



**FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE**

**GEORGIANE NASCIMENTO LIMA**

**INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV):  
MÉTODOS DE DETECÇÃO COM ÊNFASE NA BIOLOGIA  
MOLECULAR**

ARIQUEMES – RO

2013

**GEORGIANE NASCIMENTO LIMA**

**INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV):  
MÉTODOS DE DETECÇÃO COM ÊNFASE NA BIOLOGIA  
MOLECULAR**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, como requisito parcial a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Ms. Fábiana Maria Pereira de Sá

ARIQUEMES – RO

2013

**Georgiane Nascimento Lima**

**INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV):  
MÉTODOS DE DETECÇÃO COM ÊNFASE NA BIOLOGIA  
MOLECULAR**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, como requisito parcial a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Ms. Fábiana Maria Pereira de Sá  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

---

Prof<sup>a</sup>. Esp. Viviane Guimarães Silva  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

---

Prof. Esp. Jonas Canuto da Silva  
Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA

Ariquemes, 06 de junho de 2013.

*Aos meus pais Osvaldo e Maria pelo apoio em todos os momentos de minha vida.*

*Ao meu esposo Robson e meu filho Gabriel que me apoiaram sempre.*

*A meus amigos que me deram força e sempre estiveram comigo.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus por te me dado forças em todos os momentos em que pensei em desistir, por ter me guiado me ensinado o caminho certo a seguir.

Ao meu esposo Robson por ter me dado esta oportunidade de estudar, pelo carinho e paciência durante estes quatro anos e meio.

Ao meu filho Gabriel peço perdão pelos momentos de ausência.

Aos meus pais, meu tudo, minha fortaleza, que me ensinaram desde cedo a nunca desistir dos meus objetivos mesmo que encontrasse muitas pedras no caminho, pelo amor e apoio que me deram ao longo desta minha caminhada.

Agradeço a minha irmã Gigliane, meu irmão Adriano e cunhada Miriam que me ajudaram nos momentos de estagio cuidado do meu filhote Gabriel.

A todos(as) amigos(as) que de uma forma ou de outra contribuíram um pouquinho para esta minha conquista.

As minhas queridas amigas Adriana Martins e Nelimar Spadotto pelos momentos de força, por sempre estarem comigo nesta caminhada e agora nesta conquista.

A Érica Mello, Aline Marques amigas pelos momentos de apoio.

A minha professora e orientadora, Ms. Fábيا Maria Pereira de Sá, por sua paciência e compreensão e pelas orientações precisas em todos os momentos solicitados, e acima de tudo pela amizade que construímos.

A todos os professores que me deram aula durante estes quatro anos e meio.

Ao professor e coordenador do curso de Farmácia Nelson Pereira da Silva Júnior pelo companheirismo.

Aos professores da banca examinadora pelas correções e sugestões.

E por fim a todos que contribuíram direta ou indiretamente, para que esse trabalho fosse realizado.

## RESUMO

O câncer de colo uterino é o segundo câncer que mais acomete mulheres no Brasil e no mundo, com maior incidência em países subdesenvolvidos do que em países desenvolvidos e em desenvolvimento. A detecção e o diagnóstico precoce é uma importante ferramenta na prevenção do câncer de colo uterino. O objetivo deste trabalho foi discorrer sobre as características da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), com ênfase nos métodos de biologia molecular para detecção do vírus. Para tanto, realizou-se revisão de literatura com pesquisa de artigos científicos em plataformas *online*, como Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO) e Google Acadêmico. A infecção pelo vírus do HPV está entre os fatores principais para o desenvolvimento de câncer de colo uterino, no entanto, não é o suficiente para que ocorra a lesão neoplásica. Papilomavírus Humano (HPV) são vírus pertencentes à família *Papillomaviridae*, não envelopados que apresentam simetria icosaédrica e DNA de fita dupla. São vírus que infectam seres humanos, causando infecções na pele e mucosa, replicando-se no núcleo das células epiteliais. O diagnóstico de infecção por HPV é feito através de métodos como o exame de papanicolau, colposcopia, biopsia e através de técnicas de biologia molecular como: *Southern blot*, *Dot blot*, Hibridização *in situ* e PCR. Existem diversos tipos de tratamento para o câncer de colo uterino, desde medicações tópicas como: Ácido Tricloroacético e 5 - Fluorouracil, até métodos de criocirurgia e excisão cirúrgica. E pode ser prevenido com o uso de vacinas profiláticas, do tipo bivalente e tetravalente, produzidas a partir da proteína L1 do capsídeo viral através de tecnologia do DNA recombinante.

