

FATORES ASSOCIADOS AO VÍRUS HPV E LESÕES CERVICAIS EM MULHERES QUILOMBOLAS

FACTORS ASSOCIATED WITH HPV VIRUS AND CERVICAL LESIONS IN QUILOMBOLA WOMEN

José Eduardo Batista¹, Silvio Gomes Monteiro², Omar Khayyam Duarte do Nascimento Moraes³, José Eduardo Batista Filho⁴, Walder Jansen de Mello Lobão⁵, Gerusinete Bastos Santos⁶, Breno Facundes Bonfim⁷

Resumo

Introdução: O Papilomavirus Humano é reconhecido como o principal agente causador do câncer do colo do útero. A identificação de HPV de alto risco pode auxiliar na prevenção de lesões do colo uterino. **Objetivo:** Identificar os tipos de HPV oncogênicos da região do Quilombo de Juçatuba, no município de São José de Ribamar (MA), e avaliar os fatores de risco associado à infecção do HPV com anormalidades citológicas. **Métodos:** Estudo transversal com 150 mulheres quilombolas residentes no município de São José de Ribamar (MA), para rastreamento do câncer do colo uterino. A coleta foi realizada no período de março a julho de 2012. Foram coletadas amostras da cérvix uterina por meio do exame citopatológico. A tipagem molecular de HPV foi realizada por meio da Reação em Cadeia da Polimerase e para a genotipagem do HPV-DNA foi utilizado ensaio de hibridização reversa em pontos. **Resultados:** Das 150 amostras, 16 (10,6%) foram positivas para HPV, sendo identificados os tipos 33, IS39, 52, 54, 56, 58, 59, 62, 66, 68, 70, 72, 73 e 84, além de infecções múltiplas. A maior prevalência foi para o HPV 58 (25%), considerado de alto risco. O HPV foi identificado em 5,5% (2/36) dos esfregaços inflamatórios de mulheres com 30 anos de idade ou menos ($p < 0,0001$). A infecção por HPV, segundo variáveis demográficas comportamentais e reprodutivas, não apresentou variável estatisticamente significativa. **Conclusão:** A presença de HPV e o câncer de colo uterino destacam a importância de ações específicas para a prevenção na transmissão desse vírus e rastreamento nos Quilombos maranhenses. Enfatiza-se a necessidade de programas de controle e prevenção nessa população contribuindo para a detecção e tratamento precoces do câncer colo do útero.

Palavras-chave: Papilomavirus humano. Citologia. Quilombolas.

Abstract

Introduction: The Human Papillomavirus (HPV) infection is known as the main cause of cervical cancer. The identification of individuals at high risk to be infected by HPV may help prevent cervical lesions. **Objective:** To identify the types of oncogenic HPV types in individuals from the region of Quilombo Juçatuba, in the city of São José de Ribamar, Maranhão, Brazil and evaluate the demographic risk associated with HPV infection as well as cytologic abnormality. **Methods:** Cross-sectional study with 150 women for cervical cancer screening in the city of São José de Ribamar, Maranhão, Brazil. Samples of the uterine cervix of Quilombola women were collected for the Pap smear test from March to July 2012. Molecular typing of HPV was done by polymerase chain reaction. Genotyping of HPV was performed by the reverse dot blot hybridization. **Results:** Of the 150 samples tested, sixteen (10.6%) were positive for HPV. We identified the types 33, IS39, 52, 54, 56, 58, 59, 62, 66, 68, 70, 72, 73 and 84. Multiple infections were also found. The highest prevalence was for the HPV type 58 (25%) that is considered a high-risk HPV type. HPV was identified in 5.5% (2/36) of inflammatory smears of women who were 30 years or younger ($p < 0.0001$). Regarding HPV infection according to behavioral and reproductive demographic variables, there was no statistically significant variable. **Conclusion:** The presence of HPV and cervical cancer highlights the importance of specific actions that aim at preventing the transmission of this virus and the screening of this infection in Quilombos from Maranhão, Brazil. We also highlight the necessity of control and prevention programs against HPV in order to contribute for early detection and treatment of cervical cancer in this population.

Keywords: Papillomavirus. Cytology. Quilombolas.

