

## **Carcinoma in situ do colo uterino (NIC III) não HPV induzido ou decorrente de HPV de baixo risco oncogênico: um achado incomum**

### **Carcinoma in situ of the uterine cervix (CIN III) non-HPV induced or due to low oncogenic risk HPV: an uncommon finding**

DOI:10.34119/bjhrv5n5-293

Recebimento dos originais:26/09/2022

Aceitação para publicação: 28/10/2022

#### **Wellington Lombardi**

Doutor em Ginecologia e Obstetrícia  
Instituição: Universidade de Araraquara (UNIARA)  
Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara  
E-mail: wellom@terra.com.br

#### **Luciana Borges Lombardi**

Mestre em Ginecologia e Obstetrícia  
Instituição: Universidade de Araraquara (UNIARA)  
Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara  
E-mail: lulom@terra.com.br

#### **Carolina Fernanda da Silva**

Graduada em Medicina  
Instituição: Universidade de Araraquara (UNIARA)  
Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara  
E-mail: carolina.phernanda@gmail.com

#### **Gabriela Arruda da Silva**

Graduada em Biomedicina  
Instituição: Universidade de Araraquara  
Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara – SP  
E-mail: gabriela.as\_@hotmail.com

#### **Flávia Vicentim Silva**

Residente de Ginecologia e Obstetrícia  
Instituição: Universidade de Araraquara (UNIARA)  
Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara  
E-mail: flavia\_fvs@hotmail.com

#### **Jéssica Aparecida Marcinkevicius**

Residente de Ginecologia e Obstetrícia  
Instituição: Universidade de Araraquara (UNIARA)  
Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara  
E-mail: japmarcin@gmail.com

**Laura de Oliveira Marchetti**

Graduanda em Medicina

Instituição: Universidade de Araraquara (UNIARA)

Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara

E-mail: lauramarchetti@hotmail.com

**João Ramalho Borges**

Residente de Cirurgia Geral

Instituição: Universidade de Araraquara (UNIARA)

Endereço: R. Carlos Gomes, 1338, Araraquara

E-mail: joaoramalhoborges@gmail.com

**RESUMO**

Introdução: O câncer cervical, terceiro mais prevalente no sexo feminino, representa a segunda maior taxa de mortalidade entre os 14 e 44 anos. Como agente causador mais prevalente, o HPV de alto risco oncogênico está presente em 95% das lesões intraepiteliais de alto grau. Essas lesões compreendem as neoplasias cervicais graus II, III (NIC II, III) e o carcinoma *in situ*. A captura híbrida vem sendo utilizada para a detecção do HPV e sua classificação em dois grupos: baixo e alto risco oncogênico; e, dentre os métodos moleculares, tem sido considerada como padrão ouro, com sensibilidade de 98,1% e especificidade de 97,6%. Objetivo: Esse estudo teve como objetivo avaliar, através da captura híbrida, a presença das lesões de alto grau (NIC III, carcinoma *in situ*), que se originaram de HPVs de baixo risco oncogênico ou aquelas não HPV induzidas. Métodos: Dessa forma, foram analisados 39 pacientes com NIC III/carcinoma *in situ*, confirmadas por citologia oncológica e biópsia dirigida por colposcopia. Dessas, 08 foram classificadas previamente como não HPV induzidas ou de baixo risco, representando 20,51%. Resultados: Quando avaliou-se a concordância diagnóstica, ao se comparar as classificações dos resultados de HPV (baixo e alto risco) e da captura híbrida (negativa e positiva), para os exames realizados, observou-se  $p_o = 82,43\%$ ,  $p_e = 50,07\%$ , resultando em  $\kappa = 0,65$  ( $s_\kappa = 0,1162$ ), ou seja, verificou-se concordância significativa (valor  $p = 0,005$ ). Conclusão: Portanto, foi caracterizado uma reprodutibilidade de nível bom entre as duas classificações, deixando uma lacuna a ser esclarecido na etologia da NIC III/carcinoma *in situ*.