**Palavras-chave:** Papilomavírus Humano, Câncer de colo de útero, Biologia molecular, Exame Papanicolau, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

## ABSTRACT

Cancer of the cervix is the second most cancer that affects women in Brazil and the world, with the highest incidence in developing countries than in developed countries and developing countries. The detection and early diagnosis is an important tool in the prevention of cervical cancer. The aim of this study was to address the characteristics of the Human Papillomavirus (HPV), with emphasis on molecular biology methods for detection of viruses. Therefore, we carried out a literature review with research papers online platforms such as Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Scientific Electronic Library Online (SciELO) and Google Acadêmico. Infection with HPV is among the main factors for the development of cervical cancer, however, is not enough to prevent the neoplastic lesion. Human Papillomavirus (HPV) belonging to the family Papillomaviridae, presenting non-enveloped icosahedral symmetry and double stranded DNA. Are viruses that infect humans, causing infections of the skin and mucosa replicate in the nucleus of epithelial cells. The diagnosis of HPV infection is done through methods such as the Pap smear, colposcopy, biopsy and through molecular biology techniques such as Southern blot, dot blot, in situ hybridization and PCR. There are several types of treatment for cervical cancer, since topical medications such as Trichloroacetic Acid and 5 - Fluorouracil until methods cryosurgery and surgical excision. It can be prevented with the use of prophylactic vaccines, the kind bivalent and tetravalent produced from the viral capsid protein L1 via recombinant DNA technology.

**Keywords:** Human Papillomavirus, Cervical cancer, Molecular biology, Pap Test, Polymerase Chain Reaction (PCR).

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Representação esquemática do genoma do HPV.....	15
Figura 2	- Replicação do HPV nas células epiteliais.....	17
Figura 3	- Reação da técnica de Hibridização <i>In Situ</i> .....	20
Figura 4	- Demonstração do método de <i>Southern Blot</i> .....	21
Figura 5	- Demonstração do método de <i>Dot Blot</i> .....	21
Figura 6	- Processo da reação em cadeia da polimerase - PCR.....	23
Figura 7	- Resultado final da reação em cadeia da polimerase - PCR.....	24

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HPV	Papilomavírus Humano
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
RNA	Ácido Ribonucleico
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde
SCIELO	<i>Scientific Eletronic Library Online</i>
LCR	Região Longa de Controle
ASC-US	Células Atípicas de Significado Indeterminado
NIC	Neoplasia Intraepitelial Cervical
HIS	Hibridização <i>In Situ</i>
pRb	Proteína de Retinoblastoma

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
<b>3.0 METODOLOGIA.....</b>	<b>13</b>
<b>4.0 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
4.1 BIOLOGIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO .....	14
4.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE O HPV E O CÂNCER CERVICAL.....	15
4.3 TRANSMISSÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO.....	16
4.4 DIAGNÓSTICO.....	18
<b>4.4.1 Exame de papanicolau.....</b>	<b>18</b>
<b>4.4.2 Biologia molecular.....</b>	<b>19</b>
4.4.2.1 Hibridização <i>in situ</i> .....	19
4.4.2.2 Método de <i>southern blot</i> .....	21
4.4.2.3 Método de <i>dot blot</i> .....	21
4.4.2.4 Captura hídrica.....	22
4.4.2.5 Reação em cadeia da polimerase - PCR.....	23
4.5 TRATAMENTO DA INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO.....	24
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>26</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>

## INTRODUÇÃO

Papilomavírus Humanos (HPV) são vírus pertencentes à família Papillomaviridae e são considerados como um dos principais causadores de lesões intraepiteliais escamosas e do câncer cervical. (WOLSCHICK et al., 2007).

