oncótica, é o exame mais utilizado para a profilaxia do câncer. Há várias técnicas e hoje a identificação direta de DNA ou RNA do HPV é a técnica mais escolhida para detectar o vírus em amostras citológicas ou histológicas. Por serem bastante sensíveis, a utilização desses métodos na detecção dos vírus de alto grau pode diminuir significativamente a quantidade de pacientes com resultado falso-negativo ou indeterminado na citologia e serve também como marcador de cura pós-tratamento. Os testes moleculares para o papilomavírus humano (HPV) têm sido propostos como uma ferramenta de rastreio, com várias vantagens. A detecção da infecção em estágio inicial, principalmente das mulheres com HPV de alto risco carcinogênico, alerta para um acompanhamento mais frequente da clínica da paciente ou tratamento para lesões iniciais. Todas as técnicas citadas são adequadas ao diagnóstico do HPV em pesquisa ou clinicamente. As técnicas de PCR e SB são as mais sensíveis, DB e CH são aprovadas pela FDA.

**Palavras-chave:** Câncer cervical, Papilomavírus humano (HPV), Diagnóstico, Citologia, Teste molecular.

## ABSTRACT

The cervical cancer caused by human papillomavirus (HPV) is one of the most common malignancies in the world is the second one that affects more women, 500,000 each year. Here in Brazil, uterine carcinoma ranks third in the ranking of cancer with 15,590 new cases, according to estimates from the National Institute of José Alencar Gomes da Silva Cancer (INCA) in 2014, accounting for 4,800 deaths in our country, however this is a very preventable cancer, since it knows its cause, the human papillomavirus (HPV), and the forms of tracking the disease in early stages, which if treated, is quite diminished chances of progression to cancer. This is the type of cancer that has greater possibility of prevention and healing when discovered early. This study aims to disseminate and update knowledge about HPV and its forms of diagnosis and prevention so that women can prevent and men know target them. Medical literature articles published review was carried out. The Pap test, also called cytology, is the test most widely used for the prophylaxis of cancer. There are several techniques today and the direct identification of HPV DNA or RNA is the technique of choice to detect the virus in cytological or histological specimens. Being very sensitive, the use of these methods in the detection of high-grade virus can greatly decrease the number of patients with false negative or indeterminate result in cytology and also serves as post-cure treatment marker. Molecular tests for human papillomavirus (HPV) have been proposed as a screening tool, with several advantages. Detection of infection at an early stage, especially women with high-risk HPV carcinogenic, alert to more frequent monitoring of the patient or clinical treatment for early lesions. All the aforementioned techniques are suitable for the diagnosis of HPV in research or clinically. PCR and SB techniques are the most sensitive, DB and CH are approved by the FDA.

**Keywords:** Cervical cancer, Human papillomavirus (HPV), Diagnostic, Cytology, Molecular testing.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Representação do genoma do HPV e o arranjo das proteínas “E”, “L” e a “LCR” 15
- Figura 2** – Lesões precursoras do carcinoma epidermóide do colo do útero e suas nomenclaturas diferentes 16
- Figura 3** – Tipos de Interação do DNA do HPV com o DNA da célula 17

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Quantidade absoluta e proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014/2015 em mulheres, exceto pele não melanoma	14
Quadro 2 – Comparação entre diferentes nomenclaturas utilizadas	22



## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**CH** – Captura Híbrida

**DB** – Dot Blot

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico

**DST** – Doença Sexualmente Transmitida

**FDA** – Food and Drug Administration

**HPV** – Papilomavírus Humano

**HSIL** – Lesão de Alto Grau

**INCA** – Instituto Nacional de Câncer

**IST** – Infecção Sexualmente Transmitida

**LSIL** – Lesão de Baixo Grau

**MS** – Ministério da Saúde

**NIC** – Neoplasia Intra-Epitelial Cervical

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**PCR** – Reação em Cadeia da Polimerase

**PNI** – Programa Nacional de Imunizações

**RNA** – Ácido Ribonucleico

**SB** – Southern Blot

**SIL** – Lesão Intra-Epitelial Escamosa

**SUS** – Sistema Único de Saúde

**TBS** – Sistema Bethesda

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	11
2.1. Objetivo Geral	11
2. 2. Objetivos Específicos	11
3. METODOLOGIA	12
3.1. Tipo de Estudo	12
3. 2. Fontes de Dados	12
4. REVISÃO DE LITERATURA	13
4.1 Estatísticas do Câncer	13
4.2 Características Biológicas e Patogênese do HPV	14
4.3 Fatores de Risco	18
4.4 Transmissão do HPV	18
4.5 Prevenção da Infecção por HPV e do Câncer de Colo Uterino	19
4.6 Diagnóstico	20
4.6.1 Técnicas Morfológicas	21
4.6.1.1 Citologia ou Teste de Papanicolaou	21
4.6.2 Técnicas Moleculares	23
4.6.2.1 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	24
4.6.2.2 PCR em Tempo Real (PCR-Real Time – PCR-RT)	25
4.6.2.3 Captura Híbrida (CH)	25
4.6.2.4 Captura Híbrida II (CH-II OU CH2)	26
4.6.2.5 Southern Blot (SB)	26
4.6.2.6 Dot Blot (DB)	27
4.6.2.7 Microarranjo (Microarray) ou Hibridização em Fase Sólida	27

4.6.2.8 Hibridização IN SITU	28
5. CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

## 1. INTRODUÇÃO

O Papilomavírus humano (HPV) é um vírus transmitido por relação sexual mais comum, inclusive em países desenvolvidos como Inglaterra e País de Gales. Esses países apresentaram 97.240 pessoas com o vírus no ano de 1996 (NORONHA et al., 2005). Imagina-se que nos Estados Unidos a quantidade de pessoas com infecção por HPV de forma clínica seja de 1% entre a população sexualmente ativa e no mínimo 15% possua a infecção de forma latente, diagnosticada apenas pelos testes moleculares. A maior parte da população acometida é entre a faixa etária de 18 a 28 anos (CFM, 2002).

É muito importante perceber que a infecção por HPV é uma infecção sexualmente transmissível (IST) – antigamente chamada de Doença Sexualmente Transmitida (DST) –, bastante incidente, sendo a mais frequente, aparecendo em cerca de 10% a 20% da população sexualmente ativa (NONNENMACHER et al., 2001) e que seu agente está altamente relacionado ao câncer cervical. Além dos tumores malignos, há também outras formas de manifestações clínicas causadas pelo HPV, como os sintomas mais frequentes nos indivíduos infectados estão os tumores genitais benignos (XAVIER et al., 2007).

O HPV está intimamente ligado ao câncer cervical exercendo papel fundamental na oncogênese, aparecendo em estudos que demonstram relação de 99,7% dos casos desse câncer em todo o mundo. O fator de risco mais importante para a evolução ao câncer cervical é a alteração das células epiteliais pelo HPV transformando-as em neoplásicas (BRINGHENTI et al., 2012).

Mesmo sabendo que mulheres jovens infectadas por alguns tipos de HPV possuem risco maior de desenvolver carcinoma, uma parcela menor que 1% das infectadas por vírus do grupo de alto risco irá evoluir para tal neoplasia (CFM, 2002). A detecção da infecção em estágio inicial, principalmente das mulheres com HPV de alto risco carcinogênico, alerta para um acompanhamento mais frequente da clínica da paciente ou tratamento para lesões iniciais (BRINGHENTI et al., 2012).

