



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

**JULIANA CARVALHO MESQUITA**

**PERFIL DE PACIENTES COM LESÃO INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE BAIXO (LSIL) E DE ALTO GRAU (HSIL) NO COLO UTERINO A PARTIR DE CORRELAÇÃO DA CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO COM IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE HPV E HISTOPATOLOGIA**

**Fortaleza, 27 de junho 2024**

**JULIANA CARVALHO MESQUITA**

**PERFIL DE PACIENTES COM LESÃO INTRAEPITELIAL ESCAMOSA DE BAIXO (LSIL) E DE ALTO GRAU (HSIL) NO COLO UTERINO A PARTIR DE CORRELAÇÃO DA CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO COM IDENTIFICAÇÃO DE GENÓTIPOS DE HPV E HISTOPATOLOGIA**

Dissertação de mestrado apresentada no Programa de pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Eleutério Junior

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. José Eleutério Junior (orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profª. Dra. Renata Mirian Nunes Eleutério  
Universidade Christus (UNICHRISTUS)

---

Profª. Dra. Mariana Brito Dantas  
Examinadora externa à instituição (UFC)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- M544p Mesquita, Juliana Carvalho.  
Perfil de pacientes com lesão intraepitelial escamosa de baixo (LSIL) e de alto grau (HSIL) no colo uterino a partir da correlação da citologia em meio líquido com identificação de genótipos de HPV e histopatologia. / Juliana Carvalho Mesquita. – 2024.  
57 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2024.  
Orientação: Prof. Dr. José Eleutério Junior .
1. Papilomavírus humano. 2. Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau. 3. Lesão intraepitelial escamosa de alto grau. 4. Genótipo. 5. Histopatologia. I. Título.

CDD 571.9

---

Dedico este trabalho à minha família. Sem eles, eu não teria chegado até aqui.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me tornar digna de enfrentar os desafios da vida acadêmica, mesmo por ter passado por uma pandemia e duas gravidezes seguidas.

Ao meu esposo Thiago Mesquita pelo amor, paciência, compreensão e pela família linda que construímos durante esse período.

Aos meus filhos Angelo e Diana que são o amor mais puro e sincero que Deus me proporcionou.

À minha mãe Valderina por ser meu primeiro exemplo de incentivo aos estudos e ter me ajudado a concluir essa etapa da minha vida.

Ao professor Dr. José Eleutério Jr. pela dedicação, paciência, compreensão e por ser exemplo de amor e devoção à educação e à ciência.

Aos meus irmãos Cristiano e Tadeu pela educação e ensinamentos ao longo da minha vida que ajudaram ao longo da minha formação.

Às minhas cunhadas, Juliana, Lucivane, Germana e Thais e aos meus sogros Dona Julia e Marilon pela ajuda nesse meu período acadêmico.

Aos meus colegas de curso por dividirmos tantos momentos especiais com grande companheirismo.

A todos os professores e servidores do Departamento de Patologia da UFC pelos ensinamentos, disposição.

Ao Laboratório LABPEC e ao seu corpo clínico e aos funcionários, pela magnífica acolhida e pelo auxílio que me deram.

|

*“O sucesso nunca é definitivo, o fracasso nunca é fatal,  
o que importa é a coragem de continuar.”*

Winston Churchill

## RESUMO

O câncer de colo uterino é o quarto tipo de câncer mais comum em mulheres e o mais comum em malignidade ginecológica. Ele apresenta grande potencial de cura quando diagnosticado e tratado de forma precoce, por isso a importância dos testes de rastreamento para vírus HPV. O objetivo do estudo foi avaliar uma possível associação entre os achados citológicos das lesões intraepiteliais escamosas de baixo (LSIL) e alto grau (HSIL) com seus respectivos resultados histopatológicos e genótipos para HPV. Trata-se de uma pesquisa de natureza transversal, quantitativa e observacional com amostras de coletas cérvico-vaginais em meio líquido adquiridas em clínicas privadas da cidade de Fortaleza no período de janeiro de 2010 até dezembro de 2023. Durante a pesquisa, foram excluídas as amostras colhidas em gestantes, usuárias de medicações imunossupressoras e pacientes com doença que cursa com redução da competência imunológica. Foram coletadas 4411 amostras cérvico-vaginais divididas em lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (n = 4141) e lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) (n = 259), sendo excluídas 11 amostras. Foram avaliadas as características sociocomportamentais das pacientes, os métodos contraceptivos utilizados, a queixa principal relatada durante a consulta, a microbiota vaginal e os aspectos citopatológicos das amostras, os genótipos de HPV encontrados nos testes moleculares e o resultado histopatológico quando realizado. Foram utilizados o teste de Fisher e teste t de Student ou Mann-Whitney e fixou-se o nível de significância estatística de  $p < 0,05$ . A média de idade das pacientes com LSIL foi de 31,38 anos e 0,74 gestações, enquanto pacientes com HSIL apresentaram uma média de 37,18 anos e 1,83 gestações. À ida ao ginecologista para consulta de rotina, o uso de anticoncepcionais orais e a presença tanto da *Gardnerella sp.* como da *Cândida sp.* na microbiota vaginal foram os principais resultados encontrados em ambas as lesões. A coilocitose (65,83%) e a binucleação (97,67%) foram as principais características citopatológicas encontradas nas lesões de baixo grau e a discariose (52,5%) em lesões de alto grau. O HPV 16 isolado e HPV 31 associado foram os genótipos mais encontrados nos testes moleculares em ambas as lesões. Já nas biópsias, NIC 1 foi o principal resultado histopatológico nas lesões de baixo grau (54,14%) e NIC3 nas lesões de alto grau (82,82%).

Palavras-chave: Papilomavírus humano. Lesão intraepitelial escamosa de baixo grau. Lesão intraepitelial escamosa de alto grau. Genótipo. Histopatologia.

## ABSTRACT

Cervical cancer is the fourth most common type of cancer in women and the most common gynecological malignancy. It has great healing potential when diagnosed and treated early, hence the importance of screening tests for the HPV virus. The objective of the study was to evaluate a possible association between the cytological findings of low-grade (LSIL) and high-grade (HSIL) squamous intraepithelial lesions with their respective histopathological results and HPV genotypes. This is a cross-sectional, quantitative and observational research with samples from cervico-vaginal collections in liquid medium acquired in private clinics in the city of Fortaleza from January 2010 to December 2023. During the research, samples were excluded collected from pregnant women, users of immunosuppressive medications and patients with a disease that leads to reduced immunological competence. 4411 cervical-vaginal samples were collected, divided into low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) (n = 4141) and high-grade intraepithelial lesion (HSIL) (n = 259), with 11 samples excluded. The socio-behavioral characteristics of the patients, the contraceptive methods used, the main complaint reported during the consultation, the vaginal microbiota and the cytopathological aspects of the samples, the HPV genotypes found in the molecular tests and the histopathological result when performed were evaluated. Fisher's test and Student's t-test or Mann-Whitney test were used, and the level of statistical significance was set at  $p < 0.05$ . The average age of patients with LSIL was 31.38 years and 0.74 pregnancies, while patients with HSIL had an average of 37.18 years and 1.83 pregnancies. The visit to the gynecologist for a routine consultation, the use of oral contraceptives and the presence of both *Gardnerella* sp. such as *Candida* sp. in the vaginal microbiota were the main results found in both lesions. Koilocytosis (65.83%) and binucleation (97.67%) were the main cytopathological features found in low-grade lesions and dyskaryosis (52.5%) in high-grade lesions. Isolated HPV 16 and associated HPV 31 were the most common genotypes found in molecular tests in both lesions. In biopsies, CIN 1 was the main histopathological result in low-grade lesions (54.14%) and CIN3 in high-grade lesions (82.82%).

**Keywords:** Human papillomavirus. Low-grade squamous intraepithelial lesion. High-grade squamous intraepithelial lesion. Genotype. Histopathologic.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01: Taxa bruta de incidência de câncer do colo do útero por região do Brasil.....	17
FIGURA 02: Representação esquemática do genoma do HPV.....	18
FIGURA 03: Principal atuação das proteínas virais do HPV sobre o ciclo celular.....	20
FIGURA 04: Método de coleta citológica convencional (A) e em meio líquido pela tecnologia BD SurePath® (B).....	25
FIGURA 05: Coilocito (seta vermelha) – Célula escamosa com atipia nuclear (binucleação) e grande halo na região do citoplasma com borda “aramada” .....	26
FIGURA 06: Disqueratose (seta vermelha) – presença de células escamosas profundas com núcleos atípicos maiores que 3 vezes o volume do núcleo de uma célula intermediária normal sugere lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL) .....	27

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 01: Histórico das nomenclaturas citopatológicas e histopatológicas utilizadas para o diagnóstico das lesões cervicais e suas equivalências.....	22
TABELA 01: Características sociocomportamentais dos grupos do estudo (com lesão LSIL e HSIL na citologia oncótica) .....	34
TABELA 02: Métodos de contracepção utilizados pelos grupos de estudo (citologia oncótica com diagnóstico LSIL e HSIL) .....	35
TABELA 03: Principais queixas relatadas pelas pacientes no grupo de estudo (citologia oncótica com diagnóstico LSIL e HSIL) .....	37
TABELA 04: Patógenos encontrados, de forma isolada, no grupo de estudo (citologia oncótica com diagnóstico LSIL e HSIL) .....	38
TABELA 05: Características citopatológicas encontradas no grupo de estudo (citologia oncótica com diagnóstico LSIL e HSIL) .....	39
TABELA 06: Testes de Captura Híbrida realizados em pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL.....	40
TABELA 07: Genótipos encontrados de forma isoladas a partir dos testes de RT -PCR realizados em pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL.....	41
TABELA 08: Comparação entre os genótipos encontrados de forma isolada e de forma associadas em pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL com testes de genotipagem completa.....	42
TABELA 09: Principais genótipos encontrados associados a outros vírus HPV nas pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL com testes de PCR com genotipagem completa.....	43

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

TABELA 10: Comparação entre o resultado histopatológico com o resultado citológico.....	44
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AGC</b>	Células glandulares atípicas
<b>ASCCP</b>	Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical
<b>ASC-US</b>	<i>Atypical squamous cell of undetermined significance</i>
<b>CAP</b>	Colégio Americano de Patologia
<b>CML</b>	Citologia em meio líquido
<b>DIU</b>	Dispositivo intrauterino
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico ( <i>desoxirribonucleic acid</i> )
<b>DP</b>	Desvio padrão
<b>E1 a E7</b>	Proteínas precoce do papilomavírus humano-1 a 7
<b>HIV</b>	Vírus da imunodeficiência humana
<b>HPV</b>	Papilomavírus humano
<b>HSIL</b>	<i>High grade cervical squamous intraepithelial lesion</i>
<b>HSV</b>	Vírus da Herpes Simples
<b>IARC</b>	International agency for research on cancer
<b>INCA</b>	Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva
<b>JEC</b>	Junção escamocolunar
<b>LABPEC</b>	Laboratório Prof. Eleutério da Costa
<b>LAST</b>	Lower Anogenital Squamous Terminology
<b>LSIL</b>	<i>Low grade squamous intraepithelial lesion</i>
<b>NIC</b>	Neoplasia intraepitelial cervical
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>PCR</b>	Reação de cadeia da polimerase
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico ( <i>ribonucleic acid</i> )
<b>SBC</b>	Sociedade Brasileira de Citopatologia
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde
<b>UFC</b>	Universidade Federal do Ceará