O câncer invasor do colo do útero continua sendo o segundo câncer mais frequente entre mulheres no mundo. No Brasil, é a neoplasia maligna que mais acomete o trato genital feminino. (GUARASI et al., 2004).

Estudos epidemiológicos constataram que a infecção pelo vírus HPV não é o suficiente para ocorrência do câncer de colo do útero. (AYRES et al., 2010), fatores como: o nível econômico, idade precoce na atividade sexual, vários parceiros, tabagismo, também são considerados fatores predisponentes para o desenvolvimento do câncer de colo de útero. (GUARASI et al., 2004).

O combate ao câncer de colo de útero obteve grandes avanços após a confirmação do papel etiológico do vírus HPV sobre a doença. O controle do câncer cervical pode ainda ser feito por meio de detecções de lesões precursoras e seu tratamento. A associação do vírus HPV com o câncer de colo de útero teve início em 1949 quando o patologista George Papanicolau introduziu o exame que levou seu nome. Este exame permitiu a detecção de alterações celulares pré-malignas que posteriormente pudessem desenvolver o câncer de colo de útero. (NAKAGAWA et al., 2010).

O HPV é transmitido por relação sexual, mas também pode ser transmitido por via oral. A maioria das infecções por HPV são assintomáticas e apenas 10% dos pacientes desenvolvem lesões ou displasias. (PINCIANATO et al., 2009). O método mais simples de prevenção do câncer cervical é através do exame Papanicolau. No entanto, vêm sendo apontados índices não-ideais de sensibilidade no preparo convencional, com variações entre 50%-60%. (TULIO et al., 2007).

A prevalência de HPV nas mulheres varia de 2 a 44%, estima-se que 50% a 80% das mulheres com vida sexual ativa estão infectadas por este tipo de vírus. (ROCHA et al., 2010).

A identificação e avaliação do risco de desenvolvimento do câncer de colo de útero pela infecção do vírus HPV vem sendo feita através de testes de biologia molecular. Entre estes testes destacam-se: Hibridização *in situ*, *Southern blot*, *Dot*

*blot*, captura hídrica e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). (WOLSCHICK et al., 2007). A PCR é considerada de alta sensibilidade, sendo capaz de identificar níveis baixos de carga viral das células e tecidos. (LIMA et al., 2011).

O tratamento da infecção pelo HPV pode ser realizado tanto por meios químicos como através do uso de ácido tricloroacético e podofilina, por métodos físicos, através de excisão cirúrgica e criocirurgia, e ainda pelo o uso de drogas citotóxicas, como 5- Fluorouracil, por exemplo. (MARANA et al., 1999). Em relação aos métodos profiláticos, atualmente estão disponíveis dois tipos de vacinas, a quadrivalente e a bivalente. (BORSSATO et al., 2011).

Através do exposto, ressalta-se, portanto, a importância do conhecimento dos métodos de detecção deste agente infeccioso, já que está relacionado a problemas graves de saúde pública.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Discorrer sobre as características da infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), com ênfase nos métodos de biologia molecular para detecção do vírus.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comentar sobre aspectos biológicos do HPV;
- Relatar a associação entre a infecção pelo HPV e o câncer de colo uterino;
- Descrever os métodos de biologia molecular empregados para a detecção do HPV.
- Comentar sobre o tratamento das infecções sobre HPV.