Introdução

Estudos epidemiológicos e moleculares têm mostrado a íntima relação entre o Papilomavírus Humano (HPV) e o surgimento de câncer cervical, bem como suas lesões precursoras, inferindo que a presença do vírus seja um agente causal para esta malignidade^{1,2}. O DNA do HPV tem sido detectado em até 99,7% dos cânceres cervicais em todo o mundo². Os HPVs envolvidos em infecções da região anogenital podem ser classificados de acordo com a sua capacidade de gerar neoplasias

malignas, em HPVs de baixo risco oncogênico, de alto risco oncogênico e genótipos de provável alto risco³.

Mais de 200 tipos de HPV foram caracterizados baseados na similaridade das sequências genéticas virais. Desses, cerca de 40 infectam a região anogenital². Os HPVs genitais podem infectar o epitélio escamoso e as membranas mucosas da cérvix, da vagina. São comuns em mulheres jovens, mas com frequência resolvem-se espontaneamente. Em média, as infecções ocorrem de 12 a 15 anos entre a infecção por HPV de alto risco oncogênico e o desenvolvimento do câncer cervical, o que

¹. Farmacêutico-Bioquímico. Docente da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA.

². Biólogo. Doutor em Genética. Docente da Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

³. Farmacêutico-Bioquímico. Docente da UFMA.

⁴. Farmacêutico. Especialista em Tecnologia de Alimentos. Secretaria Municipal de Saúde/São Luís - MA.

⁵. Cirurgião Dentista. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. UFMA.

⁶. Farmacêutica. Especialista em Citologia. Secretaria Municipal de Saúde/São Luís - MA.

⁷. Curso de Graduação em Farmácia. UFMA.

Contato: José Eduardo Batista. E-mail: jbatistaufma@gmail.com

reforça o padrão multiestágio da carcinogênese cervical induzida pelo HPV⁴. Os genótipos de HPV 6 e 11, principalmente, induzem a condilomas exofíticos que afetam a pele anogenital e a parte inferior da vagina, sendo detectados nas lesões intraepiteliais de baixo grau e são ditos de baixo risco. Os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 são considerados de alto risco e estão diretamente relacionados ao desenvolvimento do câncer cervical e suas lesões precursoras⁵.

Além destes, mais de 20 genótipos de HPV estão associados ao câncer cervical, um estudo multicêntrico, confirma a predominância do HPV 16 mais frequentemente encontrado em carcinomas cervicais e em Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NIC)^{6,7}. O genótipo 18 parece predominar em adenocarcinomas e carcinomas adenoescamosos, os quais são responsáveis por aproximadamente 5% dos cânceres cervicais^{7,8}.

As lesões oriundas de infecção pelo HPV provocam, geralmente, alterações morfológicas características, detectáveis em citologia de raspados cérvico-vaginais e biópsias. Com isso, é de suma importância a realização dos exames rotineiros de detecção precoce de câncer, através de esfregaços corados pelo método de Papanicolaou⁹. O exame citopatológico consiste na coleta, fixação em lâmina de vidro, coloração e posterior análise de células epiteliais esfoliadas do colo do útero utilizando um microscópio óptico⁹. Quando se detecta alterações citológicas relacionadas ao HPV, estas são interpretadas e as mulheres submetidas a condutas clínicas adequadas, levando em consideração o grau das anormalidades citológicas observadas no esfregaço¹⁰.

O sistema de Bethesda é um sistema de terminologia utilizado para repor os resultados do exame citológico de forma a fornecer orientações claras para o manejo clínico e diminuir a confusão entre laboratórios e médicos gerada pela utilização de múltiplos sistemas de classificação. Segundo o sistema de Bethesda, revisado em 2001, os achados citológicos podem ser interpretados de acordo com o grau e a natureza das alterações morfológicas observadas no esfregaço¹⁰.

O HPV 16 apresenta maior poder de persistência e capacidade única de evadir o sistema imune, o que resulta em maior persistência das infecções do que por outros tipos de HPV¹¹. Quando persiste por dois anos o HPV 16 possui maior capacidade de causar NIC e câncer do que qualquer outro tipo potencialmente oncogênico. Além disso, há indicações de que a idade e o tipo relacionado são fatores de risco para o desenvolvimento de NIC 2 ou lesão mais severa¹¹.