No entanto, mesmo com os programas de controle desse câncer em diversos lugares, essa neoplasia ainda possui elevadas incidência, prevalência e mortalidade (DERCHAIN et al., 2005). Várias pesquisas apontam riscos elevados para o desenvolvimento do câncer cervical ao fato de não efetuar rotineiramente os exames preventivos (RIVOIRE et al., 2001).

## 2. OBJETIVOS

Este estudo descritivo apresentou os objetivos elencados abaixo.

### 2.1 Objetivo Geral

Atualizar o conhecimento da comunidade científica sobre o HPV e a epidemiologia do câncer.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Difundir na população de maneira geral informações sobre o HPV, suas formas de diagnóstico e profilaxia.
- Alertar e informar as pessoas sobre o câncer de colo do útero.
- Auxiliar na prevenção das mulheres de forma que elas saibam se prevenir, os homens saibam orientá-las e os profissionais de saúde possam instruí-las corretamente.

### 3. METODOLOGIA

A metodologia utilizada nesse estudo está descrita abaixo.

#### 3.1 Tipo de Estudo

Este trabalho é de caráter descritivo baseado em uma revisão de literatura científica.

#### 3.2 Fontes de Dados

Para desenvolver esse estudo, além da realização de busca em revistas e jornais científicos de forma impressa, a pesquisa foi feita também nas bases de dados utilizando-se sites de busca eletrônicos: Pubmed, Lilacs, Bireme, Scielo, Google Scholar (Google Acadêmico) e Google. Houve ainda a necessidade de também buscar informações em jornal não científico, mas de comprovada idoneidade (Agência Brasil, Senado), para a obtenção de informação importante publicada para a sociedade em geral.

Foram selecionadas publicações com os seguintes descritores: Papilomavírus humano, hpv, neoplasia, câncer cervical, câncer colo do útero, citologia, diagnóstico molecular, testes moleculares, PCR, hibridização, blotting. Foram utilizados mais artigos descobertos por meio das referências dos artigos lidos, bem como visitas a diversos sites oficiais (Organização Mundial de Saúde – OMS, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – INCA, Ministério da Saúde – MS) e livros da área médica.

Foram selecionados artigos que abordavam o tema proposto, eles deveriam estar em língua portuguesa ou inglesa. Foram escolhidos artigos de 2000 a 2015.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

Esta seção tem a finalidade de fundamentar o tema escolhido, por meio de literatura científica.


### 4.1 Estatísticas do Câncer

O câncer é uma doença que assusta bastante a população não só do Brasil, mas do mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer é uma das principais causas de morte no mundo e foi responsável por 8,2 milhões de óbitos (22% do total) em 2012 (WHO, 2012a). Ainda segundo a OMS, 30% desses óbitos poderiam ser evitados (WHO, 2012b).

O câncer de colo uterino, também chamado de cervical, é uma das neoplasias mais comuns em todo o mundo, é a segunda que mais acomete as mulheres, 500.000 a cada ano apresentam essa neoplasia e aproximadamente 50% morre em decorrência dela (BRINGHENTI et al., 2012). Observando a América Latina, percebe-se que essa neoplasia é a segunda mais comum e possui a segunda maior taxa de mortalidade de câncer na população feminina (DERCHAIN et al., 2005). Aqui no Brasil, o carcinoma uterino ocupa o terceiro lugar no ranking das neoplasias com 15.590 novos casos, segundo as estimativas do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) para 2014, tendo sido responsável por 5.430 mortes de mulheres por neoplasias em 2013 (INCA, 2015).

No nosso país, de acordo com o INCA, as estimativas para o ano de 2014 são válidas também para o ano de 2015 e apontam a ocorrência de aproximadamente 576.580 casos novos de câncer. Sem os casos de câncer da pele não melanoma (182.130 novos casos), estima-se um total de 394 mil casos novos (INCA, 2014a), sendo 190.520 casos novos para o sexo feminino. Os tipos mais incidentes nas mulheres serão os cânceres de pele não melanoma (83 mil casos novos), mama (57 mil), cólon e reto (17 mil), colo do útero (15 mil) e pulmão (11 mil) (INCA, 2014b).

**Quadro 1** – Quantidade absoluta e proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014/2015 em mulheres, exceto pele não melanoma.

	Localização primária	casos novos	%
<b>Mulheres</b> 	Mama Feminina	57.120	20,8%
	Cólon e Reto	17.530	6,4%
	Colo do Útero	15.590	5,7%
	Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.930	4,0%
	Glândula Tíreoide	8.050	2,9%
	Estômago	7.520	2,7%
	Corpo do Útero	5.900	2,2%
	Ovário	5.680	2,1%
	Linfoma não Hodgkin	4.850	1,8%
	Leucemias	4.320	1,6%

Fonte: modificado de Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2014b)

Em contrapartida a esses números tão altos, o câncer cervical faz parte das neoplasias que podem ser bastante evitáveis (BRINGHENTI et al., 2012), visto que se sabe sua causa, o papilomavírus humano (HPV), e as formas de rastreamento dessa doença em fases iniciais, as quais se forem tratadas, tem chances bastante diminuídas de evoluírem para o câncer. Este é o tipo de câncer que possui maior possibilidade de prevenção e cura quando descoberto no início.

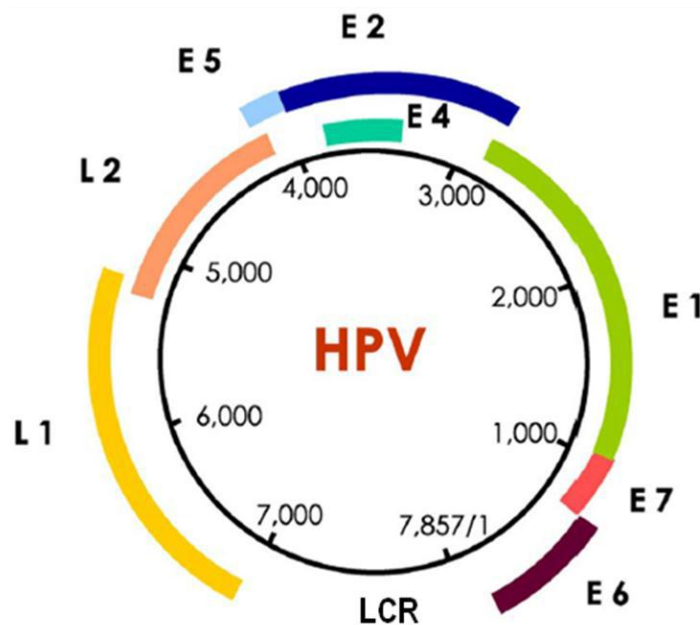
#### 4.2 Características Biológicas e Patogênese do HPV

O papilomavírus humano (HPV) pertence à família *Papillomaviridae*, são pequenos (com diâmetro do capsídeo de 55 nm), icosaédricos, não envelopados, com ácido nucléico do tipo DNA (Ácido Desoxirribonucleico), sendo circular, formado por dupla fita (RUBIN, Emanuel et al., 2006), constituída por cerca de 7.200 a 8.000 pares de bases e peso molecular de  $5,2 \times 10^6$  daltons. Os vírus de HPV recebem a classificação com base no seu DNA, cada tipo tem o seu genótipo característico (XAVIER et al., 2007). Os vírus são divididos em grupos conforme sua oncogenicidade e seu genótipo (LINDEMBERGER et al., 2012).