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
1.1 O câncer de colo uterino.....	14
1.2 Patogenia .....	15
1.3 Classificação da nomenclatura brasileira para laudo citopatológico .....	19
1.4 Rastreamento do câncer cervical.....	21
1.5 Alterações cito-histológicas induzidas pelo HPV .....	24
1.6 Detecção do DNA-HPV .....	26
2 OBJETIVOS .....	28
2.1 Objetivo geral .....	28
2.2 Objetivos específicos .....	28
3 MATERIAL E MÉTODO .....	29
3.1 Modelo do estudo .....	29
3.2 População do estudo .....	29
3.3 Período do estudo .....	29
3.4 Critérios de inclusão .....	29
3.5 Critérios de exclusão .....	30
3.6 Número de participantes do estudo .....	30
3.7 Análise estatística .....	30
3.8 Aspectos éticos .....	30
4 RESULTADOS .....	31
5 DISCUSSÃO .....	43
6 CONCLUSÃO .....	48
7 REFERÊNCIAS .....	49

## 1. INTRODUÇÃO:

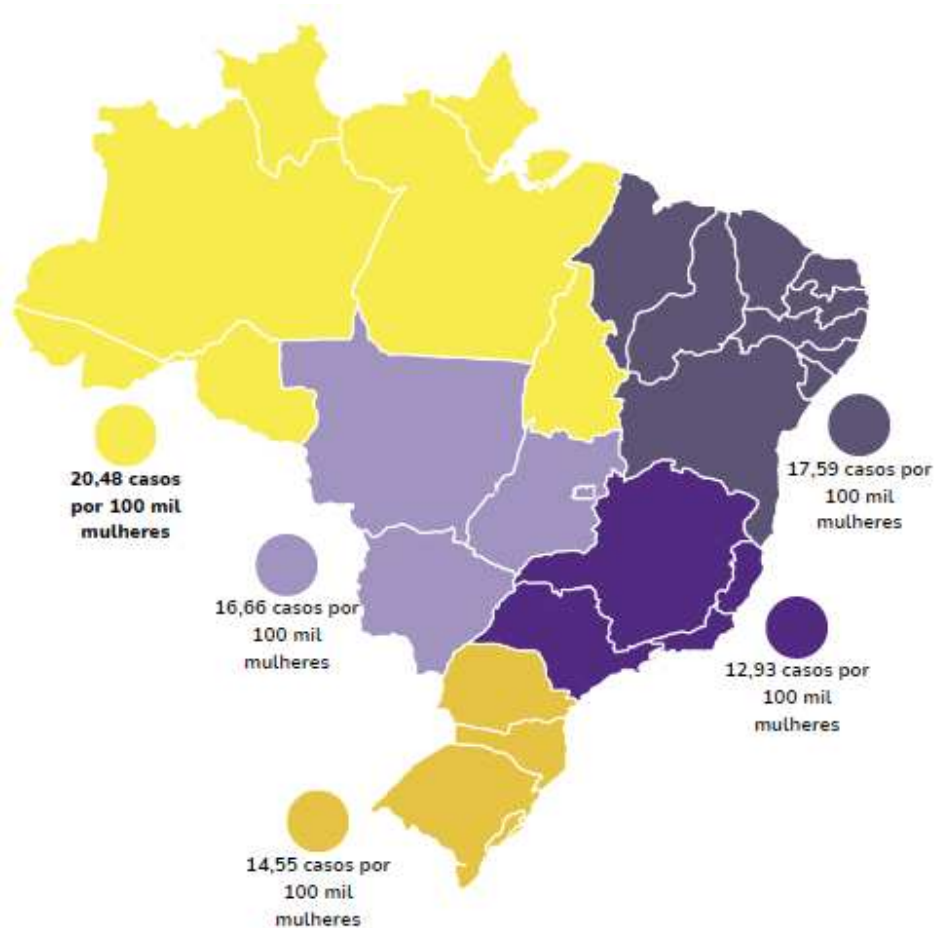
### 1.1 O Câncer de colo uterino

O câncer de células escamosas do colo uterino é o quarto tipo de câncer mais comum em mulheres em todo o mundo e o mais comum em malignidade ginecológica apesar de apresentar grande potencial de prevenção e cura quando diagnosticado e tratado de forma precoce (FERLAY, 2015; NOGARA, 2013).

A mortalidade associada ao câncer de colo uterino é acentuada, principalmente, nos países de baixa renda que não possuem programas nacionais estabelecidos para vacinação, rastreamento e cobertura universal de saúde (MEIRA et al., 2020). Atualmente, essa doença apresenta maior incidência e mortalidade em países da região da África Oriental, África do Sul, países sul-americanos e caribenhos (SUNG *et al.*, 2021).

No Brasil, excluídos os tumores de pele não melanoma, o câncer do colo do útero é o terceiro tipo de câncer mais incidente entre mulheres. Para o ano de 2023 foram estimados 17.010 casos novos, o que representa uma taxa ajustada de incidência de 13,25 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2023) (FIGURA 01).

**FIGURA 1.** Taxa bruta de incidência de câncer do colo do útero por região do Brasil.



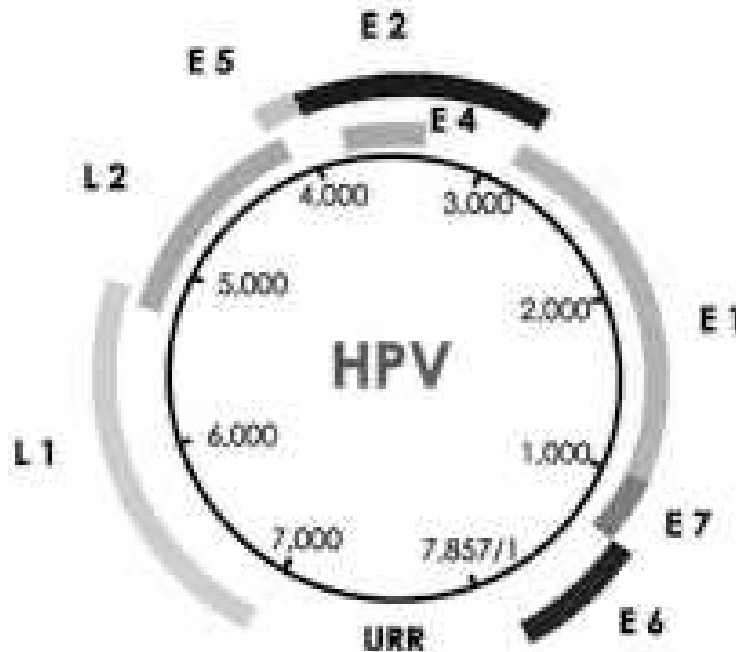
Fonte: INCA, 2023. Na figura observamos a incidência do número de casos de pacientes com diagnóstico de câncer por região do Brasil. Observamos que as maiores incidências de câncer cervical são na região Norte e Nordeste, o que pode estar relacionado à deficiência do nível da atenção primária nessas regiões.

## 1.2 Patogenia:

O Papilomavírus humano (HPV) é um vírus de DNA circular, da família *Papillomaviridae*, não envelopado, composto por oito mil pares de bases divididas em regiões

conhecidas como E (de “early”). São elas: E1, E2, E4, E5, E6 e E7; além da região L (“late”), L1 e L2 e a região controladora (URR) (DIAS, 2020) (FIGURA 02).

**FIGURA 2.** Representação esquemática do genoma do HPV.



Fonte: Munoz et. al. (2006); A figura mostra a forma de como as bases do DNA do HPV estão divididas. Região E (de “Early”). São elas: E1, E2, E4, E5, E6 e E7; além da região L (“late”), L1 e L2 e a região controladora (URR).

Os genes E1 e E2 codificam proteínas que são vitais para a replicação do DNA viral e controle da transcrição gênica do vírus. A proteína E4 é expressa nos estágios tardios da infecção e tem um papel importante na alteração da matriz intracelular, maturação e liberação das novas partículas virais. As proteínas E6 e E7 são importantes para a amplificação do genoma viral. As regiões tardias L1 e L2 codificam as proteínas virais dos capsídeos durante os últimos estágios da replicação dos vírus (MUNOZ *et. al.* 2006).

Por ser um vírus de alta infectividade, o HPV é capaz de infectar epitélios mucosos e cutâneos de diversas partes do corpo humano, apresentando tropismo pelas células pouco diferenciadas e em intensa atividade de síntese protéica, como células da camada basal, células de reserva, células metaplásicas imaturas e células juncionais. Existem, até o

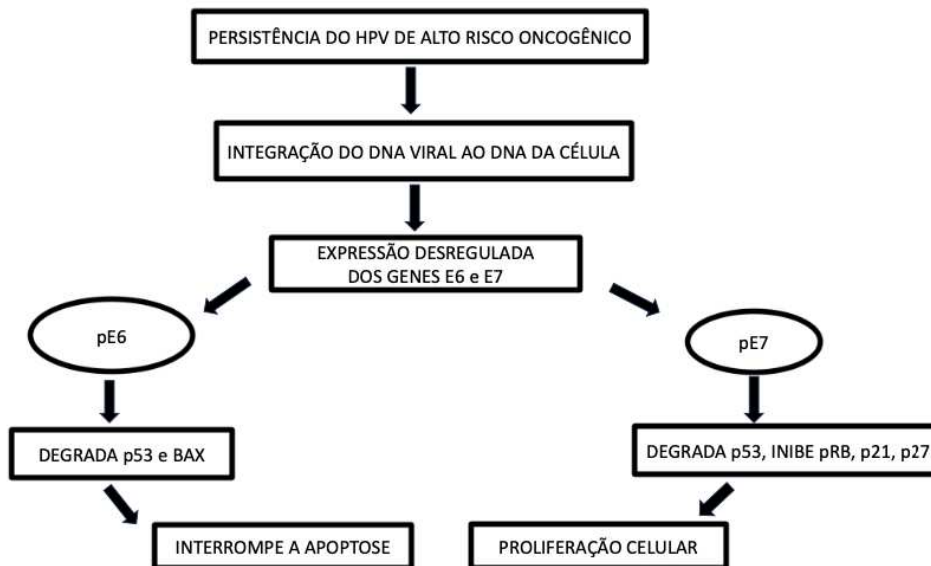


momento, mais de 200 tipos de HPV identificados e caracterizados, com pelo menos 14 tipos de alto risco podendo causar câncer (SZYMONOWICZ et al. 2020). Eles são filogeneticamente agrupados em 5 gêneros:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\mu$ -, nu-HPV. O grupo  $\alpha$  contém tipos definidos como de baixo (6, 11, 42, 43, e 44) e de alto risco oncogênico (16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, e 70) (DOORBAR et al. 2015).