O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou para os anos de 2012 uma incidência de câncer de colo uterino no Brasil de 17.540. No estado do Maranhão, segundo estimativa do INCA, foram registrados 750 novos casos de câncer de colo do útero (taxa de 22,79). Na capital, São Luís (MA), foram detectados 190 novos casos, com uma taxa bruta de 36,20 para cada 100.000 mulheres¹². Neste contexto, este estudo teve como objetivo detectar os tipos de HPV oncogênicos do Quilombo de Juçatuba, São José de Ribamar (MA), e avaliar os fatores de riscos associados a infecção do HPV e anormalidades citológicas associadas.

Métodos

Estudo transversal com 150 mulheres que pro-

curaram as Unidades Básicas de Saúde do Quilombo de Juçatuba, São José de Ribamar (MA), no período de Março a Julho de 2012 para realização do exame preventivo do câncer de colo uterino. O cálculo do tamanho amostral das mulheres quilombolas foi feito utilizando-se o programa estatístico PASS 11¹³ e os seguintes parâmetros: Prevalência de 10% de DSTs em populações quilombolas em Turiaçu (MA)¹⁴, nível de significância (α) de 5%, erro tolerável de 7%, poder de teste de 80%, sendo a amostra de 150 mulheres.

Como critérios de inclusão, foram admitidas as mulheres que já tiveram ou tinham atividade sexual e procuraram espontaneamente pelo exame de Prevenção do Câncer de Colo Uterino (PCCU); como critério de exclusão exigiu-se não estar em período gestacional, não ser hysterectomizada, nem ter sido submetida a outra cirurgia em colo uterino e ser portadora de déficit mental que prejudicasse o entendimento e as respostas para o preenchimento do formulário específico.

A extração do DNA foi realizada por meio de um kit comercial de purificação cujo método se baseia na ligação seletiva do DNA a uma membrana de sílica na presença de sais caotrópicos (Purelink™, Invitrogen®). Após ressuspensão por agitação em Vortex, foi transferido um volume de 200 µL do Meio Universal de Coleta (UCM) contendo o material coletado para um tubo tipo Eppendorf ao qual foram adicionados 20 µL de proteínaase K e 20 µL de RNase. A mistura resultante foi incubada por dois minutos à temperatura ambiente. Após esse período, foi adicionado ao material 200 µL do tampão de Lise/Ligação e a mistura incubada por 30 minutos a 55 °C. Terminada a etapa de lise, foram adicionados 200 µL de etanol a 96%, seguido por agitação em Vortex de modo a se obter uma solução homogênea. O material lisado foi aplicado à coluna e o procedimento de purificação foi realizado de acordo com as instruções de uso do kit comercial em três etapas: ligação do DNA à coluna de sílica, lavagem para retirada de material não ligado e recuperação (eluição) do DNA ligado à coluna. O DNA extraído foi armazenado em *freezer* a -20 °C.

O DNA foi amplificado utilizando PGMY09/11 HPV *primers* específicos que amplificam o fragmento de 450-pb da região de consenso para L1 do HPV genital. A genotipagem do HPV-DNA foi realizada utilizando um ensaio de hibridização reversa em pontos, que envolveu a hibridação de um fragmento amplificado por PCR de 450-pb gerado pela PGMY definido como uma tira de *nylon* contendo sondas imobilizadas para diferentes tipos de HPV de alto e baixo risco oncogênicos¹⁵. A faixa continha dois níveis de sondas de globina β -controle, 18 sondas de HPV de alto risco (HR-HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 68, 73, 82 E 83) e nove sondas de HPV de baixo risco (LR-HPV 6, 11, 40, 42, 53, 54, 57, 66 e 84). Os reagentes de PCR, as tiras de sondas e reagentes de desenvolvimento foram gentilmente fornecidas pela Roche Molecular Systems, INC® (Pleasanton, CA, EUA). O volume de 100 µL da mistura de amplificação continha 4 mM de MgCl₂, 50 mM de KCl, 7.5u de Amplitaq DNA Polimerase Gold (Perkin-Elmer, Foster City, CA), 200 um de cada um de dATP, dCTP, dGTP, 600 uM de dUTP, 100 pmol de cada iniciador biotilado piscina PGMY09/PGMY11 e 2,5 pmol de cada um dos 5 'Biotilada-globina β primers, e PCO₄ Gh20.