**Palavras chaves:** HPV, NIC III, carcinoma *in situ*, captura híbrida.

**ABSTRACT**

Introduction: Cervical cancer, the third most prevalent in females, represents the second highest mortality rate between 14 and 44 years old. As the most prevalent causative agent, high-risk oncogenic HPV is present in 95% or more of high-grade intraepithelial lesions. These lesions comprise grade II (CIN II), III (CIN III) cervical intraepithelial neoplasia and carcinoma *in situ*. Hybrid capture is currently being used for the detection of HPV and its classification into two groups: low and high oncogenic risk and, among molecular methods, it has been considered the gold standard in several countries, with a sensitivity of 98.1 % and specificity of 97.6%. Goals: This study aimed to evaluate, through the hybrid capture test, the presence of high-grade intraepithelial lesions (CIN III, carcinoma *in situ*), which originated from low-risk oncogenic HPVs or non-HPV-induced ones. Methods: Thus, 39 patients with CIN III/carcinoma *in situ*, confirmed by oncolytic cytology and colposcopy-guided biopsy, were analyzed. Of these, 08 were previously classified as non-induced or low-risk HPV, representing 20.51% of the sample. Results: When the diagnostic agreement was evaluated, when comparing the classifications of HPV results (low and high oncogenic risk) and hybrid capture (negative and positive), for the

tests performed, it was observed  $p = 82.43\%$ ,  $pe = 50.07\%$ , resulting in  $\kappa = 0.65$  ( $s\kappa = 0.1162$ ), that is, there was significant agreement ( $p\text{-value} = 0.005$ ). Conclusion: Therefore, a good level of reproducibility was characterized between the two classifications, leaving a gap to be clarified in the etiology of CIN III/carcinoma *in situ*.

**Keywords:** HPV, CIN III, carcinoma *in situ*, hybrid capture.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer cervical é o terceiro tipo de câncer mais prevalente entre as mulheres e segunda causa de morte entre 14 e 44 anos<sup>1</sup>. Em 2018 foram registrados 570 novos casos, além da constatação de aproximadamente 310 mil óbitos/anos<sup>1</sup>.

A World Health Organization (WHO) estima que em até 2040 ocorra um aumento de 50% de mortes, caso não sejam encontradas soluções definitivas para seu tratamento<sup>2</sup>. Estes números elevados apresentam íntima relação com o papilomavírus humano (HPV) que atua como agente precursor das displasias e pode ser rastreado em suas fases pré-malignas<sup>3</sup>.

De acordo com o banco de dados do Papillomavirus Episteme (PaVE), existem mais de 207 genótipos identificados<sup>4</sup>. Os HPVs são classificados de acordo com a sua capacidade de evoluir para o carcinoma, podendo ser de alto risco oncogênico, como os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 68 ou de baixo risco oncogênico, como os tipos 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70 e 81. Dos subtipos de alto risco, o 16 e o 18 são responsáveis por 70 a 80% das neoplasias cervicais. Em relação aos de baixo risco, 90% dos condilomas genitais são provenientes do vírus do tipo 6 e 11.<sup>5</sup>

Além da classificação e separação das cepas, existem mecanismos de virulência do HPV que são importantes para a evolução da infecção. O vírus expressa oito genes e dentre eles os mais importantes são as proteínas E6 e E7 que são responsáveis pela imortalização celular. Essas proteínas representam alto risco oncogênico para a lesão e são capazes de imortalizar queratinócitos humanos primários, codificando proteínas associadas à malignização<sup>6</sup>. Caso, o sistema imunológico não seja eficaz para a eliminação da célula infectada, a mesma, pode evoluir para as Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NICs)<sup>6</sup>.

De acordo com os dados publicados pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA) as NICs são classificadas conforme o acometimento epitelial. Dessa forma, NIC I ou lesão de baixo grau, são as que acometem as camadas mais basais do epitélio estratificado do colo do útero; NIC II (displasia moderada) ou lesão de alto grau, quando acomete dois terço da espessura do epitélio, preservando as camadas mais superficiais; e por fim, NIC III (displasia acentuada, carcinoma *in situ* ou lesão de alto grau), quando acomete todas as camadas do epitélio, com

exceção o tecido conjuntivo subjacente<sup>7</sup>. Portanto, as lesões de alto grau são na grande maioria das vezes, decorrentes dos HPVs de alto risco oncogênico, sendo raramente desencadeadas por HPVs de baixo risco.