A infecção dos indivíduos pelo HPV ocorre pelo acesso do vírus à membrana basal do epitélio por meio de micro traumas durante a relação sexual ou pela sua entrada através da zona de transformação do colo uterino (REPP *et al.*, 2012). Quando ocorre a persistência do vírus HPV de alto risco oncogênico nas células cervicais por um período mínimo de um ano, há um maior risco para o aparecimento do câncer, em especial do colo uterino (LIU et al. 2019).

A figura 3 mostra a atuação dos oncogenes virais do HPV na célula do hospedeiro. A persistência do vírus HPV de alto risco nas células do colo uterino induz a integração do DNA viral na célula do hospedeiro, promovendo a expressão dos oncogenes E6 e E7 nessas células, modificando o ciclo celular. O oncogene E6 age no gene supressor de tumor p53 nas células do colo uterino, interrompendo o ciclo de apoptose celular. Já o oncogene E7 vai agir principalmente no gene pRB induzindo a proliferação celular. (FERRAZ et al. 2012).

**FIGURA 3.** Principal atuação das proteínas virais do HPV sobre o ciclo celular.



Fonte: Ferraz *et. al.* (2012).

Em aproximadamente três semanas já é possível detectar cópias de DNA do HPV integrado ao epitélio basal das células cervicais (DIAS, 2020). O vírus tende a escapar da resposta imune do hospedeiro permanecendo, de forma latente no organismo do indivíduo por período indeterminado e, quando ativado, tende a ascender para as camadas superficiais do epitélio, assumindo duas formas de atuação na célula: a forma episossomal, que corresponde ao mecanismo utilizado para produzir cópias virais; ou a forma integrada ao DNA do hospedeiro e, neste caso, na presença de outros co-fatores, pode ser iniciado o processo de oncogênese (NEVES, 2010).

O HPV, em contato com a mucosa do colo uterino, pode ter diferentes desfechos. Ele pode ser detectado por biologia molecular sem ter lesão associada, levando a uma infecção autolimitada. Por outro lado, a infecção pode causar uma lesão de baixo grau (LSIL) que pode regredir, ou causar uma lesão de alto grau (HSIL), devido a uma infecção persistente,

podendo evoluir para câncer. O vírus HPV, por sua vez, pode se manter em latência, que pode ser clínica (HPV detectado sem lesão) ou biológica (HPV em níveis indetectáveis, porém presente) (ELEUTÉRIO JUNIOR et al. 2023).

### 1.3 Classificação da nomenclatura brasileira para laudo citopatológico:

As lesões precursoras do câncer cervical sofreram várias modificações na sua nomenclatura no decorrer dos anos. No ano de 1943, Papanicolau introduziu o sistema de classes para o diagnóstico citológico, enumeradas de I a V, onde a classe III é sugestiva de malignidade, mas não conclusiva, a classe IV altamente sugestiva de malignidade e a classe V conclusiva de malignidade. Em 1973, a Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou a classificação proposta anteriormente por Reagan, aplicando o termo displasia para designar as lesões pré-cancerosas e subdividindo-as em: displasia leve, displasia moderada, displasia acentuada/carcinoma *in situ*. Richart em 1967, estudando a história natural do câncer do colo uterino, estabeleceu o conceito de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) para as lesões precursoras do carcinoma escamoso invasor do colo uterino, considerando-as como um fenômeno único, contínuo e progressivo. Assim, as neoplasias intraepiteliais cervicais foram divididas, histologicamente, em três graus, NIC 1, NIC 2 e NIC 3, que correspondem respectivamente à displasia leve, displasia moderada e displasia acentuada/carcinoma *in situ* (BARROS *et al.* 2012).

Em 2001, foi introduzido o Sistema Bethesda de terminologia e classificação diagnóstica para amostras citológicas cervico-vaginais. A Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC) atualmente assume o uso dessa terminologia, mundialmente consensual, extensiva às amostras do trato ano-genital, pondo término as várias nomenclaturas já destinadas à citopatologia ginecológica. Esse sistema também possibilitou o desenvolvimento de diretrizes de manejo clínico vinculadas à terminologia padronizada. (NAYAR *et al.* 2017).

O histórico das nomenclaturas citopatológicas e histopatológicas utilizadas desde o início da realização desses exames está exposto no quadro 01.

**QUADRO 01:** Histórico das nomenclaturas citopatológicas e histopatológicas utilizadas para o diagnóstico das lesões cervicais e suas equivalências.

Classificação citológica de Papanicolaou (1941)	Classificação histológica da OMS (1952)	Classificação histológica de Richart (1967)	Sistema Bethesda (2001)	Classificação Citológica Brasileira (2006)
Classe I	-	-	-	-
Classe II	-	-	Alterações benignas	Alterações benignas
-	-	-	Atipias de significado indeterminado	Atipias de significado indeterminado
Classe III	Displasia leve	NIC I	LSIL	LSIL
	Displasia moderada e acentuada	NIC II e NICIII	HSIL	HSIL
Classe IV	Carcinoma <i>in situ</i>	NIC III	HSIL Adenocarcinoma <i>in situ</i> (AIS)	HSIL AIS
Classe V	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor	Carcinoma invasor

Fonte: INCA, 2016

Com o objetivo primordial de revisar e uniformizar a terminologia diagnóstica das lesões epiteliais escamosas HPV-induzidas do trato anogenital inferior, o Projeto LAST (“Lower Anogenital Squamous Terminology”) contou com a participação de especialistas do Colégio Americano de Patologia (CAP) e da Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical (ASCCP) e publicou, em 2012, suas recomendações em periódicos direcionados a diferentes públicos-alvo (DARRAGH *et al.* 2012).

Sua recomendação principal é que, independentemente do local da lesão (colo uterino, vagina, vulva, períneo, pênis, região escrotal, perianal ou canal anal), a terminologia diagnóstica utilizada seja baseada nas duas categorias que refletem as categorias biológicas das lesões morfológicas HPV-induzidas. Os termos utilizados seriam “lesões intraepiteliais escamosos de baixo grau (LSIL, do inglês *low – grade squamous intraepithelial lesion*), e de alto grau (HSIL, do inglês *high-grade cervical squamous intraepithelial lesion*)” (DARRAGH *et al.* 2012).

Dessa forma, LSIL seria equivalente à NIC 1 e HSIL seria o equivalente à NIC 3. As lesões classificadas como NIC 2 necessitam de uma abordagem complementar na tentativa de se melhor avaliar o seu risco biológico. Nesses casos, são indicados realizar um estudo complementar por imuno-histoquímica com o marcador p16ink4a nas amostras histopatológicas. Nos casos em que o marcador p16 fosse negativo, haveria a maior probabilidade de a lesão ser considerada de baixo grau, e nos casos positivos, a probabilidade de a lesão ser de alto grau. (DARRAGH *et al.* 2012).

#### 1.4. Rastreamento do câncer cervical:

O rastreamento do câncer do colo do útero no sistema único de saúde (SUS) no Brasil se dá através do exame Papanicolaou e que deve ser oferecido às mulheres ou qualquer pessoa com colo do útero, na faixa etária de 25 a 64 anos e que já tiveram atividade sexual (BRASIL, 2016). Isso pode incluir homens trans e pessoas não binárias designadas mulheres ao nascer (CONNOLLY *et al.*, 2020; WHO, 2021).

O objetivo do rastreamento do câncer de colo uterino é identificar as mulheres com risco de lesões cervicais pré-invasivas. As mulheres com maior risco de desenvolver câncer de colo do útero são aquelas que não participam dos programas de rastreamento, no entanto, os cânceres invasivos da cérvix podem ocorrer mesmo nas populações rastreadas (KOSS *et al.*, 2016).

Os métodos de rastreamento disponíveis, citamos a citologia cervical e os testes de pesquisa do DNA para HPV (BRASIL, 2016). A coleta da citologia cervical pode ser realizada de forma convencional ou em meio líquido.

A citologia oncótica convencional surgiu em 1940, desenvolvido pelo médico grego Dr. George Papanicolaou, que consistem na coleta de células da ectocérvice, endocérvice e da área de transição entre esses dois segmentos chamada junção escamocolumnar (JEC) do colo uterino. Antes da puberdade, o epitélio endocervical se estende pela ectocérvice se expondo ao ambiente vaginal formando, assim, a chamada zona de transformação, local onde 95% das neoplasias intraepiteliais cervicais se originam. (KIERSZEMBAUM, 2012).

Trata-se de um exame tecnicamente simples e de baixo custo, ele é muito utilizado em programas de rastreamento com o objetivo de reduzir a incidência e mortalidade por meio da identificação na população assintomática de mulheres com potencial para desenvolver a doença (WHO, 2006).

É um método eficaz, mas existem limitações, pois, para ter um diagnóstico preciso da amostra coletada, são necessários que a técnica da coleta esteja correta, apresentar uma qualidade da fixação das células nas lâminas e da coloração do esfregaço e que apresente um profissional capacitado para realizar a leitura das lâminas devido à subjetividade na interpretação (LIMA, *et al.*, 2012; KOSS & GOMPEL, 2016).

Já o método de coleta citológica em meio líquido foi criado para aperfeiçoar a coleta de material citológico do colo de útero, pois permite uma maior visualização das células, levando uma melhor interpretação dos resultados e reduzindo a quantidade de exsudatos inflamatórios, hemácias e muco trazendo benefícios em termos de diminuição de amostras insatisfatórias. Além disso, as amostras coletadas por esse método, pode ser utilizada em testes moleculares para uma melhor identificação do HPV (INCA, 2016; DA SILVA *et al.*, 2018).

**FIGURA 04:** Método de coleta citológica convencional (A) e em meio líquido pela tecnologia BD SurePath® (B).

(A) Na coleta convencional, utiliza-se a espátula de Ayre e a escova endocervical para coleta das células e as fixamos em uma lâmina.



(B) As células da ectocérvice e endocérvice são coletadas ao mesmo tempo com a escova e o material é colocado em um frasco contendo fixador celular.



### 1.5. Alterações cito-histológicas induzidas pelo HPV:

As principais alterações citopáticas associadas à infecção pelo vírus incluem a coilocitose, binucleação e a disqueratose. Outros achados citológicos são as placas celulares, pérola córnea, paraqueratose, hiperqueratose e megacariócitos. Atipia coilocitótica é encontrada em 20 a 30% dos casos, mas considerada como critério patognomônico para epitélio escamoso infectado por HPV produtivo com zona citoplasmática perinuclear clara e núcleos condensados (MASTUTIK *et. al.* 2021).