O genoma do HPV pode ser separado em três partes, sendo duas codificantes intercaladas por uma regulatória não codificante, são elas: região precoce (DERCHAIN et al., 2005) (do inglês “Early” – E1 a E8), região tardia (L) (“Late” – L1 e L2) e região reguladora URR ou LCR (“longcontrolregion”). Os genes L (L1 e L2) codificam as proteínas estruturais do capsídeo e os genes E codificam as proteínas com funções reguladoras da atividade celular. Os genes E1 e E2 estão relacionados à replicação do vírus. Os genes E5, E6 e E7 codificam proteínas causadoras da transformação da célula, ou seja, carcinogênese (LINDEMBERGER et al, 2012).

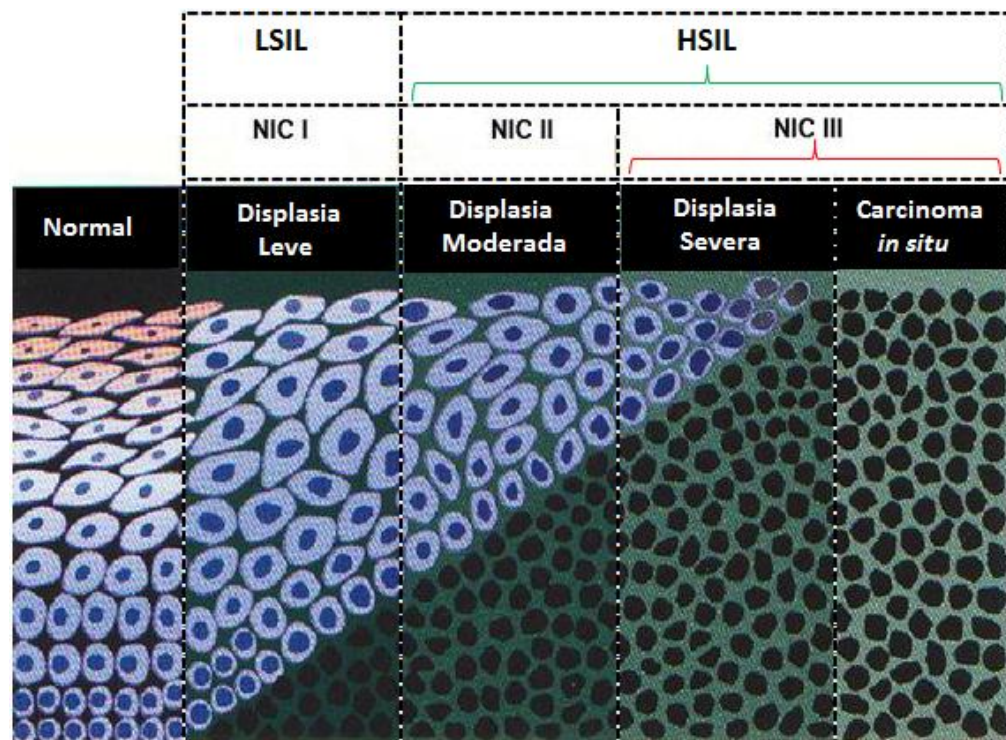
**Figura 1** – Representação do genoma do HPV e o arranjo das proteínas “E”, “L” e a “LCR”.



Fonte: modificado de MUÑOZ et al., 2006

Há uma enorme quantidade de tipos de HPV. Até agora são mais de 200 já identificados através de análises das sequências de DNA. Essa diversidade está relacionada ao seu crescimento diferenciado de acordo com os tecidos, às associações com os diferentes tipos de lesões e ao seu potencial carcinogênico. Sabe-se que não são todos os tipos de HPV que promovem lesões celulares, aqueles tipos que as provocam estão alocados no grupo chamado de alto risco oncogênico. Também não significa dizer que todas as lesões são cancerosas, as lesões iniciais, se não tratadas, é que podem evoluir para o tumor (CFM, 2002).

**Figura 2** – Lesões precursoras do carcinoma epidermóide do colo do útero e suas nomenclaturas diferentes.



Fonte: modificado de DEMAY, 2010

Dos 200 tipos de HPV, aproximadamente 40 estão associados ao trato anogenital e 20 estão relacionados com o câncer de colo do útero (LINDEMBERGER et al, 2012).Dentre esses 40, é comum dividi-los em grupos de acordo com o seu potencial oncogênico. Há algumas divergências em relação a alguns tipos, mas em geral é dividido da seguinte forma: Baixo risco – 6, 11, 42, 44, 43, 54, 26, 70, 73, 13, 32, 34, 40, 53, 55 e 63, sendo os tipos 6 e 11 os principais, encontrados em lesões benignas, na maior parte dos condilomas genitais e em papilomas laríngeos; Alto risco – 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 66, 68, 52, 70 e 55, sendo os tipos 16 e 18 os principais, encontrados na maioria dos tumores malignos (CFM, 2002; NORONHA et al., 2005; XAVIER et al., 2007; BRINGHENTI et al., 2012).

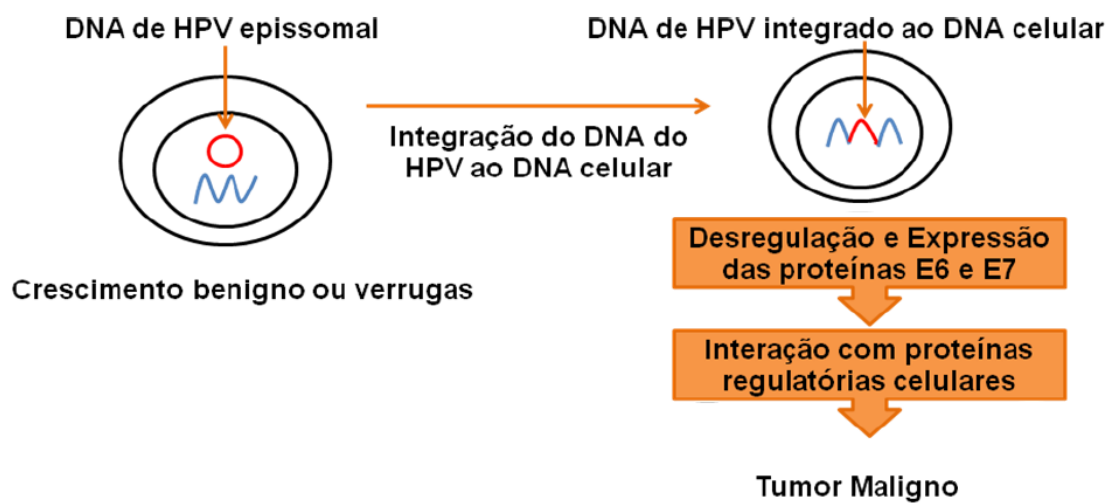
Os vírus penetram nas células epiteliais e podem provocar manifestações clínicas como lesões em peles e mucosas, entretanto essas infecções não necessariamente causam os carcinomas e as verrugas, também denominadas condilomas acuminados ou popularmente conhecidas como crista de galo. O indivíduo infectado pode não apresentar manifestações clínicas, sendo isento de lesões macroscópicas, a esse tipo de infecção chamamos de

assintomática, latente, ou subclínica. A infecção pode ser classificada em três estágios: latente – quando a infecção só pode ser detectada por testes moleculares, logo há o vírus mas não há lesão; subclínica – quando a pessoa não apresenta sintomas clínicos porém pode-se verificar alterações leves através de coloscopia; clínica – quando há lesões facilmente identificáveis com o exame clínico (XAVIER et al., 2007).