Medidas preventivas como detecção precoce (diagnóstico) e tratamento do câncer cervical, são estabelecidas desde 1997, pelo Programa Nacional de Controle do Câncer do colo de útero, uma parceria do INCA, Ministério da Saúde e secretarias estaduais e municipais da saúde<sup>7</sup>.

O diagnóstico precoce dessas neoplasias é obtido pelo exame convencional de Papanicolau que apresenta baixo custo, alta eficiência e de fácil aplicabilidade<sup>8</sup>. Além da citologia oncótica convencional, existem atualmente exames mais específicos, como os métodos não moleculares e os moleculares<sup>9, 10</sup>. Os métodos não moleculares incluem o exame de colposcopia com biópsia dirigida, para estudo histopatológico<sup>11</sup>. O exame colposcópico é capaz de detectar lesões subclínicas de NIC além de avaliar a evolução das mesmas<sup>12</sup>. Além disso, a análise histopatológica da amostra confirma, definitivamente, lesões pré-neoplásicas e neoplásicas do colo do útero<sup>13</sup>. Em relação aos métodos moleculares, os mais utilizados são a captura híbrida e a reação em cadeia da polimerase (PCR), que permitiram complementar e melhorar a acurácia da citologia oncótica cuja taxa de falso negativo varia de 25 a 40%<sup>14</sup>. Além disso, o avanço da ciência das técnicas de biologia molecular permitiu identificar a presença do vírus HPV em pacientes assintomáticas e monitorizar a persistência da infecção durante e após o tratamento.

A PCR é capaz de detectar níveis muito baixos de carga viral em tecidos e até mesmo em células. Já a captura híbrida, avalia a carga e o tipo viral, tornando possível a identificação do tipo de HPV mais frequente, através da hibridização do DNA, utilizando sondas específicas para os diferentes tipos de HPV<sup>10</sup>. Portanto, a captura híbrida proporciona um melhor acompanhamento das alterações citológicas, pois a presença de HPV de alto risco está associada com maior risco de progressão das NICs e possível evolução para neoplasia de colo uterino<sup>15</sup>.

Dessa maneira, sabendo que as lesões intraepiteliais de alto grau (NIC III, carcinoma *in situ*), se originam de HPVs de alto risco oncogênico, o objetivo desse trabalho foi avaliar, através do exame de captura híbrida, a presença das lesões intraepiteliais de alto grau (NIC III, carcinoma *in situ*), que se originaram de HPVs de baixo risco oncogênico, ou aquelas não HPV induzidas, cuja evolução seria incomum ou pouco esperada, na literatura.

## 2 MÉTODOS

Esse trabalho faz parte de um protocolo de estudo, intitulado “Terapia Fotodinâmica no Diagnóstico e Tratamento da Neoplasia Intraepitelial Cervical”, realizado no Ambulatório Saúde da Mulher de Araraquara-SP. Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Araraquara – UNIARA, sendo aprovado sob o registro CAAE: 90629218.8.0000.5383.

Trata-se de um trabalho prospectivo, com início em janeiro de 2020 e término em janeiro de 2022. Foram selecionadas 39 pacientes assistidas no Ambulatório Saúde da Mulher que atendiam aos critérios de inclusão descritos na Tabela 1.

Para a participação na pesquisa, as pacientes selecionadas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Todas as pacientes apresentavam citologia oncótica positiva para LIEAG (NIC III) e biópsia dirigida por colposcopia, confirmando o diagnóstico de NIC III-carcinoma *in situ*. O exame de captura híbrida foi coletado após a confirmação da NIC III pelo exame anátomo-patológico da biópsia do colo. A positividade ou não da captura híbrida para os grupos de HPV de baixo ou alto risco oncogênico seguiu a relação RLU/PCA (unidade de luminescência relativa/cutoff) para os vírus do grupo A e RLU/PCB (unidade de luminescência relativa/cutoff) para os vírus do grupo B, sendo considerados positivos quando apresentassem valores maiores ou iguais a 1,0 pg/ml. Sendo o grupo A, os vírus de baixo risco oncogênico (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70 e 81) e o grupo B, os vírus de alto risco (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 68).