Coilócitos são células epiteliais escamosas com um núcleo hiper Cromático, deslocado do centro da célula por um grande halo perinuclear, podendo, ocasionalmente, apresentar multinucleação (LHEE *et al.*, 2014). (FIGURA 07)

**FIGURA 05:** Coilócito (seta vermelha) – Célula escamosa com atipia nuclear (binucleação) e grande halo na região do citoplasma com borda “aramada “.

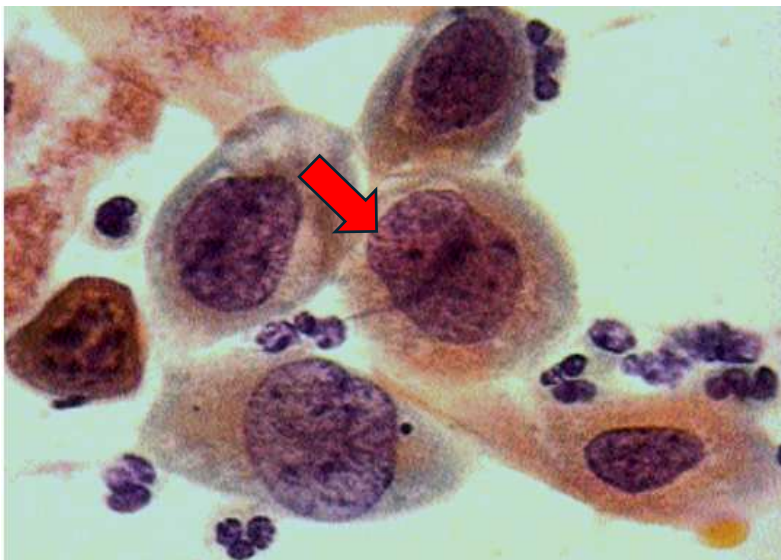


Fonte: Atlas digital de Citologia ginecológica (Prof. Dr. Eleutério Junior), 2008; A figura compara uma célula normal e um coilócito (seta vermelha).



A disqueratose podem ocorrer na superfície do epitélio, porém os disqueratócitos não são específicas da infecção induzidas pelo HPV. Trata-se de células escamosas em miniatura ou do tamanho padrão com queratinização anormal revelando aumento nuclear, hipercromasia, cromatina condensada e leves irregularidades da borda nuclear. Já os macrócitos são células muito grandes, com citoplasma eosinofílico, cianofílico ou policromático, contendo às vezes neutrófilos ou outras células escamosas. Os núcleos são geralmente múltiplos, aumentados de volume, hipercromáticos. Não há alteração da relação nucleocitoplasmática. Tais células não são específicas da infecção pelo HPV, podendo ser encontradas também na deficiência de ácido fólico/ vitamina B12, e como efeito da radio e quimioterapia (BARROS *et al.* 2012). (FIGURA 07)

**FIGURA 06:** Disqueratose (seta vermelha) – presença de células escamosas profundas com núcleos atípicos maiores que 3 vezes o volume do núcleo de uma célula intermediária normal sugere lesão intraepitelial escamosa de alto grau (HSIL)



Fonte: Atlas digital de Citologia ginecológica (Prof. Dr. Eleutério Junior), 2008.

### 1.6. Detecção do DNA-HPV:

Os testes moleculares se iniciaram com o aparecimento da Biologia Molecular, em 1953, a partir da descoberta do DNA e, nos anos de 1980 com a técnica de PCR descrita por Kary Mullis, em conjunto com o canadense Michael Smith, rendendo-lhe o prêmio Nobel de Química em 1993 (MENÊSES *et al*, 2019).

A detecção do DNA ou RNA do HPV através dos testes moleculares é considerada o padrão-ouro para identificação do vírus (LIE; KRISTENSEN, 2008). No decorrer dos anos, foram desenvolvidas várias técnicas de genotipagem do vírus HPV, variando conforme a sua sensibilidade e especificidade, sendo, atualmente, as mais utilizadas a Captura Híbrida e a reação de cadeia da polimerase (PCR) – PCR Multiplex e PCR em tempo real (PCR-RT).

A Captura Híbrida é uma reação de amplificação de sinal e associa métodos de hibridização molecular e antígenos monoclonais. (SOLOMON *et al*, 2001). A Multiplex PCR é uma técnica que permite a amplificação de vários *loci* em uma única reação (uso de mais um par de *primers*), além de promover a busca de variações no mesmo vírus ou no diagnóstico de doenças que podem ser causados por diferentes patógenos (CARMO *et al*, 2007).

A RT- PCR é uma técnica inovadora, capaz de detectar e quantificar a amplificação do produto à medida que ele é sintetizado. (XAVIER *et al*, 2009). As principais vantagens desse exame são a sua alta sensibilidade e rapidez na detecção de diversos tipos de vírus de alto risco, conseguir revelar a presença do vírus no início da infecção e sua menor chance de contaminação da amostra. A principal desvantagem desse teste é, principalmente, seu elevado custo em citologia para análise da amostra (*software*) (WOLSCHICK *et al*. 2007).

Dessa maneira, o uso de testes moleculares pode auxiliar na redução dos casos de câncer de colo uterino, possibilitando o diagnóstico e demonstrando o tipo específico do HPV.

Nos mais recentes estudos tem sido estabelecido que as lesões intraepiteliais escamosas podem ser duas doenças distintas. Uma de baixo grau, sem potencial evolutivo para câncer escamoso e outra de alto grau considerada a verdadeira lesão pré-invasora. As

suas semelhanças e diferenças estão, aos poucos, sendo evidenciadas, no entanto, algumas dúvidas persistem, em especial se o aparecimento de lesões de baixo grau (LSIL) são marcadoras de uma lesão de alto grau (HSIL) não diagnosticada na citologia, se LSIL e HSIL são doenças distintas em relação a uma possível evolução para um câncer de colo uterino e qual a participação de genótipos específicos de HPV nesse cenário, sendo necessário mais estudos para uma maior compreensão do assunto.

Para melhor esclarecimento, é necessário que os testes de rastreamento do vírus HPV sejam aplicados de forma correta e efetiva e que seus resultados estejam em concordância. Logo, as lesões intraepiteliais escamosas de baixo grau (LSIL) e de alto grau (HSIL) no colo uterino seriam doenças distintas a partir da correlação da citologia em meio líquido com identificação de genótipo de HPV e histopatologia?

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a associação dos achados citológicos das lesões intraepiteliais escamosas de baixo (LSIL) e alto grau (HSIL) com o resultado histopatológico e de genótipos de HPV.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Identificar as características sociocomportamentais das participantes do estudo, os métodos contraceptivos utilizados e as principais queixas relatadas pelas pacientes do estudo durante a consulta ginecológica.
- 2) Identificar a microbiota vaginal e os aspectos citopatológicos encontrados nas amostras cérvico-vaginais das participantes do estudo.
- 3) Identificar e avaliar a frequência dos genótipos de HPV encontrados nos testes moleculares realizados nas amostras cérvico-vaginais das pacientes.
- 4) Correlacionar os achados citológicos das amostras cérvico-vaginais do estudo com a genotipagem e o diagnóstico histopatológico final.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. MODELO DO ESTUDO:**

Pesquisa de natureza transversal, quantitativa e observacional.

#### **3.2. POPULAÇÃO DO ESTUDO:**

Amostras cérvico-vaginais de mulheres submetidas a rastreio de câncer de colo uterino em clínicas privadas da cidade de Fortaleza - Ceará utilizando citologia em meio líquido.

#### **3.3. PERÍODO DO ESTUDO:**

Janeiro de 2010 até dezembro de 2023.

#### **3.4. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:**

Todos os resultados de citologia em meio líquido com resultado LSIL e HSIL do período de 2010 até 2023, independentemente da idade e paridade, incluídos no sistema Softlab.

#### **3.5. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:**

Foram excluídas 11 amostras cérvico-vaginais, pois as citologias foram colhidas em gestantes, usuárias de medicações imunossupressoras e pacientes com imunossupressão.

### **3.6. NÚMERO DE PARTICIPANTES DO ESTUDO:**

Foram avaliadas 4411 amostras de citologia oncótica, de mulheres imunocompetentes divididas em dois grupos: um grupo de mulheres com resultado de citologia oncótica com lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (n = 4141) e outro grupo contendo resultado de citologias oncóticas com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) (n = 259).

Durante a pesquisa, foram avaliadas as características sociocomportamentais das pacientes, os métodos contraceptivos utilizados, a queixa principal relatada durante a consulta, a microbiota vaginal e os aspectos citopatológicos das amostras, os genótipos de HPV encontrados nos testes moleculares e o resultado histopatológico quando realizado.

### **3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

Foram utilizados o teste de Fisher e teste t de Student ou Mann-Whitney conforme a necessidade, e fixou-se o intervalo de confiança de 95% e o nível de significância estatística considerado para todas as análises foi  $p < 0,05$ .

### **3.8. ASPECTOS ÉTICOS:**

Foram respeitados os princípios da bioética, baseado na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012), que rege a pesquisa envolvendo seres humanos. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS) designado pela Plataforma Brasil com o nº de parecer 4.256.021. A pesquisa foi realizada mediante total sigilo, garantindo o anonimato dos indivíduos durante o estudo.

#### 4. RESULTADOS:

Ao todo, foram avaliados 4400 casos de citologia oncótica de mulheres imunocompetentes divididas em dois grupos: um grupo de mulheres com resultado de citologia oncótica com lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL) (n = 4141) e outro grupo contendo resultado de citologias oncóticas com lesão intraepitelial de alto grau (HSIL) (n = 259).

A idade variou de 13 a 82 anos (média = (31,38 anos +/-9,94) no grupo das pacientes com LSIL e de 22 a 86 anos (média = (37,18 anos +/-10,73) no grupo HSIL ( $p < 0,0001$ ). Com relação a paridade das pacientes, as mulheres com lesão intraepitelial de baixo grau apresentaram uma média de 0,74 (+/-1,34), variando de 0 a 13 gestações, enquanto as pacientes com lesão intraepitelial de alto grau mostraram uma média de 1,83 (+/-1,82), variando de 0 a 12 gestações ( $p < 0,0001$ ) (TABELA 01).

Quanto ao uso de preservativo nas relações sexuais, 100 pacientes com diagnóstico de LSIL afirmaram fazer uso de condom (2,42%) durante as relações sexuais. Já as pacientes com diagnóstico de HSIL, 13 relataram o uso de preservativo (5,01%).

**TABELA 01:** Características sociocomportamentais dos grupos do estudo (com lesão LSIL e HSIL na citologia oncológica) em mulheres imunocompetentes, no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2023.