O perfil de amplificação que se segue foi usado:

a ativação de Amplitaq Gold durante 9 minutos a 95°C, a desnaturação durante 1 minuto a 95 °C, recozimento durante 1 minuto a 55°C, extensão a 72 °C durante 1 minuto, para um total de 40 ciclos, seguidos de um passo de extensão de 5 minutos do terminal a 72 °C. Amplicons foram desnaturados em NaOH 0,4 N e 40 µl de produto de desnaturado foram feitos reagir em 3 ml de tampão de hibridação com uma inversão de linha-blot contendo os genótipos de HPV e β-globina em 2 concentrações de sondas imobilizadas em tiras de *nylon*. Hibridação positiva foi detectada por estreptavidina-peroxidase de precipitação cor mediada na membrana na linha de sonda. Em amostras consideradas HPV negativo as duas linhas de globina (cópias alto e baixo) aparecem em níveis comparáveis aos controles positivos, ou foram repetidos até que os critérios de positividade globina foi alcançado.

A citologia cervical foi realizada pelo método convencional. O esfregaço citológico foi constituído de duas amostras, raspado ectocervical e endocervical, coletado com espátula de Ayre e escova endocervical. O material foi imediatamente fixado após a coleta com polietilenoglicol e corado pelo método de Papanicolaou.

O kit utilizado para identificação por hibridização reversa foi *Linear Array HPV Genotyping Test* (Roche Molecular Systems) inclui apenas 37 sondas para diferentes tipos de HPV de alto e baixo risco oncogênicos o que pode ter limitado a identificação de outros tipos de HPV¹⁶.

Para investigar fatores associados à infecção por HPV realizou-se análise univariada, o teste de qui-quadrado de Pearson, e alguns casos foi feito a correção de Yates, o nível de significância foi de 5%.

Para análise multivariada utilizou-se a regressão logística. Considerou-se como variável a infecção por HPV e as variáveis estatisticamente significantes no teste qui-quadrado como variáveis explicativas. O método *backwards* foi realizado para seleção das variáveis. Foram calculados os respectivos intervalos de confiança de 95%.

Este estudo é parte integrante da pesquisa “Alterações morfológicas, tipos de HPV e carga viral em mulheres quilombolas” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário – CEP/HUUFMA com o Parecer Nº 233/2011.

Resultados

Foram incluídas 150 amostras da cérvix de mulheres para citologia oncológica e detecção de HPV. A prevalência da infecção genital por HPV em todas as 150 amostras foi de 10,6%. Ao estratificar a prevalência de HPV nos diferentes grupos etários, observou-se positividade em: 10,2% (abaixo de 30 anos), 8,6% (31-45 anos), 12,3% (acima de 45 anos). Nas demais variáveis demográficas como escolaridade, as mulheres apresentaram maior número (96) com ensino fundamental e (9) 9,3% com vírus HPV. Em relação ao número de parceiros houve maior prevalência nas mulheres

que tiveram 1 a 2 (111), 8 (7,2%) estavam contaminadas pelo vírus HPV. Observou-se que na associação demográfica comportamental e reprodutiva com o vírus HPV não houve associação estatisticamente significativa para nenhuma das variáveis. Os resultados citológicos revelaram-se 138 (92%) inflamatório, e 12 (8%) com alterações citológicas (Tabela 1).

Tabela 1 - Variáveis demográficas, comportamentais e reprodutivas de mulheres Quilombolas portadoras de HPV. São José de Ribamar - MA. 2012.

Variável	HPV+N/N	HPV+(%)	p
Idade (anos)			
< 30	4/39	10,2	0,8988
31-45	4/46	08,6	
> 45	8/65	12,3	
Escolaridade			
Analfabeto	2/12	16,0	0,7825
Fundamental	9/96	09,3	
Médio	4/37	10,8	
Superior	1/5	20,0	
Nº de parceiros			
1 a 2	8/111	07,2	0,0206
Mais de 2	8/39	20,5	
Início da Atividade Sexual			
< 16	8/62	12,9	0,4564
> 16	8/88	09,0	
Uso de contraceptivo			
Não	11/103	10,6	0,9939
Sim	5/47	10,6	
Papanicolau			
Sim	14/130	10,7	0,7784
Não	2/20	10,0	

Tabela 2 - Distribuição da infecção pelo HPV de acordo com a faixa etária em mulheres Quilombolas. São José de Ribamar - MA. 2012.