Tabela 1. Critérios de inclusão e exclusão

<b>Critérios de inclusão</b>	Diagnóstico confirmado de LIEAG (NIC III, carcinoma <i>in situ</i> ), por citologia oncótica prévia e biópsia dirigida por colposcopia.
<b>Critérios de exclusão</b>	Grávidas e/ou menores de 18 anos de idade.

LIEAG = lesão intraepitelial de alto grau; NIC III= neoplasia intraepitelial cervical grau III.

Inicialmente foi calculada a porcentagem de portadoras de carcinoma *in situ* (NIC III), cujos exames prévios de captura híbrida, resultaram em HPV de baixo risco oncogênico. Convém acrescentar que, no caso de serem obtidos valores que permitam a classificação em baixo e alto risco, foi adotado o critério do maior valor obtido.

Após, foi realizado um estudo de reprodutibilidade diagnóstica, segundo resultado dos exames que classificaram o HPV em baixo e alto risco oncogênico, ou seja, captura híbrida negativa, quando resultado menor do que 1,0 e positiva quando maior ou igual a 1,0. Foram estimadas as proporções de concordância observada ( $p_o$ ), concordância esperada ( $p_e$ ) e a

estatística kappa ( $\kappa$ ) classificou o nível de concordância entre os dois exames. Para a análise estatística utilizou-se o software STATA 12.1.

### 3 RESULTADOS

Na Tabela 2 estão demonstrados a divisão das cepas de HPV de acordo com seu risco oncogênico.

Tabela 2. Cepas do papiloma vírus humano (HPV) de acordo com risco oncogênico

<b>Cepas HPV baixo risco</b>	6, 11, 42, 43 e 44
<b>Cepas HPV alto risco</b>	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68

A Tabela 3 representa o total de pacientes avaliadas e os valores obtidos pela captura híbrida, conforme o tipo de cepa, classificando-as em HPV de baixo risco e/ou alto risco oncogênico.

Tabela 3. Total de pacientes e valores da captura híbrida, conforme o tipo da cepa

<b>PACIENTES</b>	<b>HPV BAIXO RISCO</b>	<b>HPV ALTO RISCO</b>
1	3,32	584,54
2	0,14	1819,23
3	0,14	0,26
4	2,53	40,78
5	1,51	0,24
6	0,17	704,14
7	0,14	362,38
8	0,4	12,55
9	0,31	359,75
10	0,19	448,33
11	0,11	136,58
12	0,12	39,96
13	0,13	0,45
14	80,16	15,1
15	0,16	914,53
16	0,27	0,9
17	0,19	2,68
18	0,19	90,92
19	0,16	760,69
20	0,2	44,87
21	0,36	30,77
22	2,54	169,52
23	0,19	0,96
24	0,21	40,79
25	0,29	48,66
26	0,32	698,47
27	0,74	1362,81
28	0,12	152,81
29	2,88	73,84
30	0,08	106,96

31	0,16	156,11
32	0,14	28,27
33	0,13	279,82
34	0,14	294,85
35	0,15	1,34
36	2,89	2,48
37	0,14	0,16
38	0,14	8,18
39	0,12	0,29

Com relação aos achados de HPV de baixo risco ou a negatividade de sua presença e o desenvolvimento do carcinoma *in situ* (NIC III), das 39 pacientes com NIC III, 06 foram classificadas previamente como não HPV induzidas e 02 provenientes de HPV de baixo risco, representando, 08 pacientes (20,51%) da amostra.