### 3 METODOLOGIA

Este trabalho é do tipo revisão de literatura e para isto realizou-se pesquisa de artigos científicos em plataformas *online*, como Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO) e Google Acadêmico. Além disso, foram consultadas dissertações publicadas com os principais conceitos e termos relacionados à pesquisa, bem como livros da área. Na pesquisa do material literário empregou-se os seguintes descritores: Papilomavírus Humano, Câncer de colo de útero, Biologia molecular, Exame Papanicolau, Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 BIOLOGIA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)

Os HPV são vírus que pertencem à família *Papillomaviridae*, não envelopados e que apresentam simetria icosaédrica, tendo um capsídeo composto por 72 capsômeros e um genoma de ácido desoxirribonucleico (DNA) de dupla fita circular, com aproximadamente 8.000 pares de bases. (FERRAZ et al., 2012). São vírus que infectam seres humanos, causando infecções na pele e mucosa e sua replicação ocorre no núcleo de células escamosas epiteliais. (LETO et al., 2011).

Os diferentes tipos de HPV são classificados conforme o risco oncogênico em de baixo risco, como os tipos 6 e 11, e ainda os de alto risco, destacando-se os tipos 16 e 18. (PASSOS et al., 2008). Os diferentes tipos de vírus variam no seu tropismo tecidual e estão relacionados a diferentes tipos de lesões e potencial oncogênico. (WOLSCHICK et al., 2007).

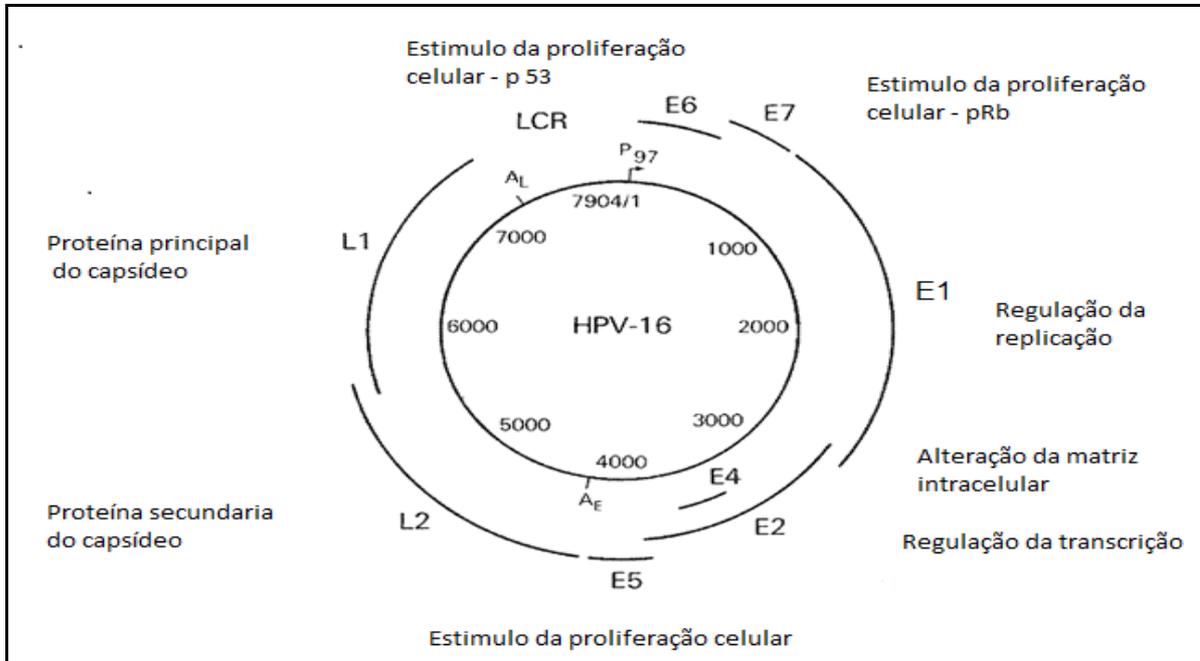
Os HPV são reconhecidos como o principal causador de neoplasias do colo uterino. Já foram descritas mais de 200 espécies de HPV, os quais são distintos pela sequência de DNA. Dentre os tipos que acometem seres humanos, existem mais de 100 espécies, das quais 50 acometem a mucosa do aparelho genital. (NAKAGAWA et al., 2010).