<b>Características</b>			
<b>socio</b>	<b>Lesão LSIL</b>	<b>Lesão HSIL</b>	<b>valor p*</b>
<b>comportamentais</b>	<b>(média)</b>	<b>(média)</b>	
Idade (média/DP)	31,38 (+/-9,94)	37,18 (+/-10,73)	< 0,0001 *
Gestações(média/DP)	0,74 (+/-1,34)	1,83 (+/-1,82)	< 0,0001*

DP= Desvio Padrão

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.

\* Ambas as características apresentaram significância estatística.

Com relação à contracepção, no grupo LSIL, apenas 578 pacientes referiram uso de algum método contraceptivo, sendo o principal método utilizado foram os anticoncepcionais orais combinados (53,63%), seguidos do uso de DIU (13,66%) e laqueadura tubária (8,99%). No grupo HSIL, apenas 48 pacientes referiram uso de métodos contraceptivos, dentre eles o mais utilizado também seria os anticoncepcionais orais combinados (37,5%), seguida da laqueadura tubária (16,66%) e o uso anticoncepcionais injetáveis (10,41%) (TABELA 02).



**TABELA 02:** Métodos de contracepção utilizados pelos grupos de estudo (citologia oncótica com diagnóstico LSIL e HSIL) em mulheres imunocompetentes no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2023.

<b>Métodos Contraceptivos</b>	<b>Lesão LSIL (n%)</b>	<b>Lesão HSIL (n%)</b>	<b>Valor p*</b>
Condom	100 (17,30%)	13 (27,08%)	0,0474 *
Anticoncepcional oral combinado	310 (53,63%)	18 (37,5%)	0,3791
Dispositivo intrauterino	79 (13,66%)	4 (6,34%)	0,6514
Laqueadura tubária	52 (8,99%)	8 (16,66%)	0,0575
Anticoncepcional injetável	31 (5,36%)	5 (10,41%)	0,0891

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.

\*Na tabela acima, dos métodos contraceptivos utilizados pelas pacientes, o uso de condom foi o único que apresentou relevância estatística ( $p < 0,05$ ).

Como principal motivo da ida ao consultório ginecológico, as pacientes do grupo LSIL, 723 (57,19%) referiram ter ido apenas à consulta de rotina, 196 (15,50%) estavam em acompanhamento devido à alteração nos exames cito-histológico anteriores, 206 (16,29%)

tinham queixas de corrimento vaginal, 34 (2,68%) apresentavam prurido vulvar, 19 (1,50%) tinham histórico de dor pélvica, 28 (2,21%) pacientes com lesões condilomatosas e 05 (0,39%) relataram sangramento uterino anormal. Já as pacientes do grupo HSIL, 60 (21,10%) delas realizavam consulta de rotina, 49 (18,59%) apresentavam alteração cito-histológica em exames anteriores, 12 (5,77%) tinham corrimento vaginal, 01 (0,5%) tinham histórico de dor pélvica e 13 (1,75%) com sangramento uterino anormal (TABELA 03)

**TABELA 03:** Principais motivos relatados pelas pacientes no grupo de estudo (citologia oncológica com diagnóstico LSIL e HSIL) em mulheres imunocompetentes no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2023.

Motivo da Consulta	Lesão LSIL (n%)	Lesão HSIL (n%)	Valor p*
Rotina Ginecológica	723 (57,19%)	60 (44,44%)	0,13
Alterações nos exames cito-histológicos prévios	196 (15,50%)	49 (36,29%)	<0,0001*
Corrimento vaginal	206 (16,29%)	12 (8,88%)	0,056
Prurido vulvar	34 (2,68%)	-	ns**
Dor pélvica	19 (1,50%)	01 (0,74%)	0,713
Lesões condilomatosas	28 (2,21%)	-	ns**
Sangramento uterino anormal	05 (0,39%)	13 (9,62%)	<0,0001*
<b>TOTAL</b>	1264	135	

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.

\* Acompanhamento por alterações de exames cito-histológicos prévios e sangramento uterino anormal apresentaram relevância estatística. \*\* ns: teste exato de Fisher impossibilitado de ser realizado.

Com relação à microbiota vaginal em casos com diagnóstico LSIL, foram encontrados bacilos (19,07%), cocos (0,16%) e mista (58,18%). Os patógenos encontrados, de forma isolada, foram a *Cândida* (4,18%), vírus do herpes (0,02%), *Gardnerella* (16,15%). Em alguns casos, a *Cândida* foi encontrada associada à *Gardnerella* (0,87%). Já *Gardnerella*, foi encontrada associada ainda ao *Actinomyces* (0,072%), ao vírus da Herpes (0,024%), ao *Mobiluncus* (0,75%), ao *Leptotrix* (0,072%) e à *Trichomonas* (0,024%). Já nas lâminas com diagnóstico HSIL foram encontrados bacilos (4,63%), cocos (0,77%), microbiota mista (34,74%). Os patógenos que foram encontrados, de forma isolados, são a *Gardnerella* (8,1%), *Cândida* (0,38%) e o vírus do herpes (0,38%) (TABELA 04).

**TABELA 04:** Microrganismos encontrados, de forma isolada, no grupo de estudo (citologia oncológica com diagnóstico LSIL e HSIL) em mulheres imunocompetentes no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2023. (número total de patógenos: 864).

Microorganismos	Lesão LSIL (n%)	Lesão HSIL (n%)	Valor p*
<i>Gardnerella sp.</i>	667 (16,15%)	21 (8,1%)	0,01*
<i>Cândida sp.</i>	173 (4,18%)	01 (0,38%)	0,002 *
HSV**	01 (0,02%)	01 (0,38%)	0,09

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.

\**Gardnerella sp.* e *Cândida sp.* apresentaram significância estatística.

\*\*HSV: vírus da Herpes Simples

As principais características citopatológicas encontradas nas lâminas com diagnóstico de LSIL foram a coilocitose (65,83%) e a binucleação (97,67%). Foram encontrados também paraqueratose (21,86%), placas celulares (71,30%), discariose (58,40%), megacariócitos (48,37%), pérola córnea (10,07%), hiperqueratose (1,76%), *baloon cell* (1,38%) e *dolka pot cell* (0,70%). Nas lâminas com diagnóstico de HSIL, o principal achado foi a discariose (52,50%). Outros achados foram os paraqueratose (8,10%), pérola córnea (2,70%), placas celulares (1,93%), megacariócitos (2,31%), coilócitose (1,54%) e hiperqueratose (0,38%). (TABELA 05).

**TABELA 05:** Características citopatológicas encontradas no grupo de estudo (citologia oncológica com diagnóstico LSIL e HSIL) em mulheres imunocompetentes no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2021.

<b>Características citopatológicas</b>	<b>Lesão LSIL (n%)</b>	<b>Lesão HSIL (n%)</b>	<b>Valor p*</b>
Coilocitose	2719 (65,83%)	04 (1,54%)	<0,0001*
Binucleação	4034 (97,67%)	01 (0,38%)	<0,0001*
Paraqueratose	903 (21,86%)	31 (8,10%)	0,008
Placas celulares	2945 (71,30%)	05 (1,93%)	<0,0001*
Discariose	2412 (58,40%)	136 (52,50%)	0,17
Megacariócitos	1998 (48,37%)	06 (2,31%)	<0,0001*
Pérola Córnea	416 (10,07%)	07 (2,70%)	0,0003*
Hiperqueratose	73 (1,76%)	01 (0,38%)	0,26

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.

\* A coilocitose, binucleação, placas celulares, megacariócitos e pérola córnea foram as características citopatológicas com significância estatística.

No momento da coleta citológica, foram solicitados indicativos da presença de HPV de alto risco e os resultados estavam presentes no banco de dados utilizados na pesquisa. Os testes moleculares que foram considerados nesse estudo foi a Captura Híbrida e o RT-PCR.

Foram analisados 240 testes de Captura Híbrida nas pacientes com o diagnóstico LSIL, sendo 210 considerados positivos. Já as pacientes com o diagnóstico HSIL, 32 testes foram avaliados, sendo encontrados 30 testes positivos (TABELA 06).

**TABELA 06:** Testes de Captura Híbrida realizados em pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL. (número total de testes de captura híbrida: 272)

<b>Captura Híbrida</b>	<b>Lesão LSIL (n%)</b>	<b>Lesão HSIL (n%)</b>	<b>Valor p*</b>
Positiva para HPV de Alto Risco	210 (87,5%)	30 (93,75%)	0,89
Negativa para HPV de Alto Risco	30 (12,5%)	2 (6,25%)	0,55
<b>TOTAL</b>	<b>240</b>	<b>32</b>	<b>-</b>

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.

Considerando os testes RT-PCR em tempo, foram realizados 335 testes no total para as pacientes com o diagnóstico LSIL, sendo que 176 testes foram realizados o teste biomolecular Cepheid. Foram encontrados, de forma isolada, 87 genótipos, dos quais o HPV16 foi o principal vírus encontrado (34 casos), seguidos pelo HPV18 (19 casos). Para as pacientes com o diagnóstico HSIL, foram encontrados, de forma isolada, 30 genótipos nos quais o HPV 16 também é o principal vírus encontrado (17 casos) (TABELA 07).

Para os genótipos encontrados de forma associada a outros vírus HPV, foram contabilizados o total de 48 casos, sendo os principais genótipos envolvidos nas lesões de baixo grau (LSIL) foram o HPV31 (07 associações), o HPV 39 (06 associações) e o HPV 35 e HPV 56 (5 associações) (TABELA 08 e 09). Já para as pacientes com o diagnóstico HSIL, o principal genótipo encontrado foi o HPV 31 (03 associações) (TABELA 09).

**TABELA 07:** Genótipos encontrados de forma isoladas a partir dos testes de RT -PCR realizados em pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL (número total de genótipos: 117)

<b>Genótipos Isolados</b>	<b>Lesão LSIL</b>	<b>Lesão HSIL</b>	<b>Valor p*</b>
HPV 16	34 (39%)	17 (30,56%)	0,25
HPV 18	19 (21,83%)	04 (13,33%)	0,59
HPV 31	01 (1,14%)	-	ns*
HPV 35	02 (2,29%)	02 (6,66%)	0,28
HPV 53	01 (1,14%)	-	ns*
HPV 56	02 (2,29%)	-	ns*
HPV 58	-	02 (6,66%)	ns*
HPV Negativo	28 (32,18%)	05 (16,66%)	0,34
<b>TOTAL</b>	<b>87</b>	<b>30</b>	

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.

\*\* ns: teste exato de Fisher impossibilitado de ser realizado.

**TABELA 08:** Comparação entre os genótipos encontrados de forma isolada e de forma associadas em pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL com testes de genotipagem completa.

<b>Genótipos</b>	<b>Lesão LSIL</b>	<b>Lesão HSIL</b>	<b>Valor p*</b>
Genótipos Isolado	78 (48,44%)	26 (43,33%)	0,78
Genótipos Associados	83 (51,55%)	34 (56,66%)	0,70
<b>TOTAL</b>	<b>161</b>	<b>60</b>	

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%.