A maioria das mulheres infectadas pelo HPV não possui manifestações clínicas. Essa infecção comumente cresce de forma limitada, evolui lentamente, é autorresolutiva, transiente, geralmente involui naturalmente (NORONHA et al., 2005) sem nenhum método terapêutico em até 80% dos casos, sendo bastante baixa a quantidade de infecções com lesões aparentes – 1 a 2% (XAVIER et al., 2007).

Por enquanto não se sabe como os vírus de HPV causam o tumor, mas pesquisas apontam que a alteração neoplásica esteja relacionada às proteínas produzidas pelos genes E6 e E7 modificando a regulação do crescimento celular. Foi observado que o gene E6 e E7 se ligam às proteínas p53 e Rb, respectivamente, interferindo na divisão celular. Nas lesões benignas, o genoma do HPV é separado do DNA da célula e fica como um plasmídeo extracromossomal. De forma diferente, nas lesões malignas relacionadas aos tipos 16 e 18, o DNA do vírus fica unido ao da célula (RIVOIRE et al., 2001).

**Figura 3** – Tipos de Interação do DNA do HPV com o DNA da célula.



Fonte: modificado de ALBERTS et al., 1994

Após a entrada do vírus na célula pode: o DNA do vírus permanecer episossomal; a infecção latente se transformar em infecção produtiva; o DNA do vírus se incorporar ao da célula. Reconhece-se que a incorporação do genoma viral ao da célula hospedeira e posteriormente a expressão das proteínas E6 e E7 sejam duas formas de ativação para o desenvolvimento do câncer. O período de incubação da infecção é bastante incerto e ainda não se sabe exatamente o que faz uma infecção por HPV continuar latente e outra causar lesões. A presença do HPV não determina que haverá lesão maligna. O desenvolvimento do câncer acontece em um percentual muito pequeno de pessoas infectadas e depende de alguns fatores mutagênicos (WOLSCHICK et al., 2007).

#### 4.3 Fatores de Risco

Os fatores de risco para infecção pelo HPV e tumor são praticamente iguais: coitarca precoce, números de parceiros sexuais na vida, alta paridade, tabagismo, estado imunológico, baixos níveis de escolaridade e socioeconômico, mas ainda não se sabe como esses cofatores influenciam no avanço das lesões (DERCHAIN et al., 2005; NONNENMACHER et al., 2001; RIVOIRE et al., 2001). O uso de anticoncepcionais diverge na opinião de alguns autores: segundo Derchain et al. (2005) e Nonnenmacher et al. (2001), há influência, já CFM (2002) acredita que o uso até 5 anos não interfere mas o uso prolongado (dez anos ou mais) colabora com o aparecimento do tumor em até 4 vezes mais. A existência de HPV de alto risco é um dos cofatores para o desenvolvimento do tumor maligno (NONNENMACHER et al., 2001). Pesquisas mostraram que para mulheres com HPV desenvolverem o câncer cervical é 19 vezes mais provável que aquelas que não possuam o vírus. Caso elas possuam os tipos 18, 31 ou 33 (alto grau oncogênico), essa possibilidade aumenta para 50 vezes quando comparadas ao daquelas não-infectadas e quando analisado o tipo 16 (também de alto grau), essa probabilidade subiu mais de 100 vezes (CFM, 2002).

#### 4.4 Transmissão do HPV

Sabe-se que a infecção por HPV é transmitida via sexual e esta é a principal e mais conhecida via, entretanto não é a única. O contágio pode acontecer através de autoinoculação,

contato orogenital e via materno-fetal durante período gestacional ou parto (BRASIL, 2007; LINDEMBERGER et al, 2012). Analisando pelos extraídos de região anogenital de indivíduos infectados por HPV, verificou-se DNA de HPV 6 e 11 em 36% referentes à região pubiana e 50% à perianal. Na pesquisa de HPV em pelos da região pubiana, dois casos tratados com sucesso e sem manifestação clínica da doença apresentaram resultado positivo para o DNA do HPV correspondente, propondo que o vírus continua no local mesmo depois do tratamento (CFM, 2002).

#### 4.5 Prevenção da Infecção por HPV e do Câncer de Colo Uterino

Sabe-se que a maioria das infecções por HPV são transiente e a grande maioria delas regride, mas a consequência extrema da infecção pelo HPV é o câncer cervical e, por conta disso, as mulheres devem se prevenir das diversas formas. Por ser uma IST, a infecção pode ser evitada com a utilização do preservativo, sendo a principal forma de prevenção (CFM, 2002).

Outra maneira de se prevenir é fazendo uso da vacina profilática (preventiva) que evita a infecção pelo HPV. Embora essa afirmação pareça redundante, há as vacinas terapêuticas (curativas) utilizadas para o tratamento de pacientes promovendo a regressão de lesões pré-malignas ou câncer cervical (LINDEMBERGER et al, 2012). O Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza essas vacinas profiláticas e elas também são encontradas em clínicas particulares.

O Ministério da Saúde analisava, desde 2006, a inserção da vacina contra o HPV pela rede pública. Após três pareceres contra, decidiu-se esperar o resultado do estudo sobre custo-efetividade da vacinação no Brasil, a avaliação do impacto na sustentabilidade do Programa Nacional de Imunizações (PNI) e as negociações para transferência de tecnologia para produção da vacina no Brasil. Em dezembro de 2011, foi apresentado o resultado do estudo de custo-efetividade. A utilização dessa vacina como política de saúde para prevenção do câncer de colo de útero foi considerada custo-efetiva no país. Em julho de 2012 aconteceu a primeira reunião técnica do grupo para elaborar as diretrizes para introduzir a vacina contra o HPV no calendário nacional (INCA, 2015b).

De acordo com a Agência Brasil (2012), meninas de 9 a 13 anos podem agora receber a vacina contra o HPV gratuitamente pelo SUS. O projeto de lei foi aprovado no dia

12/09/2012 no Senado. O projeto de lei do Senado (PLS 238/2011) inicialmente previa imunização para as mulheres de 9 a 40 anos, entretanto foi decidido priorizar a faixa etária de 9 a 13 anos, pois a vacinação entre elas é mais eficaz e representa maior economia para a saúde pública. A vacina contra o HPV tem alto custo. No primeiro ano, o governo previa gastar por volta de R\$ 600 milhões. Nos anos seguintes, o custo cairia para R\$ 150 milhões, já que apenas as meninas que entrarem na faixa de idade deverão receber as doses (SENADO, 2012).