Os tipos 5,11,42,44,70 e 73 são classificados como de baixo risco, e os tipos 16,18,31,33,34,35,39,45,51,52,56,58,59,66 e 68 são classificados como de alto risco oncogênico, estando associados a lesões intraepiteliais. (SILVA et al., 2006).

O HPV possui um genoma com 8 regiões (Figura 1), classificadas como fases de leitura aberta (*Open Reading Frames*) e uma região não-codificadora. As chamadas fases de leitura aberta são classificadas em três regiões. (FERRAZ et al., 2012).

A região (E) denominada precoce e codifica várias proteínas (E1, E2, E4, E5, E6 e E7) que regulam a transcrição e a replicação viral bem como o controle do ciclo celular, assim, o vírus tem a capacidade de transformar e imortalizar as células do hospedeiro. Na região (L), denominada tardia, localiza-se os genes L1 e L2 e a sequência destes genes é altamente conservada nos vírus HPV. (CAMARA et al., 2000?).

A região LCR está localizada entre L1 e E6 e possui de 500 e 1.000 pares de bases. São bem conservadas entre os HPV, estando envolvidas na expressão gênica e na replicação viral. (LETO et al., 2011).



**Figura 1** – Representação esquemática do genoma do HPV

Fonte: Adaptado de Bringhenti et al. (2010)

As proteínas E6 e E7 estão relacionadas com a carcinogênese mediada pelo HPV. Acredita-se que ocorra uma interação da proteína E6 com as proteínas p53, e E7 com a pRb, ocasionando a desregulação do ciclo celular, pois estas proteínas atuam na prevenção da transformação celular, e interrompe sua divisão e proliferação. (RIVOIRE et al., 2006).

#### 4.2 ASSOCIAÇÃO ENTRE HPV E CÂNCER DE COLO DE ÚTERO

O câncer de colo de útero é o segundo câncer que mais acomete mulheres no Brasil e no mundo, com maior incidência nos países subdesenvolvidos em relação a países desenvolvidos e em desenvolvimento, devido, principalmente, a programas de rastreamento, através do exame Papanicolau. (ROCHA et al., 2010).

Programas de diagnóstico precoce do câncer do colo do útero, são importantes medidas de saúde pública, considerando que esta neoplasia é

precedida de lesões precursoras, que podem ser detectadas e tratadas reduzindo o risco de desenvolvimento do câncer de colo uterino. (BRINGHENTI et al., 2010).

A infecção pelo vírus HPV está entre os fatores principais para o desenvolvimento de câncer de colo uterino, no entanto a infecção pelo vírus é um fator necessário, mas não suficiente para que ocorra a lesão neoplásica. Embora o câncer uterino seja menos provável se não houver a presença do vírus. (SILVA et al., 2006).

Atualmente, esta comprovada a relação entre o HPV e o câncer de colo de útero, em cerca de 99% dos casos de câncer de colo de útero o DNA do HPV de alto risco é encontrado, porém fatores como: tabagismo, uso de contraceptivos orais, múltiplos parceiros e início precoce das atividades sexuais favorecem a persistência da infecção pelo HPV. (SILVA et al., 2006).

As infecções pelos vírus HPV, na maioria das vezes, são assintomáticas, sendo que uma pequena porcentagem desenvolvem verrugas ou displasias. Em pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), as manifestações clínicas são mais agressivas e com maior chance de ocorrer recidivas. (PINCINATO et al., 2009).