**TABELA 09:** Principais genótipos encontrados associados a outros vírus HPV nas pacientes com diagnóstico LSIL e HSIL com testes de PCR com genotipagem completa.

<b>Genótipos associados</b>	<b>Lesão LSIL</b>	<b>Lesão HSIL</b>	<b>Valor p*</b>
HPV31	07 (14,58%)	03 (60%)	0,568
HPV39	06 (12,5%)	00	ns*
HPV35	05 (10,41%)	00	ns*
HPV 58	04 (8,33%)	01 (20%)	0,432
HPV 51	01 (2,08%)	01 (20%)	0,2
HPV 06	01(2,08%)	00	ns*
HPV 56	05 (10,41%)	00	ns*
HPV 45	01(2,08%)	00	ns*
HPV 26	01(2,08%)	00	ns*
HPV 52	02 (4,16%)	00	ns*
HPV 68	03 (6,25%)	00	ns*
HPV 42	02 (4,16%)	00	ns*
HPV 53	01(2,08%)	00	ns*
HPV 73	02 (4,16%)	00	ns*
HPV 66	02 (4,16%)	00	ns*
HPV 61	01(2,08%)	00	ns*
HPV 82	01(2,08%)	00	ns*
HPV 54	01(2,08%)	00	ns*
HPV 43	02 (4,16%)	00	ns*
<b>TOTAL</b>	<b>48</b>	<b>05</b>	<b>-</b>

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%. \*\* ns: teste exato de Fisher impossibilitado de ser realizado.

Quanto ao desfecho histopatológico, foram realizadas 205 biópsias na ocasião da coleta citológica LSIL, onde foram encontrados, como resultado a presença de NIC 1 em 54,14% dos casos, seguidos de cervicite crônica (34,14%) e NIC 2/3 (11,21%). Com relação a citologia HSIL, foram realizadas 99 biópsias, onde foram encontrados, como resultado a presença de NIC 2/3 em 82,82% dos casos, seguidos de cervicite crônica (9,09%), NIC 1 (4,04%) e carcinoma espinocelular (4,04%). Não foram encontrados testes negativos de PCR cuja biópsia foi positiva para alto risco (TABELA 10).

**TABELA 10:** Comparação entre o resultado histopatológico com o resultado citológico.

<b>Resultado</b>			
<b>Histopatológico</b>	<b>Lesão LSIL (n%)</b>	<b>Lesão HSIL(n%)</b>	<b>Valor de p*</b>
Cervicite Crônica	70 (34,14%)	09 (9,09%)	<0,0001*
(NIC1/NIC2p16neg)	111 (54,14%)	04 (4,04%)	<0,0001*
(NIC2p16pos/NIC3)	23 (11,21%)	82 (82,82%)	<0,0001*
Carcinoma espinocelular	01 (0,48%)	04 (4,04%)	0,03*
<b>TOTAL</b>	<b>205</b>	<b>99</b>	

Teste exato de Fisher com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança de 95%. \*Todos os resultados histopatológicos encontrados apresentaram significância estatística.

## 5. DISCUSSÃO:

O câncer de colo uterino é uma das neoplasias com maior chance de cura quando se é realizado seu diagnóstico de forma precoce (SILVEIRA, 2008). Programas de rastreamento através da colpocitologia oncótica torna-se essencial na redução das taxas de incidência e de mortalidade dessa doença. Por isso, o Ministério da Saúde recomenda a realização do exame citopatológico em mulheres entre 25 e 69 anos, uma vez a cada três anos após dois exames anuais consecutivos normais (INCA, 2023).

Nas amostras incluídas no estudo cujo diagnóstico foi LSIL apresentou uma média de idade de 31,38 anos com variação entre 13 e 82 anos e uma média de gestações de 0,74 com variação de 0 a 13 gestações. Já grupo cujo diagnóstico citológico foi HSIL, a média de idade encontrada foi de 37,18 anos com variação de 22 a 86 anos e apresentou uma média de gestações de 1,83, variando de 0 a 12 gestações.

Pimple et. al. (2022) e Munoz et. al. (2003) citam os vários fatores de risco para se contrair infecção por HPV e sua probabilidade de uma lesão pré-maligna evoluir para um câncer invasor como a alta paridade, uso a longo prazo de anticoncepcionais orais, estilo de vida com inúmeros parceiros, sexarca precoce, imunossupressão e uma dieta inadequada. As alterações hormonais devido à gravidez, além de alterar a resposta imune à infecção, mantém exposta por mais tempo a zona de transformação do colo uterino, facilitando a exposição direta ao HPV.

No presente estudo, o uso de contraceptivos, em especial os anticoncepcionais combinados, foram os mais utilizados em ambos os grupos, porém não apresentou significância estatística. Dos outros métodos contraceptivos encontrados, o uso de camisinha (masculina ou feminina) foi o único método que apresentou significância estatística. O uso do preservativo masculino ou feminino nas relações sexuais é outra importante forma de prevenção do HPV. Contudo, seu uso, apesar de prevenir a maioria das IST, não impede totalmente a infecção pelo HPV, já que frequentemente as lesões estão presentes em áreas não protegidas pela camisinha (vulva, região pubiana, perineal ou bolsa escrotal). A camisinha feminina, que cobre também a vulva, evita mais eficazmente o contágio, se utilizada desde o início da relação sexual (BRASIL, 2023).

Com relação ao uso dos anticoncepcionais orais, a Agência Internacional de pesquisa do câncer (IARC) demonstra uma forte relação entre a carcinogênese do HPV e o uso prolongado de contraceptivos. Esses estudos relatam que esses hormônios dos contraceptivos induzam a progressão das lesões pré-malignas para malignas, provavelmente devido à integração do DNA do HPV no genoma do hospedeiro, desregulando a expressão de E6 e E7 (PIMPLE *et. al.*, 2022). Porém, no presente estudo não houve associação do uso dos contraceptivos orais com aparecimento de lesões de alto grau (HSIL).

Foi observado no estudo que a ida ao ginecologista para uma consulta de rotina com o propósito de ser realizado o preventivo ginecológico ainda é o principal motivo das pacientes irem ao consultório ginecológico, apesar de não ser significativo estatisticamente. Mas, as pacientes que apresentaram lesões de colo uterinas prévias, que fazem um acompanhamento de forma mais seriada, apresentam significância estatística, evidenciando a importância do acompanhamento ginecológico de rotina para prevenir o aparecimento de novas lesões no colo uterino. O diagnóstico e o tratamento das lesões precursoras do câncer de colo uterino são as principais formas de prevenção. Em geral, as lesões provocadas pela infecção não causam sintomas como corrimento, sangramento, ardor ou prurido e por esta razão são detectadas apenas através do exame ginecológico. Assim, recomenda-se consultar regularmente o ginecologista e a realização de exames preventivos (NICOLAU *et. al.* 2001).

A análise da microbiota vaginal foi um dos pontos analisados no nosso estudo. Foi observado a que a *Gardnerella sp.* e a *Cândida sp.* foram os patógenos mais encontrados tanto nas citologias de lesão de baixo grau como lesão de alto grau que apresentaram significância estatística. Outros patógenos foram encontrados, em menor proporção, como o vírus do herpes, *Clamídia*, *Mobiluncus*, *Leptotrix*, *Actinomyces* e *Trichomonas*.

No estudo WEI *et. al.* 2022, percebeu-se que o desequilíbrio da flora vaginal torna a mulher mais suscetível às vaginoses e vaginites, podendo estar associado a um aumento de risco para outras infecções causadas pelo HPV (papilomavírus humano), HIV (vírus da imunodeficiência humana), clamídia, doença inflamatória pélvica, bem como resultados obstétricos adversos, como aborto e prematuridade.

Já no estudo de Cheng *et. al.* 2020, verificou-se que mulheres infectadas por HPV apresentaram um número maior de bactérias associadas à *Gardnerella*, *Sneathia*, *Prevotella* e *Megasphaera* comparadas às mulheres não infectadas por HPV. Além disso, mulheres jovens

infectadas por HPV oncogênico apresentaram uma maior diversidade na sua microbiota vaginal, pacientes cuja infecção é ocasionada pelos vírus HPV 39, 42 e 56 tiveram uma diversidade significativamente maior. Encontrou-se ainda uma correlação entre a infecção pela *Sneathia* com neoplasia cervical e uma infecção persistente por HPV 25, 29 e 30 em pacientes infectadas pela *Prevotella*.

Voog *et. al.* 1995, observou, em seu estudo, que as mulheres com infecções genitais, transmitidas sexualmente ou não, parecem ter maior incidência de infecção pelo HPV. Isto ocorre, provavelmente, pelo aumento da secreção no meio vaginal, que predisporia ao aparecimento de condilomas. A presença de coinfeções genitais, seja sexualmente transmissível ou não, pode ter importância na proliferação celular associada ao HPV. Esse provavelmente ocorre através de um aumento na umidade no ambiente vaginal.

Com relação às características citomorfológicas encontradas nas pacientes com diagnóstico de LSIL nesse estudo foram a coilocitose e a binucleação e ambas se mostraram relevantes estatisticamente. Já nas amostras cérvico-vaginais com diagnóstico de HSIL, os principais achados foram as displasias celulares, seguidos de paraqueratose e pérola córnea

A infecção pelo HPV também pode promover várias alterações na morfologia celular o que caracteriza a infecção por esse vírus na célula do hospedeiro (LHEE *et al.*, 2014). A coilocitose e a disqueratose são patognomônicos de infecção pelo HPV, mas diferentes estudos apontam que a inclusão de outros sinais citomorfológicos aumentam a sensibilidade da citologia para a detecção do HPV (ETCHEBEHERE *et. al.* 2016).

Com relação aos testes moleculares realizados pelas pacientes nesse estudo, foram considerados a Captura Híbrida e o RT-PCR. Na Captura Híbrida, os principais testes encontrados tanto para diagnóstico de LSIL como HSIL foram positivos para HPV de Alto Risco. Já no RT-PCR, o genótipo que mais prevaleceu, de forma isolada, foi o HPV 16 tanto nas pacientes com o diagnóstico de LSIL como HSIL, seguido pelo genótipo HPV 18. Já o HPV 31 foi o genótipo mais encontrado associado a outros genótipos do HPV. Solé-Sedeno *et. al.* 2018 apresentou um estudo cujo objetivo foi determinar a utilidade do teste de genotipagem do HPV nas triagens das lesões de baixo grau (LSIL). Assim como nosso estudo, eles concluíram que pacientes com lesões de baixo grau, mas infectadas com o HPV 16 tem maior probabilidade de evoluírem para lesões de alto grau (NIC 2 ou 3), sendo necessárias um controle mais rigoroso com colposcopia imediata. O estudo de Rufail *et. al.*

2020 também apresentou semelhança, sendo que as maiores taxas de HSIL foram observadas quando o HPV16/18 estava presente (32% dos casos). Pinheiro *et. al.* 2013 concluiu em seu estudo uma forte correlação entre a presença do vírus HPV 16 e 18 e o surgimento de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas do colo uterino. Já Martins *et. al.* 2016 observou que o teste de DNA HPV detectou um número significativo de pacientes com lesões pré-malignas cuja citologia oncótica foi negativa, sendo o HPV 16 está envolvido na maioria das lesões NIC3 do estudo.