O Ministério da Saúde iniciou dia 10/03/2014 a vacinação contra o HPV em meninas de 11 anos a 13 anos sendo em três momentos distintos: a primeira dose, a segunda dose depois de seis meses, e terceira cinco anos após a primeira. Neste ano de 2015, a vacina é direcionada para meninas de 9 a 11 anos. A primeira dose foi aplicada nas escolas e a segunda dose num posto de saúde. Essa vacina protege dos subtipos 16 e 18 do HPV, mas não de todos os subtipos do vírus nem das demais infecções sexualmente transmissíveis (IST). Por isso, a recomendação é usar preservativo nas relações (BRASIL, 2014).

A diminuição da procura pela imunização é consequência de fatores diversos como: a interpretação errônea das reações adversas que 11 adolescentes tiveram em São Paulo, em 2014; mudança do local de aplicação das vacinas, a primeira etapa foi uma “captura” das meninas nas escolas, já a segunda dose e as administrações de 2015 foram feitas nas unidades de saúde, deixando a imunização sob responsabilidade das meninas e seu responsáveis. A adesão deste ano foi considerada baixa, menos de 50% (na primeira dose) das meninas que o governo pretendia vacinar (BRASIL, 2015).

#### 4.6 Diagnóstico

Para o câncer cervical as principais ações preventivas são o diagnóstico da infecção e o tratamento das lesões precocemente, por isso é de extrema importância consultar regularmente o ginecologista e realizar os exames de prevenção (CFM, 2002).

Programas voltados ao diagnóstico precoce do câncer de colo uterino são vistos como medidas de saúde pública já que essa doença aparece após lesões que podem ser detectadas e tratadas, diminuindo a quantidade de casos desse tipo de câncer (BRINGHENTI et al., 2012).

Há diversas formas de se confirmar a infecção por HPV e cada exame pode colaborar com o diagnóstico da doença, evitando o câncer cervical. Os testes podem ser pesquisas

diretas ou indiretas, buscando respectivamente o vírus ou alterações provocadas por ele. O teste morfológico analisa a existência de células atípicas, inferindo lesões anteriores ao câncer (SYRJANEN et al., 2005). Esse tipo de teste não pesquisa o HPV, mas as alterações celulares causadas pelo mesmo. (DERCHAIN et al., 2005). Enquanto as técnicas morfológicas sugerem, as moleculares afirmam. Apenas os métodos moleculares detectam o DNA do vírus, confirmando a infecção pelo HPV, mesmo quando ainda não há alteração celular. (WOLSCHICK et al., 2007).

#### 4.6.1 Técnicas Morfológicas

Dentre os métodos morfológicos, a citologia (CARNEIRO et al., 2006) é o utilizado no cotidiano para o diagnóstico do HPV através da observação microscópica das lesões provocadas pelo vírus (SYRJANEN et al., 2005).

##### 4.6.1.1 Citologia ou Teste de Papanicolaou

O teste de Papanicolaou, popularmente conhecido como exame de prevenção, também é chamado de citologia oncológica, exame citopatológico. É o exame mais utilizado para a profilaxia do câncer (DERCHAIN et al., 2005). Ele foi desenvolvido por George N. Papanicolaou em 1939 e é realizado rotineiramente. Para a realização do exame, é feita coleta de material do colo do útero, coloração (cujo nome é epônimo) e análise microscópica com a finalidade de verificar a existência de células anormais, sugerindo lesões antecessoras ao câncer (SYRJANEN et al., 2005).

Estas alterações das células são descobertas facilmente nesse exame preventivo, e são curáveis na quase totalidade dos casos. Por isso é importante a realização periódica deste exame (INCA, 2015).

A terminologia utilizada é bastante variável com o passar do tempo. Desde a classificação de Papanicolaou (1943), a nomenclatura foi modificada diversas vezes. Hodiernamente, por convenção, ficou acordado que ao Sistema Bethesda seja incorporado aos laudos (SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE CITOPATOLOGÍA, 2013).

**Quadro 2** – Comparação entre diferentes nomenclaturas utilizadas.

<b>Classes Papanicolaou</b>	<b>Descrição</b>	<b>Gradação NIC</b>	<b>Sistema Bethesda</b>
<b>I</b>	Normal	Normal	Normal
<b>II</b>	Atipia Reativa Inflamatória	Atipia	Normal
<b>II / III</b>	Atipia Suspeita	Atipia	ASCUS
<b>II / III</b>	Atipia com HPV	Atp. Condiloma	SIL de baixo grau (LSIL)
<b>III</b>	<b>Displasia Leve</b>	<b>NIC – I</b>	<b>SIL de baixo grau (LSIL)</b>
<b>III</b>	<b>Displasia Moderada</b>	<b>NIC – II</b>	<b>SIL de alto grau (HSIL)</b>
<b>III</b>	<b>Displasia Acentuada</b>	<b>NIC – III</b>	<b>SIL de alto grau (HSIL)</b>
<b>IV</b>	Carcinoma <i>in situ</i>	NIC – III	SIL de alto grau (HSIL)
<b>V</b>	Carcinoma Invasivo	Câncer Invasivo	Câncer Invasivo

Fonte: MIRANDA, 2011

A lesão intra-epitelial escamosa (SIL) abrange o espectro de anormalidades não invasivas, cervicais, escamosas, epiteliais associadas ao papilomavírus humano (HPV), que varia desde alterações celulares associadas a uma infecção transitória do HPV até alterações celulares anormais que representam precursores de alto grau para um câncer escamoso invasivo. No Sistema Bethesda (TBS), esse espectro se divide nas categorias de baixo grau (LSIL) e de alto grau (HSIL). As lesões de baixo grau (LSIL) abrangem as alterações celulares chamadas de diversas maneiras de “efeito citopático do HPV” (coilocitose) e uma displasia leve ou neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) 1. As lesões de alto grau (HSIL) abrangem displasia moderada, grave e carcinoma *in situ* ou NIC 2, 3 (SOLOMON; NAYAR, 2005).

O exame citológico possui alta especificidade, mas sensibilidade limitada, já que os resultados podem sofrer variação quanto à interpretação dos leitores das lâminas. Esse teste não pesquisa o vírus HPV, mas as alterações celulares causadas por ele. Esse método pode ser realizado em lâmina ou em meio líquido fixador. O custo da citologia do segundo tipo é consideravelmente mais elevado mas possui a vantagem de ter maior representatividade de células coletadas transferidas para a lâmina, diminuição dos resultados insatisfatórios,



sensibilidade maior para detecção de lesões de alto grau e possibilidade de utilizar o material restante para fazer testes moleculares (DERCHAIN et al., 2005).

A citologia, mesmo sendo tão importante como exame preventivo para o diagnóstico precoce do câncer cervical, não consegue diferenciar qual lesão irá regredir ou progredir. Daí a importância dos exames complementares a exemplo dos testes moleculares (BRINGHENTI et al., 2012).

#### 4.6.2 Técnicas Moleculares

Há várias técnicas e hoje a identificação direta de DNA ou RNA do HPV é a técnica mais escolhida para detectar o vírus em amostras citológicas ou histológicas. Por serem bastante sensíveis, a utilização desses métodos na detecção dos vírus de alto grau pode diminuir significativamente a quantidade de pacientes com resultado falso-negativo ou indeterminado na citologia e serve também como marcador de cura pós-tratamento (WOLSCHICK et al., 2007).