Faixa etária	Detecção do HPV				Total (%)	p
	Negativo		Positivo			
	n	%	n	%		
<30 anos						
Inflamatório	34	094,4	02	05,5	099,9	<0,0001
ASC-US	01	100,0	-	-	100,0	
LSIL	-	-	-	-	-	
ASC-H	-	-	-	-	-	
HSIL	-	-	02	100,0	100,0	
31-45 anos						
Inflamatório	38	092,6	03	07,3	099,9	0,3216
ASC-US	01	100,0	-	-	100,0	
LSIL	01	100,0	-	-	100,0	
ASC-H	01	050,0	01	50,0	100,0	
HSIL	01	100,0	-	-	100,0	
>45 anos						
Inflamatório	54	088,5	07	11,4	099,9	0,2285
ASC-US	02	100,0	-	-	100,0	
LSIL	-	-	-	-	-	
ASC-H	-	-	-	-	-	
HSIL	01	050,0	01	50,0	100,0	

O grupo de mulheres acima de 45 anos apresentou maior associação das lesões cervicais, total de 8 com o vírus HPV, sendo 7 inflamatória e 1 com lesão de alto grau HSIL. A faixa etária de 31 a 45 anos apresentou 4 lesões não associadas ao HPV, duas de baixo grau, ASC-US e LSIL e duas de alto grau ASC-H e HSIL, e um lesão de alto grau ASC-H associada ao HPV. As mulheres com menos de 30 anos apresentaram 4 com o vírus HPV, sendo 2 inflamatório e 2 com lesões de alto grau do tipo HSIL, notando-se que esta associação foi estatisticamente significativa para a faixa etária (Tabela 2).

Todas as 150 amostras de colo de útero foram analisadas utilizando-se o ensaio Linear Array HPV por Hibridização reversa em pontos. Dentre as amostras de mulheres positivas para o HPV, $n = 16$ amostras (10,6%), foram encontrados 14 tipos de HPV, sendo o mais prevalente o HPV 58 (25%), seguido pelos tipos 52 (18,7%), tipo 73 (12,5%), os demais tipos 84, 72, 70, 68, 66, 62, 59, 56, 54, IS39 e 33 todos com (6,25%) cada (Figura 1).

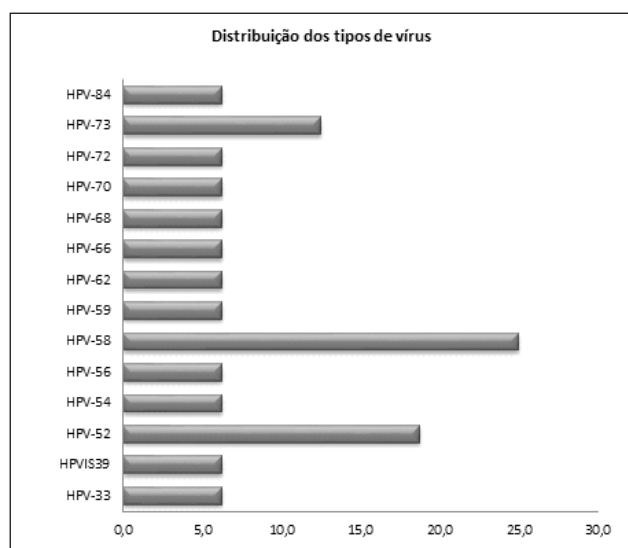


Figura 1 - Distribuição da infecção por diferentes tipos de HPV, em mulheres Quilombolas. São José de Ribamar - MA. 2012.

Discussão

A prevalência genital por HPV neste estudo foi de 10,6%, para ambos os tipos virais. Estes achados estão de acordo com a literatura que relata prevalência de 10% a 20% de HPV em populações urbanas¹⁷. Resultado semelhante foi identificado em estudo realizado no município de Campinas (SP), por Captura Híbrida, sendo que a prevalência de HPV em mulheres com citologia normal foi de 14,3%¹⁷.

Dentre os tipos de HPV encontrados neste estudo verificou-se maior prevalência do vírus tipo 58 (25%), considerado de alto risco oncogênico. Estudos realizados na Ásia e na América do Sul demonstraram que este tipo de HPV é o terceiro mais prevalente, ficando atrás apenas dos tipos 16 e 18¹⁸, entre as mulheres africanas, o segundo genótipo de alto risco mais comuns foram os HPV 58 (9,4%), HPV 33 (6,3%) e HPV 56 (6,3%)¹⁹.