Quanto ao desfecho histopatológico, as pacientes cujo resultado da coleta citológica foi LSIL, foram encontrados, em sua maioria, a presença de NIC 1 ou NIC2 com marcador p16ink4a negativo no resultado da biópsia do colo uterino. Já pacientes com resultado citológico HSIL, foi observado que a maioria do resultado das biópsias realizadas apresentou lesão NIC2 com marcador p16ink4a positivo ou NIC3. Em ambos os resultados apresentaram relevância estatística. No estudo de Ciavattini *et. al.* 2019 avaliou o risco de mulheres com lesão de baixo grau (LSIL) evoluírem para uma lesão de alto grau (HSIL) ou um câncer invasivo em seu resultado histopatológico. Concluíram que há um baixo risco de progressão dessas lesões de LSIL em 5 anos de acompanhamento e que a presença de citologia de alto grau ou um teste de DNA positivo de papiloma vírus humano de alto risco (HR-HPV) 2 anos após a inclusão mantiveram uma correlação significativa com o risco de progressão histopatológica para HSIL (NIC 2-3).

Stival *et al.* 2005 concluiu no seu estudo que o rastreamento das lesões precursoras do câncer de colo do útero pode ser realizado pelo exame citopatológico, devido à elevada percentagem de concordância encontrada quando comparados seus resultados com os dos exames de colposcopia e histopatologia. Rocha *et al.* 2018 observou também que a citopatologia apresentou uma alta sensibilidade para rastreamento das lesões cervicais associadas ao HPV.

Phianpiset *et. al.* 2020, também avaliou a proporção de neoplasias intraepiteliais cervicais (NIC 2-3) em paciente com lesões de baixo grau na citologia cervical. Foi concluído a não realização de biópsias nos grupos com lesão de baixo grau com acompanhamento semestral alinhado com uma estratégia de múltiplas biópsias direcionadas nos grupos com lesões de alto grau (HSIL).

Nesse contexto podemos inferir que o presente estudo confirmou dados já publicados na literatura sobre a influência das características comportamentais das mulheres, a não utilização de preservativos, o uso anticoncepcionais orais de forma prolongada, a presença de uma microbiota vaginal não equilibrada no aumento da infecção pelo vírus HPV. Foi observado ainda que pacientes com lesões de baixo grau (LSIL), as chances dessa lesão evoluir para uma lesão de alto grau são baixas, mas que necessitam de acompanhamento seriados no consultório ginecológico. E aquelas pacientes já com lesões de alto grau, necessitam de uma intervenção mais invasiva, pois há grandes chances dessa lesão evoluir para um câncer invasor quando não tratado de forma adequada.

É importante relatar que durante o estudo existiram algumas limitações, como o número de amostras cérvico-vaginais coletadas, a quantidade de testes moleculares e biópsias realizadas nas pacientes e o preenchimento incompleto durante a anamnese na consulta ginecológica.

## 6. CONCLUSÃO

1. A média de idade das pacientes com LSIL foi de 31,38 anos e 0,74 gestações, enquanto pacientes com HSIL apresentaram uma média de 37,18 anos e 1,83 gestações; o principal motivo das pacientes irem ao ginecologista é a consulta de rotina e o uso de anticoncepcionais orais é o principal método contraceptivo utilizados pelas pacientes. O uso de condom (masculino ou feminino) foi o método contraceptivo que apresentou relevância estatística.
2. A *Gardnerella sp.* como da *Cândida sp.* foram os principais patógenos encontrados na microbiota vaginal em pacientes com lesões LSIL e HSIL. A coilocitose e a binucleação foram as principais características citopatológicas encontradas nas lesões de baixo grau e a discariose em lesões de alto grau.
3. O genótipo HPV 16 isolado e o genótipo HPV 31 associado a outros genótipos de HPV foram os mais encontrados nos testes moleculares em ambas as lesões.
4. NIC 1 foi o principal resultado histopatológico nas lesões de baixo grau e NIC3 nas lesões de alto grau.



## REFERÊNCIAS

AGUIAR L. et al. **Avaliação crítica das nomenclaturas diagnosticas dos exames citopatológicos cervicais utilizadas no Sistema Único de Saúde (SUS)**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, Rio de Janeiro, v. 33, n. 3, p. 144-149, Mar. 2011.

AHMED W. et al. **Role of human Papillomavirus in various cancers: epidemiology, screening, and prevention**. *Mini Rev Med Chem* 2023; 23: 1079–1089.

ANSCHAU F. et al. **Citologia Cervical em Meio Líquido Versus Citologia Convencional. Femina**. Goiânia, GO, v. 34. n. 5. p. 329-335, 2006.

ANTTILA A. et al. **Cervical cancer screening policies and coverage in Europe**. *Eur J Cancer*. 2009; 45(15): 2649-5.

ARBYN M. et al. **Trends of cervical cancer mortality in the Member States of the European Union**. *Eur J Cancer*. 2009a; 45(15):2640-8.

BARROS A. L. S. et al. **Coleção Cadernos de referências 1: Citopatologia Ginecológica - Brasília: Ministério da Saúde; Rio de Janeiro: CEPESC, 2012.**

BRASIL. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Coordenação de Prevenção e Vigilância. Divisão de Detecção Precoce e Apoio à Organização da Rede. Diretrizes Brasileiras para o rastreamento do câncer de colo uterino – 2 ed. rev. Atual – RJ: Inca, 2016.**

BRASIL. MINISTERIO DA SAÚDE, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. **Revista Boletim temático da biblioteca do ministério da Saúde**. 1o ed. Vol. 03, n. 1. Brasília, DF, Ministério da Saúde; 2023 [citado 14 junho 5 de 2023]. 07 p. Disponível Ministério da Saúde: //http:www.bvsms.saude.gov.br

CAETANO R. et al. **Custo-efetividade no diagnóstico precoce de câncer de colo uterino no Brasil**. *PHYSIS*, Rio de janeiro, v 16, n 1 p99-118, 2006.

CHENG et al. **Vaginal microbiota and human papillomavirus infection among young Swedish women; NPJ biofilms microbiomes**. 2020 Oct 12;6 (1): 39. doi: 10.1038/s41522-020-00146-8.

CHOI, I *et al.* **Cytomorphologic Features According to HPV DNA Type in Histologically Proven Cases of the Uterine Cervix**. *Korean J Pathol*, v. 45, n. 6, p. 612-620, 2011.

CIAVATTINI A. et al. **Long-term observational approach in women with histological diagnosis of cervical low-grade squamous intraepithelial lesion: an Italian multicentric retrospective cohort study** *Open*. 2019 Jul 3;9(7): e 024920. Doi: 10.1136/bmjopen-2018-024920.

CIAVATTINI A. et al. **Follow up in women with biopsy diagnosis of cervical low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL): how long should it be?** Arch Gynecol Obstet 2017; 295: 997 – 1003.

COLONELLI, D. E. **Avaliação do desempenho da citologia em meio líquido versus citologia convencional no Sistema Único de Saúde.** São Paulo: 2014. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós - Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2014.

CONNOLLY D. et al. **Barriers and facilitators to cervical cancer screening among transgender men and non-binary people with a cervix: A systematic narrative review.** Preventive Medicine, Volume 135, 2020.

CUZICK J. et al. **Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries.** Vaccine 2008; 26: K29-41.

DAVIES P. et al. **Current methods of testing for human papillomavirus.** Best Pract Res Clin Obstet Gynecol. 2001;15(5):677-700.

DARRAGH T. M. et al. **The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: Background and Consensus Recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology.** Arch Pathol Lab Med 2012; 136: 1266-97

DIAS T. C. et al. **Human papillomavirus genotyping as a tool for cervical cancer prevention: from commercially available human papillomavirus DNA test to next-generation sequencing.** Future Sci OA. 2020 Jul 30;6(9): F [S](#) [O](#) 603. doi: 10.2144/fsoa-2019-0159.

DOORBAR J. et al. **Human papillomavirus molecular biology and disease association.** Rev Med Virol. 2015 Mar; 25 Suppl 1:2-23. doi: 10.1002/rmv.1822.

ELEUTÉRIO JR. J. et. al. **Prognostic markers of high-grade squamous intraepithelial lesions: the role of p16INK4a and high-risk human papillomavirus.** Acta Obst Gynecol Scand., USA, v. 86, n. 1, p. 94-8, 200.

ERICKSON B. K. et al. **Human papillomavirus: what every provider should know.** Am J Obstet Gynecol. 2013 Mar; 208(3):169-75. doi: 10.1016/j.ajog.2012.09.007. Epub 2012 Sep 14.

ETCHEBEHERE R. et al. **Comparison of Classical and Secondary Cytologic Criteria Relative to Hybrid Capture for Diagnosing Cervical-vaginal Infection by Human Papillomavirus.** Rev Bras Ginec. Obst, v. 38, p. 41-46, 2016.

FAHEY M. T. et al. **Meta-analysis of Pap test accuracy.** American Journal of Epidemiology. v. 141, n. 7, p. 680-689,1995.

FARSHADPOUR F. et al. **Human papillomavirus, and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a case- control study regarding tobacco and alcohol consumption.** Patholog Res Int. 2011; 2011: 806345.

FERNANDES J. et al. **Link between chronic inflammation and human papillomavirus-induced carcinogenesis.** Oncology Letters v. 9, p. 1015-1026, 2015.

FRANCO E. L. et al. **Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high -risk area for a cervical cancer;** J Infect Dis 180: 1415, 1999.

GIULIANO A. R. et al. **The human papillomavirus infection in men study: human papillomavirus prevalence and type distribution among men residing in Brazil, Mexico, and the United States.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17(8):2036-43.

HERÁCLIO S. A. et al. **Prevalência da lesão HPV induzida em canal anal de mulheres com neoplasia intraepitelial cervical 2 e 3: um estudo de corte transversal.** Rev. Bras. Ginecol. Obstet., Brasil, v. 37, n. 10, p. 480-485, oct., 2015.

HOFFMAN I. et al. **Ginecologia de Williams – Lesões Pré-malignas do trato genital Inferior – 2. Ed. – Porto Alegre: AMGH, 2014.**

HUBBARD R. A. **Human papillomavirus testing methods.** Arch. Pathol. Lab. Med., v. 127, p. 940-945, 2003.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Dados e números sobre o câncer de colo uterino: Relatório anual 2023.** Disponível em: <<http://www.antigo.inca.gov.br/útero>> Acesso em: 01 maio 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero.** Rio de Janeiro: INCA, 2016, 3a ed.