O teste para o papilomavírus humano (HPV), por diferentes testes moleculares, tem sido proposto como uma ferramenta de rastreio auxiliar ou independente (SYRJANEN et al., 2005). A utilização da citologia e da biologia molecular associadas pode melhorar o acompanhamento dessas neoplasias (RIVOIRE et al., 2001) e aumentar a sensibilidade e o valor preditivo negativo para quase 100%, sinalizando para que mulheres com os dois testes negativos possam ter o próximo teste postergado, no entanto o custo dos testes moleculares ainda são um impedimento para a sua utilização em programas de prevenção. A OMS confirmou a necessidade da identificação do HPV de alto risco (DERCHAIN et al., 2005).

Enquanto a citologia insinua, os métodos moleculares asseguram. Somente os métodos moleculares determinam a existência realmente do vírus, através da pesquisa do DNA, ratificando a infecção pelo HPV, mesmo antes do surgimento de alterações celulares. Os diversos testes desse tipo são propostos para o rastreamento e genotipagem do HPV em mulheres para identificar quais têm um risco maior de desenvolver o câncer cervical. As técnicas de hibridização se baseiam no fato de que duas fitas de ácidos nucleicos (DNA ou RNA) com sequências complementares tendem a se unir e formar uma dupla fita. Vários testes de hibridização estão disponíveis comercialmente e possuem diferenças com relação a: sensibilidade, especificidade, utilização e custo (WOLSCHICK et al., 2007).

Resultados positivos para o vírus HPV através das técnicas moleculares em mulheres com o resultado citológico normal é visto como caso de latência clínica. Pesquisas apontam que os vírus podem ser achados em quantidade considerável de mulheres sexualmente ativas neste estado de latência. Há divergência de dados de autores quanto ao número de mulheres infectadas na fase de latência variando de 10% a 80% (NORONHA et al., 2005).

#### 4.6.2.1 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é um teste de alta sensibilidade (a mais sensível disponível atualmente) utilizado especialmente em pesquisas como padrão ouro para verificar se há DNA do vírus. Essa técnica se baseia na amplificação de quantidades muito pequenas de seqüências específicas do DNA viral em milhões de vezes (BIGIO et al., 2002).

Sua alta sensibilidade é também uma desvantagem já que, por conta disso, há uma grande quantidade de resultados falso-positivos oriundos de reação cruzada. Atualmente, a PCR ainda não foi aprovada como método de diagnóstico clínico para HPV pelo Food and Drug Administration (FDA) embora seja bastante utilizada em pesquisa (BIGIO et al., 2002). Esse teste torna possível a genotipagem do HPV através da amplificação de regiões específicas para cada um dos vírus de alto ou baixo grau (normalmente seqüências dos genes E6 e E7 dos subtipos de HPV) (BRINGHENTI et al., 2012). Ademais, a utilização de primers universais possibilita, em tese, a detecção de todos os tipos de HPV.

Analisando material de citologias falso-negativas, colhidas até seis anos antes do aparecimento da neoplasia, verificou-se a existência de DNA viral em grande parte dos esfregaços, especialmente dos tipos 16 e 18. Em grande parte das mulheres foi observado que o DNA viral achado foi igual ao da lâmina de citologia e das biópsias. Percebe-se assim que houve uma boa correlação quando comparados os resultados das técnicas. Pôde-se inferir então que os resultados falso-negativos da citologia podem ser minimizados caso essa técnica seja utilizada juntamente com a PCR (CFM, 2002).

Estudos verificaram que o DNA do vírus de alto risco pode ser achado no sangue de mulheres com câncer de colo uterino através do método de PCR. Em razão do ciclo de vida do vírus acontecer unicamente dentro dos tecidos epiteliais, o vírus do HPV não é encontrado com frequência no sangue. Mas algumas conjeturas sugerem o rompimento das células neoplásicas devido a necroses ou apoptoses, ou ainda à existência de micrometástases. Dessa

forma, o achado de DNA viral encontrado na corrente sanguínea poderia se tornar resultado como método diagnóstico não-invasivo prognóstico de seguimento (WOLSCHICK et al., 2007).

#### 4.6.2.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em Tempo Real (PCR-Real Time – PCR-RT)

A técnica de PCR em tempo real (PCR-TR) é uma variação do método convencional que possibilita diferenciar as sequências de bases amplificadas de DNA. As reações acontecem em capilares fechados que realizam de maneira eficiente a transferência de calor, elevando a eficácia da amplificação e minimizando as contaminações (RODRIGUES et al., 2009).

Com o surgimento da PCR em tempo real, foi possível “observar” a reação ocorrendo dentro do tubo e acompanhar o resultado à medida que as reações são realizadas. Essa técnica é chamada de homogênea pelo fato de juntar as fases de amplificação e análise em uma etapa única, dessa forma, contribuiu para reduzir o tempo para obtenção do resultado. A PCR em tempo real capta sinais fluorescentes resultantes das reações de PCR. As análises podem ser qualitativas ou quantitativas já que os sinais fluorescentes são convertidos em números (BARRA et al., 2011).

#### 4.6.2.3 Captura Híbrida (CH)

Essa técnica é a principal para detecção do HPV no Brasil, é a única para detecção clínica do vírus em material cervical aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). É uma reação rápida de amplificação de sinal não-radioativo que usa sondas de RNA específicas marcadas para hibridização ao DNA-alvo do vírus em solução (A) Essa técnica associa métodos de hibridização molecular e antígenos monoclonais. Este é o exame mais moderno, ele possui altas sensibilidade (comparada à da PCR) e especificidade para detecção do DNA do vírus, tanto do grupo (baixo ou alto risco) quanto da carga viral (CFM, 2002).

A princípio acontece a desnaturação do DNA da amostra que se vai pesquisar o HPV, o DNA viral é hibridizado com múltiplas sondas de RNA, em um tubo contendo solução

tampão. As sondas mistas de RNA que detectam os tipos de HPV de baixo risco são chamadas de sonda A e a que reconhece os tipos de HPV de alto risco são denominadas sonda B. Podem-se utilizar as duas sondas concomitante ou separadamente. Essa técnica distingue o grupo mas não diferencia o tipo (dentro do grupo) (WOLSCHICK et al., 2007). Os híbridos de RNA-DNA ficam fixos sobre uma superfície sólida de poços de uma microplaca e cobertos com anticorpos específicos para híbridos de RNA-DNA. Os híbridos capturados são expostos a um anticorpo conjugado à fosfatase alcalina, e detectados por um sensível sistema de amplificação de sinal quimioluminescente. O uso de microplacas possibilita a automatização do teste (BARRA et al., 2011). Este teste é qualitativo e quantitativo, ou seja, informa a qual grupo pertence e a sua carga viral (NONNENMACHER et al., 2001).

A CH não é utilizada no screening da infecção, seu uso é para: ajudar no diagnóstico do HPV diferenciando as infecções de baixo e alto risco, rastreamento de pessoas com citologia indeterminada e avaliação dos casos de mulheres com lesões de baixo grau mas com HPV de alto risco oncogênico, prevenindo a evolução para o câncer (WOLSCHICK et al., 2007). Essa técnica vem sendo substituída por métodos que incluem a genotipagem do HPV e pelo PCR tempo real (BARRA et al., 2011).