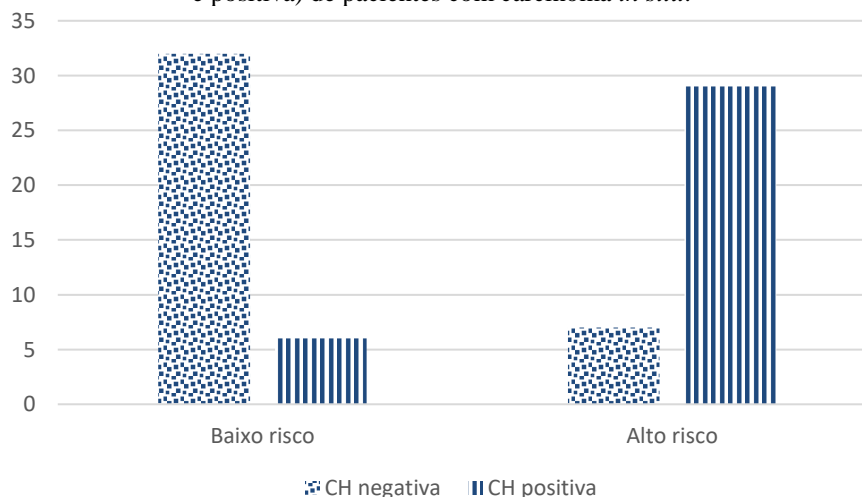
Com relação ao estudo de concordância diagnóstica, ao se comparar as classificações dos resultados de HPV (baixo e alto risco oncogênico) e da captura híbrida (negativa e positiva), para os exames realizados, encontrou-se os dados representados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados de exames segundo classificação de HPV através da captura híbrida de pacientes com carcinoma *in situ*.

Carga híbrida	HPV		Total
	Baixo risco	Alto risco	
Negativa	32	7	39
Positiva	6	29	35
Total	38	36	74

Observou-se  $p_o = 82,43\%$ ,  $p_e = 50,07\%$ , resultando em  $\kappa = 0,65$  ( $s_{\kappa} = 0,1162$ ), ou seja, verificou-se concordância significativa (valor  $p = 0,005$ ), caracterizando uma reprodutibilidade de nível bom entre as duas classificações (Figura 1).

Figura 1. Resultados de exames segundo classificação de HPV (baixo e alto risco) e de captura híbrida (negativa e positiva) de pacientes com carcinoma *in situ*.





#### 4 DISCUSSÃO

O papiloma vírus humano (HPV), é um vírus de DNA transmitido por relação sexual sem proteção, sendo assim, considerado uma doença sexualmente transmissível (DST) e está associado a quase todos os carcinomas cervicais, pois em aproximadamente 99% dos casos, encontram-se presentes o seu DNA viral<sup>16</sup>.

O presente estudo apresentou resultados divergentes encontrados na literatura já que, a presença do HPV de alto risco tem grande prevalência nas LIEAG e o HPV não oncogênico apresenta, na literatura, porcentagens menores que 10%. O atual trabalho apresentou 20% de NIC III não provenientes do HPV oncogênico, discordando dos achados literários. Segundo estudo realizado por Borges *et al.*, em 2004, foram analisadas as capturas híbridas de 85 pacientes com NIC III confirmadas por biópsia. O estudo obteve o resultado de 98,8% (84) de positividade para o HPV de alto risco, com apenas uma paciente acometida pelo grupo não oncogênico. De acordo com esses autores, houve 10 pacientes com resultados falso-negativos (12,3%). Eles afirmam que os casos negativos das capturas híbridas podem ser ocasionadas pelas lesões apresentarem poucas cópias de vírus ou por conter novos tipos viróticos, ainda não incluídos nos testes. Além disso, no mesmo estudo, o DNA-HPV de alto risco foi detectado em 44% das mulheres sem doença histológica, configurando a presença da infecção viral mesmo na ausência de lesão tecidual evidente<sup>17</sup>.

Em relação a técnica molecular utilizada, sabe-se que a captura híbrida possui alta sensibilidade, além da vantagem de utilizar reagentes não radioativos. A captura híbrida é aplicada através de uma solução hibridizadora que utiliza anticorpos na captura dos híbridos, moléculas de DNA de fita dupla na qual uma das fitas é de origem viral e a outra é a sonda do RNA-HPV. Os híbridos RNA/DNA são capturados sobre a superfície da microplaca sensibilizada com anticorpos específicos. As sondas não reagentes são lavadas e a detecção da reação é feita por meio de adição de substrato quimioluminescente da fosfatase alcalina. A consequente emissão de luz é que confirma a presença de infecção pelo HPV. Portanto, a captura híbrida tem sido considerada como padrão ouro em diversos países incluindo o Brasil<sup>18</sup>. Esse método possui sensibilidade de 98,1% e especificidade de 97,6%, demonstrado em vários estudos<sup>19</sup>.