Os tipos de HPV de alto risco oncogênicos diferem muito entre si em relação ao potencial carcinogênico individual. Além disso, a prevalência desses tipos

varia de acordo com a região geográfica analisada²⁰.

Estudos anteriores têm demonstrado que o HPV 52 foi o tipo mais prevalente no Leste da Ásia e um dos mais comumente encontrado nas populações em Hong Kong e Shenzhen City^{21,22}. No presente estudo o HPV 52 foi segundo mais prevalente.

A prevalência da infecção genital por HPV apresenta grande variação conforme a região geográfica estudada. Isto se deve a vários fatores que incluem: o desenho do estudo, a sensibilidade do teste empregado para detecção viral, os tipos virais pesquisados e os padrões sexuais socialmente aceitos. Além disso, deve-se considerar a efetividade dos programas de rastreamento do câncer cervical no diagnóstico e tratamento das mulheres com lesões induzidas²³. O presente estudo, por ser transversal, não permitiu diferenciar infecção incidente da infecção persistente por HPV. Entre as participantes com mais de 45 anos, 8 apresentaram HPV positivo.

Estudos realizados na América Latina detectaram associação entre risco de câncer cervical e os seguintes hábitos sexuais como: número de parceiros e início da atividade sexual²⁴. No presente estudo sobre fatores comportamentais, 16 mulheres com mais de dois parceiros iniciaram as atividades sexuais com menos de 16 anos. No entanto, essas duas variáveis não apresentaram associação estatisticamente significativa com a infecção por HPV.

As alterações citológicas detectadas nos esfregaços cervicais foram semelhantes as frequências aproximadas de 1% a 5%, encontradas por Nobre e Lopes Neto²⁵, no Amazonas e outras que variaram de 2% a 9% relatadas em mulheres atendidas pela rede SUS rede pública no município de Patos de Minas (MG)²⁶ e município de São Luís (MA)²⁷.

Os casos de alterações citopáticas relacionados ao Papilomavírus Humano estavam associados ao processo inflamatório e lesões de alto grau.

Em relação à distribuição da infecção por HPV nos resultados citológicos observou-se estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) nas mulheres com menos de 30 anos.

Para adquirir o vírus do Papilomavírus humano é necessário que a mulher esteja predisposta a fatores de risco, como início precoce da atividade sexual, número de parceiros sexuais e promiscuidade do parceiro sexual. Também são considerados fatores de risco o número de partos, o uso de contraceptivo oral, tabagismo, imunossupressão ou imunodeficiência, Doenças Sexualmente Transmissíveis e outros.

Os resultados mostraram que o HPV 58 foi o tipo mais prevalente seguido pelos tipos 52 e 73. A população estudada com fatores de risco para o HPV, foi constituída por mulheres que iniciaram a atividade sexual com menos de 16 anos de idade e tiveram mais de dois parceiros, não faziam uso de contraceptivos e já realizaram exame de Papanicolaou. Mulheres com menos de 30 anos com diagnóstico de HSIL, associada ao HPV, apresentaram estatisticamente mais risco para desenvolver lesões cervicais de alto grau. Não houve associação estatisticamente significativa na associação do HPV e lesões cervicais nas demais faixas etárias 30 a 45 anos e acima de 45 anos.