#### 4.6.2.4 Captura Híbrida II (CH-II OU CH2)

A segunda geração da técnica de captura híbrida, a versão captura híbrida II (CH2) é a técnica mais utilizada clinicamente na busca pelo HPV, em complemento à citologia. Esta técnica se baseia na hibridização do DNA viral, utilizando-se sondas específicas contra os tipos de HPV de alto risco exclusivamente, mas não diferencia o tipo específico do vírus nem consegue detectar todos os tipos de HPV de alto risco. A sensibilidade do ensaio pode não ser suficiente para perceber a existência do vírus no começo da infecção (RODRIGUES et al., 2009).

#### 4.6.2.5 Southern Blot (SB)

Para pesquisa de DNA do HPV para diagnóstico clínico este é o melhor método (padrão ouro). Os resultados desse ensaio são qualitativos. Essa técnica é constituída pelas

seguintes etapas: extração do DNA, digestão DNA, preparo da sonda, transferência, hibridização e detecção. O DNA extraído é digerido por enzimas de restrição, ficando dividido em pedaços de tamanhos diversos e estes são separados por eletroforese. Cada tipo de HPV tem um padrão de fragmentação específico (WOLSCHICK et al., 2007).

A transferência dos produtos da PCR é feita após a eletroforese. Os géis da PCR são submetidos à desnaturação alcalina. Logo após, faz-se a neutralização (com tampão fosfato), e posteriormente os ácidos nucleicos são transferidos para uma membrana de nitrocelulose (ou, alternativamente, nylon) carregada positivamente através de sucção ou com o auxílio de uma pilha de toalhas de papel. Contendo os produtos transferidos do gel, as membranas são hibridizadas com as sondas específicas. A membrana então é incubada com anticorpos quimioluminescentes e revelada por meio de autorradiografia ou com uso de contracorantes (BARRA et al., 2011). Esse teste tem alta sensibilidade podendo detectar uma cópia do vírus por célula, diferencia os tipos de HPV. Contudo, é um método complexo, demorado e precisa de amostra fresca, o que impossibilita o seu uso na prática clínica (BIGIO et al., 2002).

#### 4.6.2.6 Dot Blot (DB)

Esse teste é a simplificação do SB, é rápido, fácil, de baixo custo e tem sensibilidade semelhante à do SB. O FDA aprovou o uso desse teste para diagnóstico clínico. Ele pode detectar DNA ou RNA do vírus. O material genético do HPV é extraído e aplicado em gotas diretamente sobre o filtro de nitrocelulose. Da mesma maneira que o SB, a revelação é feita por autorradiografia ou uso de contracorantes. Outra vantagem dessa técnica é que é possível realizar grande quantidade de amostras em um único experimento (BIGIO et al., 2002).

#### 4.6.2.7 Microarranjo (Microarray) ou Hibridização em Fase Sólida

Para elevar a utilidade diagnóstica de um teste molecular, há atualmente um grande interesse nas reações "multiplex", assim, houve a possibilidade de realizar por essa técnica a genotipagem do HPV. A definição dessa técnica é bastante semelhante às de blot. Realizam-se várias análises de hibridização de DNA/RNA paralelamente e em um formato diminuto. A análise dessas reações de hibridização normalmente está envolvida com a captação do sinal

luminoso gerado pela ligação da sequência de DNA/RNA alvo marcado fluorescentemente com as sondas no microarranjo. Um scanner de fluorescência é utilizado para analisar o resultado (BARRA et al., 2011).

Hodiernamente, no nosso país, essa é uma técnica utilizada principalmente para a genotipagem do HPV. A hibridização contra um sítio específico do microarranjo permite a identificação do genótipo do vírus que aparece na amostra. Uma das principais vantagens da genotipagem de HPV por esse método é a possibilidade de detectar infecções múltiplas, que geralmente está associada a risco mais elevado de evolução para o câncer de colo uterino (BARRA et al., 2011)

#### 4.6.2.8 Hibridização IN SITU

Esse método mostra o DNA/RNA do vírus na célula, pode ser realizado com amostras de exames citológicos ou histológicos, além de possibilitar a análise concomitante das alterações celulares e da existência do vírus através da hibridização com sondas marcadas. Sua revelação é feita por autorradiografia, fluorescência ou detecção de um produto colorido. Para a detecção do HPV, os métodos enzimáticos são considerados melhores devido à facilidade de interpretação. As características do sinal (difuso ou pontual) podem revelar o estado físico do DNA do HPV. Adicionalmente, a intensidade desse sinal pode ser convertida em valores numéricos, relacionados à quantidade de cópias virais. Essa técnica é menos sensível que a PCR e a CH. Não se sabe a tipagem do HPV, havendo necessidade de realização de outro método (WOLSCHICK et al., 2007).

## 5. CONCLUSÃO

A citologia é um exame muito importante, sendo o mais utilizado na rotina clínica, mas a associação deste com os testes moleculares é ainda melhor para diagnóstico precoce. Com o avanço da tecnologia, novas técnicas são criadas ou melhoradas a fim de nos fornecer dados mais precisos.

Todas as técnicas citadas são adequadas ao diagnóstico do HPV. As técnicas de PCR e SB são as mais sensíveis, sendo considerada como padrão ouro, no entanto ela é usada prioritariamente em pesquisas devido à sensibilidade e à complexidade, respectivamente. A Hibridização *in situ* tem a vantagem de poder ser realizado com amostras citológicas/histológicas e permitir a detecção do vírus juntamente com as alterações celulares.

É preciso muito trabalho, tempo e persistência para conscientizar ainda mais mulheres da prevenção, fazê-las entender a importância das consultas, mais ainda dos exames preventivos e principalmente do correto tratamento.

É preciso realizar mais estudos sobre os custos de cada método na prática clínica. É necessário também mais pesquisas sobre o HPV nos homens, bem como a busca de HPV em outras mucosas além da anogenital. Com a inclusão das vacinas contra HPV pelo SUS, será importante ainda analisar as mudanças (epidemiológicas, sociais, financeiras, individuais e coletivas) decorrentes da utilização das vacinas.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA BRASIL. **Vírus causador de câncer no útero também pode afetar homens e bebês.** Brasília. 2007 Disponível em <<http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2007-02-03/virus-causador-de-cancer-no-utero-tambem-pode-afetar-homens-e-bebes>>. Acesso em: 20 jul 2015.

AGÊNCIA BRASIL. **Senado: Meninas poderão receber na rede pública vacina contra HPV.** Agência Brasil. Brasília. 2012. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/noticia/2012-09-12/senado-meninas-poderao-receber-na-rede-publica-vacina-contrahpv>>. Acesso em: 20 jul. 2015.

AGÊNCIA BRASIL. **Vacinação contra o HPV começa na próxima semana.** Brasília. 2014. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2014-03/vacinacao-contrao-hpv-comeca-na-proxima-semana>>. Acesso em: 20 jul. 2015.

AGÊNCIA BRASIL. **Campanha de vacinação contra HPV tem baixa procura este ano.** Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2015-06/especialistas-destacam-baixa-procura-por-vacina-contrahpv-em-dia-del>>. Acesso em: 20 jul. 2015.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. **Molecular biology of the cell.** 3 ed. New York: Garland, 1994.