A literatura mostra forte associação do maior risco de progressão da NIC na presença do vírus HPV de alto risco oncogênico, principalmente quando a infecção é persistente e com alta carga viral. Rozendaal *et al.*, observaram que mulheres com citologias normais e com a presença do vírus de alto risco, tiveram 116 vezes maior risco de desenvolver NIC II e III, em contraste com mulheres negativas para o vírus. A persistência da infecção pelo HPV,



particularmente pelos tipos 16 e 18, está intimamente envolvida no processo da carcinogênese cervical, sendo considerado o mais forte fator de risco para o surgimento de lesões pré-malignas do colo uterino<sup>20</sup>.

Outro estudo realizado por Aidé *et al.*, em 2009, mostrou a prevalência dos tipos de HPV distribuídos pelo mundo, com o resultado do HPV 16 como o mais frequente (50%), o HPV 18 esteve em segundo lugar (13,7%), seguido do tipo 45 (8,4%) e do tipo 31 (5,3%), todos esses pertencentes ao grupo de HPV oncogênico. Já os demais subtipos foram encontrados em 0,1% a 2,8%<sup>21</sup>.

Além disso, uma análise populacional realizada por Teixeira *et al* (2016), avaliou a prevalência e os subtipos do HPV em 200 mulheres atendidas em um Hospital Universitário no sul do Brasil<sup>22</sup>. Como resultado, do total de positivadas para o HPV, 90% representavam de alto risco oncogênico, com predominância do tipo viral 18 (34,7%). Em relação ao exame citopatológico, 197 pacientes (98,5%) apresentaram resultado normal, sem coilocitose, e nenhuma das 200 mulheres que participaram do estudo tinham lesões intraepiteliais de baixo ou alto grau. O DNA do HPV foi detectado em 52 (26,3%) dessas mulheres que não apresentaram coilocitose e nem lesão intraepitelial de baixo ou alto grau. Como a alteração celular causada pelo HPV é um fenômeno progressivo, devido ao tempo de infecção, o HPV nessas mulheres possivelmente não foi capaz de causar alterações celulares detectáveis pelo método citopatológico convencional<sup>23</sup>. O resultado do exame citopatológico de três mulheres apresentou coilocitose e cada uma delas estavam infectadas com um genótipo de alto risco oncogênico (HPV-16, HPV-18, HPV-53). Esses dados ressaltam a importância da utilização das técnicas de biologia molecular para detectar os HPV de alto risco oncogênico antes mesmo de provocarem transformações celulares<sup>22</sup>.

Tanto o HPV-16 como o HPV-18 são genótipos oncogênicos que provocam lesão intraepitelial de alto grau (HSIL), carcinoma da cérvix e de pênis<sup>24,25</sup>. Porém, existe ainda uma pequena lacuna na evolução dos carcinomas *in situ* do colo uterino que não está completamente elucidada e que, talvez, não tenha relação direta com o HPV. Mais trabalhos devem ser realizados na procura dessa importante informação.

## 5 CONCLUSÃO

Apesar da maioria dos carcinomas *in situ* (NIC III) serem decorrentes do HPV de alto grau oncogênico (16 e 18) e raramente decorrente de baixo grau oncogênico, parte deles ainda permanecem com a etiologia incerta, não relacionada ao HPV de alto e baixo grau.

## REFERÊNCIAS

Bringhent, I. *et al.* Prevenção do Câncer Cervical: Associação da Citologia Oncótica a Novas Técnicas de Biologia Molecular na Detecção do Papilomavírus Humano (HPV). *Jornal brasileiro Doenças Sexualmente Transmissíveis*, 2010.

World Health Organization (WHO). WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition. Geneva: World Health Organization; 2021.

Fonseca, V.F. O papel do imunomarcador p16(ink4a) no manejo da neoplasia intraepitelial cervical de alto grau, seu risco de recorrência e a associação com a tipagem de HPV. Curitiba, 2016.

Vandoorslaer, K. *et al.* Papistomavírus Episteme: uma grande atualização para o banco de dados de seqüências de vírus do papiloma. *Ácidos Nucleicos*, 2017.