O número de mulheres portadoras do DNA do vírus HPV chega a 291 milhões em todo o mundo, e cerca de 105 milhões de mulheres serão infectadas pelo vírus HPV 16 e 18. A infecção pelo HPV de alto risco no Brasil é semelhante aos países subdesenvolvidos, com prevalência maior em mulheres na faixa de 35 anos. O grupo de risco são jovens sexualmente ativos, principalmente os que estão no início da atividade sexual, a infecção neste grupo é de 3 a 4 vezes mais do que em mulheres de 35 a 55 anos. (NAKAGAWA et al., 2010).

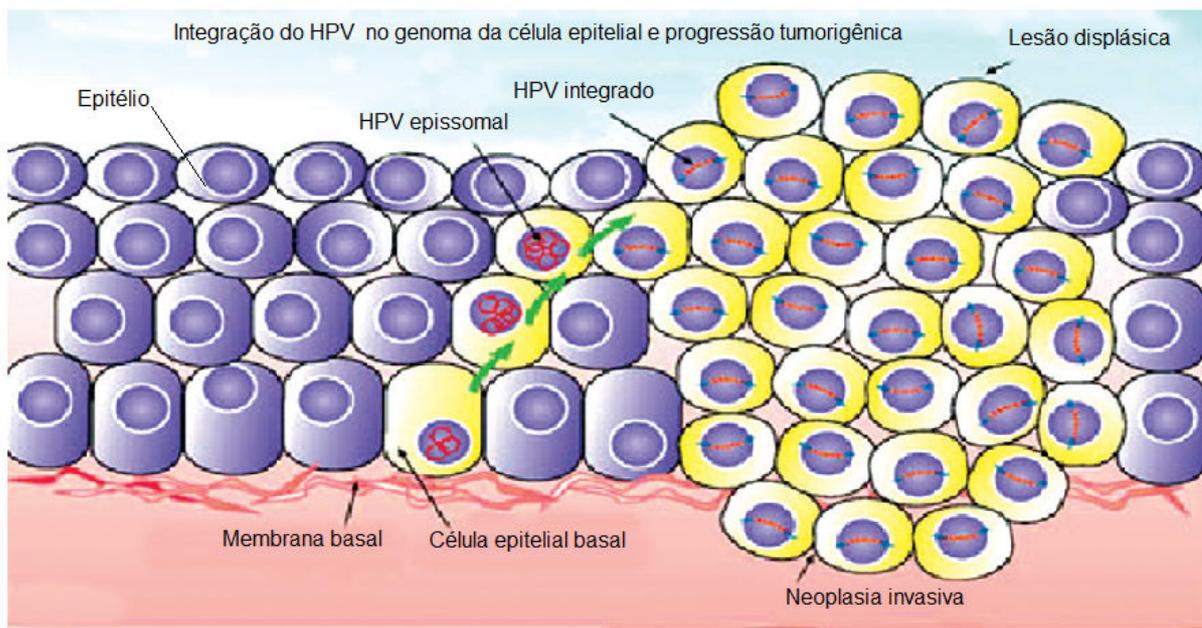
#### 4.3 TRANSMISSÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO

O HPV é transmitido preferencialmente através do contato sexual, cerca de 99,7% das neoplasias de colo de útero apresentam o DNA de HPV, mas apenas 1% das mulheres infectadas pelo vírus HPV apresentam risco de desenvolvimento de câncer. (DINIZ 2009.). O HPV pode ser transmitido através de contato direto ou indireto com o indivíduo que tem uma lesão. As barreiras epiteliais podem estar com suas funções danificadas devido a traumas e agressões, que provocam a perda de solução de continuidade da pele, facilitando a infecção viral. (LETO et al., 2011).

Frequentemente o vírus do HPV causa infecção em jovens no início da atividade sexual. Dos diversos tipos de vírus, cerca de 40 tipos, causam infecção no trato genital feminino. (RAMA et al., 2007). Podendo também ser transmitido de mãe para filho durante a gestação. (XAVIER et al., 2007).