BARRA, G. B.; CAIXETA, M. C. S. A. S. B.; COSTA, P. G. G.; SOUSA, C. F.; VELASCO, L. F. R.. Diagnóstico molecular – passado, presente e futuro. **Revista Brasileira de Análises Clínicas.** v 43, n. 3, p. 254-260, 2011.

BIGIO, C. T.; BARBOZA, F. A.; CAVALCANTI, S. M. B.. Detecção e Tipagem viral para papilomavírus humano: progressos recentes e perspectivas clínicas. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis.** v. 04, n. 14, p.32-35, 2002.

BRINGHENTI, M. E. Z.; DOZZA, T. G.; DOZZA, T. G.; MARTINS, T. R.; BAZZO, M. L. Prevenção do Câncer Cervical: Associação da citologia oncótica a novas técnicas de biologia molecular na detecção do papilomavírus humano (HPV). **Jornal de Doenças Sexualmente Transmissíveis.** v. 3, n. 22, p.135-140. 2012.

CARNEIRO, S. S.; PERALTA, R. M.; SVIDZINSKI, T. I.; CONSOLARO, M. E. Contribuição da citologia de Papanicolaou para o diagnóstico de leveduras em secreção vaginal. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis,** v. 18, n. 1, p. 36-40, 2006.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA (CFM). **Projeto diretrizes, Papilomavírus humano (HPV): diagnóstico e tratamento.** p 1-19, 2002.

DEMAY, R. M. **Practical Principles of Cytopathology Revised Edition.** American Society for Clinical Pathology, 2 ed. 2010.



Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Estimativa 2014**. Rio de Janeiro. 2014. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/tbregioes\\_consolidado.asp](http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/tbregioes_consolidado.asp)>. Acesso em: 15 ago 2015.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Estimativa 2014**. Rio de Janeiro. 2014. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/tabelaestados.asp?UF=BR>>. Acesso em: 15 ago 2015.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Câncer: Tipos de Câncer – Colo do útero**. Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home+/colo\\_uterio/definicao](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home+/colo_uterio/definicao)>. Acesso em: 15 ago 2015.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **HPV e Câncer – Perguntas Mais Frequentes**. 2015. Disponível em: <[http://www1.inca.gov.br/conteudo\\_view.asp?id=2687](http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=2687)>. Acesso em: 15 ago. 2015.

LINDEMBERGER, A.; OLIVEIRA, C. F.; CORREA, M. P.; REUS, T. L.; ODA, J. M. M.; CARNEIRO, N. K.; WATANABE, M. A. E. Aspectos imunológicos da infecção pelo vírus do papilomavírus humano (HPV). **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**. v. 33, n. 1, p. 111-122, 2012.

DERCHAIN, S. F. M.; LONGATO FILHO, A.; SYRJANEN, K. J. Neoplasia intra-epitelial cervical: diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, [s.l.], v. 07, n. 27, p.425-433, 2005.

MIRANDA, G. H. B. **Método para processamento e análise computacional de imagens histopatológicas visando apoiar o diagnóstico de câncer de colo do útero**. 2011. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

MUÑOZ, N.; CASTELLSAGUÉ, X.; GONZÁLEZ, A. B. DE; GISSMANN, L. HPV in the etiology of human cancer. **Vaccine**, 24(3), p. 3- 10, 2006.

NONNENMACHER, B.; BREITENBACH, V.; VILLA, L. L.; PROLLA, J. C.; BOZZETTI, M. C. Identificação do papilomavírus humano por biologia molecular em mulheres assintomáticas. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 01, n. 36, p.95-100, 14 nov. 2001.

NORONHA, V. L.; NORONHA, R.; CARMONA, B.; MACEDO, L. A.; CRUZ, E. M.; NAUM, C.; MELLO, W.; VILLA, L. Papilomavírus humano (HPV) em mulheres com citologia oncocítica dentro dos limites da normalidade. **Jornal de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, [s.l.], v. 01, n. 17, p.49-55, 2005.

RIVOIRE, W. A.; CAPP, E.; CORLETA, H. V. E.; SILVA, I. S. B. Bases Moleculares da Oncogênese Cervical. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [s.l.], v. 02, n. 47, p.179-184, 2001.

RODRIGUES, A. D.; CANTARELLI, V. V.; FRANTZ, M. A.; PILGER, D. A.; PEREIRA, F. S. Comparação das técnicas de captura de hídridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. [s.l.], v.45, n. 6, p.457-462, dez. 2009.

RUBIN, E.; GORSTEIN, F. (Ed.). **Rubin Patologia: Bases Clinicopatológicas da Medicina**. 4. ed. [s.l.]: Guanabara Koogan, 2006.

SENADO. **Imunização de meninas contra HPV pelo SUS é aprovada em turno suplementar**. Brasília. 2012. Disponível em: <<http://www12.senado.leg.br/noticias/materias/2012/09/12/imunizacao-contra-o-hpv-pelo-sus-e-aprovada-em-turno-suplementar>>. Acesso em: 20 jul. 2015.

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE CITOPATOLOGÍA. **Manual de Citopatologia Diagnóstica**. Barueri. 1. ed.Barueri,SP. Manole. 2013. 61 p.

SOLOMON, D.; NAYAR, R. **Sistema Bethesda para Citopatologia Cervicovaginal: Definições, Critérios e Notas Explicativas**. 2 ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2005.89 p.

K. SYRJÄNEN, P. NAUD, S. DERCHAIN, C. ROTELI-MARTINS, A. LONGATTO-FILHO, S.TATTI, M. BRANCA, M. ERZEN, L.S. HAMMES, J. MATOS, R. GONTIJO, L. SARIAN, J. BRAGANCA, F.C. ARLINDO, M.Y.S. MAEDA, A. LÖRINCZ, G.B. DORES, S. COSTA and S. SYRJÄNEN . Comparing PAP smear cytology, aided visual inspection, screening colposcopy, cervicography and HPV testing as optional screening tools in Latin America. Study design and baseline data of the LAMS study. **Anticancer Research**. v.25, p. 3469-3480, 2005.

WOLSCHICK, N. M.; CONSOLARO, M. E. L.; SUZUKI, L. E.; BOAER, C. G. Câncer de colo do útero: tecnologias emergentes no diagnóstico, tratamento e prevenção da doença. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. v. 39, n. 02, p.123-129, 2007.

World Health Organization (WHO). **Cancer mortality and morbidity**. Genebra. [2012]. Disponível em: <[http://www.who.int/gho/ncd/mortality\\_morbidity/cancer/en/index.html](http://www.who.int/gho/ncd/mortality_morbidity/cancer/en/index.html)>. Acesso em: 06 ago. 2015.

World Health Organization (WHO). **Cancer**. Genebra. [2012]. Disponível em: <<http://www.who.int/cancer/en/>>. Acesso em: 06 ago. 2015.

XAVIER, S. D.; BUSSOLOTI FILHO, I.; CARVALHO, J. M.; FRAMIL, V. M. S.; CASTRO, T. M. P. P. G. Frequência de aparecimento de papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de homens com HPV anogenital confirmado por biologia molecular: diagnóstico e tratamento. **Arquivo Interno de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 11, n. 1, p.36-44, 2007.