Martelo, A. *et al.* Prevalência específica por idade dos genótipos HPV16/18 no câncer do colo do útero: uma revisão sistemática e meta-análise. *International Journal of Cancer*, 2016.

Berman, T.A.; Schiller, J.T. Papilomavírus humano em câncer de colo de útero e orofaringe: uma causa, duas doenças. *Câncer*, 2017.

Instituto Nacional de Câncer José De Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização de Rede. Diretrizes Brasileiras Para o Rastreamento do Câncer de Colo do Útero/ 2ª ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: INCA, 2016.

Steben, M.; Duarte-Franco, E. Human papillomavirus infection: epidemiology and pathophysiology. *Gynecologic Oncology*, 2007.

Westra, W. H. Detection of human papillomavirus (HPV) in clinical samples: evolving methods and strategies for the accurate determination of HPV status of head and neck carcinomas. *Journal Oral Oncology*, 2014.

Kroupis, C.; Vourlidis, N. Human papilloma virus (HPV) molecular diagnostics. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2011.

Chaves, J.H.B. *et al.* Lesões no colo uterino sob visão colposcópica: achados anatomopatológicos em serviço ginecológico. *Revista Port. Saúde e Sociedade*, 2018.

Garcia, R.; Reis, H.; Rezende, R. Quality Evaluation of Cone Biopsy Specimens Obtained by Large Loop Excision of the Transformation Zone. *Journal of Clinical Medicine Research*, 2015.

Rama, C. H. Detecção sorológica de anti-HPV 16 e 18 e sua associação com os achados do Papanicolaou em adolescentes e mulheres jovens. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 2006.

Marinõ, H. *et al.* La autotoma es tan efectiva como las muestras obtenidas por el ginecólogo para la detección del HPV. *Medicina Balear*, 2015.

Tulio, S. *et al.* Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico citológico de lesões de alto grau. *Jornal Brasileiro de Patologia Medica Lab.*, vol.43, n1, 2007.

Dochez, C. *et al.* HPV vaccines to prevent cervical cancer and genital warts: an update. *Vaccine*, 2014.

Borges, S.C.V. *et al.* Taxa de detecção do papilomavírus humano pela captura híbrida II, em mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. 2004, v. 26, n. 2, pp. 105-110.

Ferreira, C.C.M. *et al.* Methodological Algorithms for the Diagnosis of HPV. *Avid Science*, 2016.

Rocha, B.G. Desenvolvimento de metodologias para identificação molecular do HPV. *Rev. UFSCar*, 2016.

Rozendaal, L.; Walboomers, J.M.; van der Linden, J.C.; Voorhorst, F.J.; Kenemans, P.; Helmerhorst, T.J.; van Ballegooijen, M.; Meijer, C.J. PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytologically normal cervical smears. *Int J Cancer*. 1996 Dec 11;68(6):766-9.

Aidé, S. *et al.* Neoplasia intraepitelial cervical. *DST j. bras. doenças sex. transm.*, v. 21, n. 4, 2009.

Teixeira, L.O.; Vieira, V.C.; Germano, F.N.; Gonçalves, C.V.; Soares, M.A.; Martinez, A.M.B. Prevalência dos tipos de Papilomavírus Humano em mulheres. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2016; 49(2):116-23.

Entiauspe, L.G.; Teixeira, L.O.; Mendonza-Sass, R.A.; Gonçalves, C.V.; Gonçalves, P.; Martinez, A.M.D. Papilomavírus humano: prevalência e genótipos encontrados em mulheres HIV positivas e negativas, em um centro de referência no extremo Sul do Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010; 43:260-3.

Bicca, G.L.O.; Silveira, M.F.; Silva, S.M.; Silva, K.R.S.; Barros, F.C.L.F. Prevalência de infecção por HPV de alto risco em mulheres utilizando Captura Híbrida na Prevenção do câncer do colo do útero no sul do Brasil. *DST J Bras Doenças Sex Transm.*, 2013; 25:109-14.

Bahmanyar, E.R.; Paavonen, J.; *et al.* Prevalence and risk factors for cervical HPV infection and abnormalities in young adult women at enrolment in the multinational PATRICIA trial. *Gynecol Oncol.*, 2012; 123: 440-50.