Referências

- Muñoz N, Bosch FX, Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, *et al.* Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med*, 2005; 348(6): 518-527.
- Hoory T, Monie A, Gravitt P, Wu TC. Molecular epidemiology of Human Papillomavirus. *J Formos Med Assoc*, 2008; 107(3): 198-217.
- Bernard HU, Burk RD, Chen Z, Van Doorslaer K, Hausen H, De Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, 2010; 401(1): 70-79.
- Li W, Wang W, Si M, Han L, Gao Q, Luo A, *et al.* The physical state of HPV 16 infection and its clinical significance in cancer precursor lesion and cervical carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2008; 134(12): 1355-1361.
- Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 2011; 6(10): e25493.
- Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 Consensus Guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol*, 2007; 197(4): 346-355.
- De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, *et al.* Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*, 2010; 11(11): 1048-1056.
- Kaneshima EM, Suzuki LE, Irie MMT, Yoshida CS, Silva SFM, Consolaro MEL. Importância da aplicação de critérios morfológicos não-clássicos para o diagnóstico citopatológico de Papillomavirus Humano (HPV) previamente detectado por PCR. *Acta Bioquím Clin Latinoam*, 2005; 39(1): 61-68.
- Cong X, Cox DD, Cantor SB. Bayesian meta-analysis of Papanicolaou smear accuracy. *Gynecol Oncol*, 2007; 11(107): S133-S137.
- Anjos SJSB, Vasconcelos CTM, Franco ES, Almeida PC, Pinheiro AKB. Fatores de risco para o câncer de colo de útero segundo resultados de IVA, citologia e cervicografia. *Rev Esc Enferm USP*, 2010; 44(4): 912-920.
- Sideri M, Igidbashain S, Boverí S, Radice D, Casadio C, Spolti N, *et al.* Age distribution of HPV genotypes in cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecologic Oncology*, 2011; 121(3): 510-513.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância de Câncer. Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2012.
- PASS 11 Hintze, J. (2012). NCSS 8. NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA. www.ncss.com.
- Cardoso RLS. *Vulnerabilidades às DSTs/Aids entre jovens de uma comunidade quilombola do município de Turiaçu-MA*. Dissertação de Mestrado, São Luís: Universidade Federal do Maranhão - UFMA, 2011. 84 p.
- Dalstein VS, Merlin C, Bali M, Saunier R, Dachez CR. Analytical evaluation of the Papillo Check, a new commercial DNA chip for detection and genotyping of human papillomavirus. *J Virol Methods*, 2009; 156(1-2):77-83.
- Gutiérrez-Xicoténcatl L, Plett-Torres T, Madrid-González CL, Madrid-Marina V. Molecular diagnosis of human papillomavirus in the development of cervical cancer. *Salud pública Méx*, 2009; 51(Suppl. 3): 479-488.
- Rama CH, Syrjänen K, Derchain SFM, Aldrighi JM, Gontijo RC, Sarian LOZ, *et al.* Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. *Rev Saúd Públic*, 2008; 42(1): 123-130.
- Bae JH, Lee SJ, Kim CJ, Hur SY, Park YG, Lee WC. Human Papillomavirus (HPV) type distribution in Korean women: a meta-analysis. *J Microbiol Biotechnol*, 2008; 18(4): 788-794.
- Giovannelli L, Vassallo R, Matranga D, Affronti M, Caleca MP, Bellavia C, *et al.* Prevalence of cervical human Papillomavirus infection and types among women immigrated to Sicily, Italy. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2009; 88(6): 737-742.
- Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, De Sanjose S, Franceschi S, *et al.* Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer*, 2012; 131(10): 2349-2359.
- Chan PK, Cheung TH, Tam AO, Lo KW, Yim SF, Yu MM, *et al.* Biases in human papillomavirus genotype prevalence assessment associated with commonly used consensus primers. *Int J Cancer*, 2006; 118(1): 243-245.
- WU RF, DAI M, QIAO YL, Clifford GM, Liu ZH, Arslan A, *et al.* Human papillomavirus infection in women in Shenzhen City, People's Republic of China, a population typical of recent Chinese urbanization. *Int J Cancer*, 2007; 121(6): 1306-1311.
- Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero. Rio de Janeiro: INCA, 2011. Disponível em: www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Titulos/Nomenclatura_colo_do_uterio.pdf
- Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozetti MC, Silva FR, Silva BR. Papilomavirus e neoplasia cervical. *Cad Saude Publica RJ*, 2009; 25(5): 953-964.
- Nobre JCAA, Lopes Neto D. Avaliação de indicadores de rastreamento do câncer do colo do útero no Amazonas, norte do Brasil, de 2001 a 2005. *Rev Bras Cancerol*, 2009; 55(2): 213-220.
- Queiroz AMA, Cano MAT, Zaia JE. O papiloma vírus humano (HPV) em mulheres atendidas pelo SUS, na Cidade de Patos de Minas - MG. *Rev Bras Anal Clin*, 2007; 39(2): 151-157.
- Silveira LMS, Cruz ALN, Faria MS. Atipias cervicais detectadas pela citologia em mulheres atendidas em dois hospitais da rede pública de São Luis - MA. *Rev Bras Anal Clin*, 2008; 40(2): 115-119.