KECECIOGLU M. et al. **Cost and Effectiveness Comparison of Immediate Colposcopy Versus Human Papillomavirus DNA Testing in Management of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance in Turkish Women.** Asian Pacific J Cancer Prev, v. 14, n. 1, p. 511-514, 2013.

KIERSZENBAUM A. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia;** Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

KITUNCHAROEN, S. et al. **Comparison of Unsatisfactory Rates and Detection of Abnormal Cervical Cytology Between Conventional Papanicolaou Smear and Liquid-Based Cytology (Sure Path®).** Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, v. 16, n.18, p. 8491-8494, 2015.

KOSS L. G. et al. **Introdução à citologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas.** São Paulo, Roca, 2016.

KOUTSKY L. **Epidemiology of genital human papillomavirus infection.** Am J Med 1997; 102(5A):3-8.

LHEE M. et al. **Diagnostic Algorithm to Reflect Regressive Changes of Human Papilloma Virus in Tissue Biopsies.** *Yonsei Medical Journal*, v. 55, n. 2, p. 331-338, 2014.

LIMA D. M. O. et al. **Técnico em Citopatologia.** Brasília: Ministério da Saúde; Rio de Janeiro: CEPESC, 2012. Caderno de Referência 1: Citopatologia Ginecológica.

LIU Y. et al. **Current strategies against persistent human papillomavirus infection.** *Int J Oncol* 2019 Sep;55(3):570-584. doi: 10.3892/ijo.2019.4847. E pub 2019 Jul 23.

MARTINS, T. R et al. **Citologia líquida e teste molecular para HPV de alto risco: avaliação de novas modalidades de rastreio para prevenção de câncer de colo uterino na rede pública de saúde no estado de São Paulo**, publicado em 2016.

MASTUTIK G. et al. **p16INK4A Expression in Condyloma Acuminata Lesions associated with high-risk human Papillomavirus infection.** *Asian Pac J Cancer Prev* 2021.

MEIRA K. C. et al. **Analysis of the effects of the age-period-birth cohort on cervical cancer mortality in the Brazilian Northeast.** *PLoS ONE*. 2020; 15 (2): e\_0226258.

MUNOZ N. et al. **Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.** *N Engl J Med*. 2003; **348**:518–527. doi: 10.1056/NEJMoa021641.

MUNOZ *et al.* **HPV in the etiology of human cancer.** *Vaccine*. 2006;24 Suppl 3: S3/1-10.

MORENO V, et al. **Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: The IARC multicentric case-control study.** *Lancet*. 2002; **359**:1085–92. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08150-3.

NAYAR R. et al. **The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: A Historical Perspective.** *Acta Cytol*. 2017;61(4-5):359-372. doi: 10.1159/000477556. E pub 2017 Jul 11. PMID: 28693017.

NEVES N. A. **Vacinação de mulher: manual de orientação.** São Paulo: Febrasgo; 2010. Vacina papilomavírus humano. p. 212-4.

NICOLAU SM, Camargo CGC, Stávale JN, Gallo C, Dôres GB, Lörincz A, et al. **Hybrid capture in the detection of HPVDNA in male sexual partners of women with genital infection.** 19th International Papillomavirus Conference, HPV 2001, Florianópolis; 2001.

NIJHAWAN, R., et al. **Enhancing the scope of conventional cervical cytology for detecting HPV infection.** *Diagn. Cytopathol.*, v. 38, p. 645–651, 2010.

PACHE B. et al. **Prevalence of anal dysplasia and HPV genotypes in gynecology patients: The ANGY cross-sectional prospective clinical study protocol.** *PLoS One* 2022.

PERSSON M. et al. **Minor Cytological Abnormalities and up to 7-Year Risk for Subsequent High-Grade Lesions by HPV Type.** *PLoS ONE*, v. 10, n. 6, 2015.

PHIANPISET R. et al. **ASCCP Risk-Based Colposcopy Recommendations Applied in Thai Women with Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance or Low-**

**Grade Squamous Intraepithelial Lesion Cytology.**

Obstet Gynecol. 2020 Sep;136(3):510-517. doi: 10.1097/AOG.0000000000003982.

PIMPLE S. et al. **Cancer cervix: Epidemiology and disease burden.** Cytojournal 2022; Published online 2022 Mar 29. doi: 10.25259/CMAS\_03\_02\_2021.

PINHEIRO, M. M. et al. **HPV e o desenvolvimento de neoplasias: uma revisão integrativa de literatura;** Vol. 15 n. 1, jan. 2013.

QUEIROZ F. et al. **Detection and genotyping of HPV in women with indeterminate cytology and low-grade squamous intraepithelial lesions.** J Bras Patol Med Lab, v. 51, n. 3, p. 166-172, Jun. 2015.

RAJARAM S. et al. **Evaluation of Biomarkers p16/Ki-67 in cervical cytology for diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia.** *Indian J Gynecol Oncol.* 2019; 17:46.

REPP K. K. et al. **Male human papillomavirus prevalence and association with condom use in Brazil, Mexico, and United States.** J Infect Dis. 2012; 205(8) 1287-93.

RITARI J. et al. **Detection of human papillomaviruses by polymerase chain reaction and ligation reaction on universal microarray.** PLoS One. 2012.

ROCHA, Suelle Santos; ROSAL, Marta Alves. **Análise comparativa entre citologia, colposcopia e histopatologia do colo uterino em serviço de ginecologia de um hospital universitário.** *Jornal de Ciências da Saúde do Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí*, v. 1, n. 1, p. 69-75, 2018.

RODRIGUES A. D. et al. **Comparação das técnicas de Captura de Híbridos e PCR para a detecção de HPV em amostras clínicas.** J.Bras.Patol.Med. Lab., v 45 n6, p 457-462, 2009.

ROLLISON D. E. et al. **An emerging issue in oncogenic virology: the role of beta human papillomavirus types in the development of cutaneous squamous cell carcinoma.** *J Virol* 2019.

RUFAIL M. et al. **Low-grade squamous intraepithelial lesion on Papanicolaou test: follow-up rates and stratification of risk for high-grade squamous intraepithelial lesion.** J Am Soc. Cytopathol. 2020 Jul-Aug;9(4):258-265. doi: 10.1016/j.jasc. 2020. 02. 003. Epub 2020 Apr1.

SAHASRABUDDHE V. et al. **Human papillomavirus and cervical cancer: biomarkers for improved prevention efforts.** *Future microbiology*, v. 6, n. 9, 2011.

SAMPAIO, S. C. A. **Identificação de HPV de alto risco oncogênico em citologia em meio líquido em atípias escamosas e carcinoma escamoso.** Repositório UFC, 2015.

SASLOW D. et al. **American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer.** J Low Genit Tract Dis, v. 16, n. 3, p. 175–204, jul. 2012.

SCANAGATTA et al. **Vaginal microbiota and persistence of human papillomavirus infection**; Research, Society and Development, v. 11, n. 6, e50111629402, 2022; DOI:10.33448/rsd-v11i6.29402

SCHEINER M. A. et al. **Human papillomavirus and penile cancers in Rio de Janeiro, Brazil: HPV typing and clinical features**. Int Braz J Urol. 2008;34(4):467-74; discussion 475-6.

SCHIFFMAN M. et al. **Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer**. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(5):368–383

SCHIFFMAN M. et al. **A study of HPV typing for the management of HPV- positive ASC-US cervical cytologic results**. Gynecologic Oncology, v. 138, p. 573- 578, 2015.

SCHWARTZ M. **Cancer markers**. In: De Vita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. **Cancer: principles and practices of oncology**. Philadelphia: Lippincott- Raven; 2009

SILVA C. A. et al. **Retrospective study on cervical intraepithelial lesions of low-grade and undetermined significance: evolution, associated factors and cytohistological correlation** Sao Paulo Med. J. vol.132 no.2 São Paulo 2014.

SILVEIRA L. M. S. et al. **Atipias cervicais detectadas pelas citologias em mulheres atendidas em dois hospitais da rede pública de São Luís – MA**. Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 140, n 2, p. 115-119, 2008.

STEENBERGEN R. et al. **Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV- induced cervical precancerous lesions**. Nature Reviews. Cancer, v.14, n. 6, p.395-405, 2014.

STIVAL, Camile Oliveira et al. **Avaliação comparativa da citopatologia positiva, colposcopia e histopatologia: destacando a citopatologia como método de rastreamento do câncer do colo do útero**. Rev. Bras. Anal. Clin., v. 37, n. 4, p. 215-8, 2005.

SOLÉ-SEDENO J. M. **Utility of Human Papillomavirus Genotyping in the Management of Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions**. J Low Genit Tract Dis. 2018 Jan;22(1):13-16. doi: 10.1097/LGT.0000000000000354.

SUNG H. et al. **Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries**. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71930 209-49.

SZYMONOWICZ K. A. et al. **Biological and clinical aspects of HPV-related cancers**. Cancer Biol Med. 2020; 17(4): 864-78.

TORRE L. A. et al. **Global cancer statistics, 2012**. CA Cancer J Clin. 2015; 65:87-108.

VACCARELLA S, et al. **Worldwide trends in cervical cancer incidence: impact of screening against changes in disease risk factors**. Eur J Cancer. 2013;49(15):3262-73. doi: 10.1016/j.ejca.2013.04.024.

VILLA L. L. et al. **Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6,11,16 e 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomized double-blind placebo-controlled multicenter phase II efficacy trial.** *Concert Oncol.*, London, v.6 p. 271-278, 2005.

VOOG E et. al. **Human papillomavirus infection among women attending an STD clinic correlated to reason for attending, presence of clinical signs, concomitant infections and abnormal cytology.** *Acta Derm Venereol* 1995; 75:75-8.

WEI B et al. **Correlation between vaginal microbiota and different progression stages of cervical cancer;** *Human and Medical Genetics Genet. Mol. Biol.* 45 (2) 2022.

WILSON L. et al. **Natural immune responses against eight oncogenic human papillomaviruses in the ASCUS-LSIL triage study.** *Int J Cancer*, v. 133, n. 9, p. 2172-2181, Nov. 2013.

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.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Comprehensive cervical cancer control: a guide to essential practice.** Geneva, WHO, 2006.

YANG E. J. **Human Papilloma Virus- Associated Squamous Neoplasia of the Lower Anogenital Tract.** *Surg Pathology Clinic* 2019 Jun;12(2):263-279. doi: 10.1016/j.path.2019.02.001. PMID: 31097104.

ZARAVINOS A. et al. **Molecular detection methods of human papillomavirus (HPV).** *Int J Biol Markers.* 2009; 24(4):215-22.

ZHAI L. et. al. **A Global survey of projected efficacy;** *Antiviral Res.* 2016; 130: 101-9.