Todos os tipos de vírus HPV têm tropismo pelas células do epitélio escamoso, a mucosa. É o local mais afetado, não apenas pelo tropismo do vírus a este tecido, mas pelo fato de este local ter maior probabilidade de sofrer microtraumas e ser uma região de contato permanente. (PASSOS et al., 2008).

O grau de oncogenicidade do vírus está totalmente ligado à atuação de seu genoma no núcleo da célula hospedeira, os HPV de baixo risco oncogênico tendem a conservar seu DNA íntegro, circular e epissomal, já os HPV de alto risco oncogênico geralmente se aderem ao DNA da célula hospedeira (Figura 2). (FERRAZ et al., 2012).



**Figura 2** – Replicação do Papilomavírus Humano nas células epiteliais

Fonte: Vidal et al. (2012)

As infecções por HPV, na maioria das vezes, são assintomáticas, sendo que em apenas 10% dos pacientes apresentam sintomas como lesões verrucosas ou displasias. (PINCINATO et al., 2009). A incubação do vírus varia de três semanas a oito meses após a inoculação e, na maioria dos casos, ocorre regressão espontânea. (LETO et al., 2011).

Nos dias de hoje, tem se dado grande importância ao estudo do HPV, devido à associação em lesões de cérvix uterina. É importante ressaltar que mulheres com maior risco de desenvolver uma infecção maligna em cérvix uterina são as portadoras dos HPV 16 e 18. (NORONHA et al., 1999). Foi a partir da década de 70 que o vírus HPV foi reconhecido como o principal fator etiológico de neoplasias de colo uterino sendo o genoma deste vírus encontrado no núcleo das células infectadas. (NAKAGAWA et al., 2010).

O mecanismo de infecção do HPV, quando está dentro da célula germinativa, pode ocorrer de duas formas: infecção produtiva, onde alguns genes presentes no vírus estimulam a mitose, resultando em lesões benignas, como por exemplo, os condilomas. E uma infecção não produtiva, onde não há produção de vírus, mas, ao entrar em contato com a camada germinativa e infectá-la, ocorre integração do genoma do vírus com o genoma do hospedeiro. (PASSOS et al., 2008).

#### 4.4 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR PAPILOMAVÍRUS HUMANO

##### 4.4.1 Exame Papanicolau

Em 1934, foi desenvolvido, por George Papanicolau, um teste chamado Papanicolau, que permitiu o diagnóstico do câncer de colo de útero através de análises de esfregaço cervical, sendo possível detectar a presença de células anormais na mucosa cervical. (ROCHA et al., 2010). Além disso, através do exame Papanicolau, é possível fazer uma inspeção visual, observando alterações no colo uterino. (FRANCO et al., 2008).

As alterações morfológicas encontradas no exame Papanicolau são diagnosticadas como: células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS) e NIC (graus I, II, e III). (TULIO et al., 2007). A prevenção do câncer ginecológico através de exames é uma técnica usada para diminuir os altos números de morte por câncer de útero, vagina e vulva ocasionados pelo vírus HPV. (QUEIROZ et al., 2005).

Não é possível fazer a detecção do vírus HPV por meio de cultura convencional, pois o vírus não cresce nesse meio e a detecção por métodos de sorologia apresentam limitações. (LETO et al., 2011).

A colposcopia também é uma ferramenta poderosa no diagnóstico de câncer de colo de útero, através deste exame é possível identificar possíveis alterações no epitélio, que são impossíveis de se ver a olho nu. (MUNHOZ et al., 2009).

A biopsia também é uma forma de diagnóstico, esse exame é feito com a retirada de um pedaço da lesão para análise, a indicação vai depender do aspecto e do local da lesão. (BRASIL, 2002).

#### **4.4.2 Biologia Molecular**

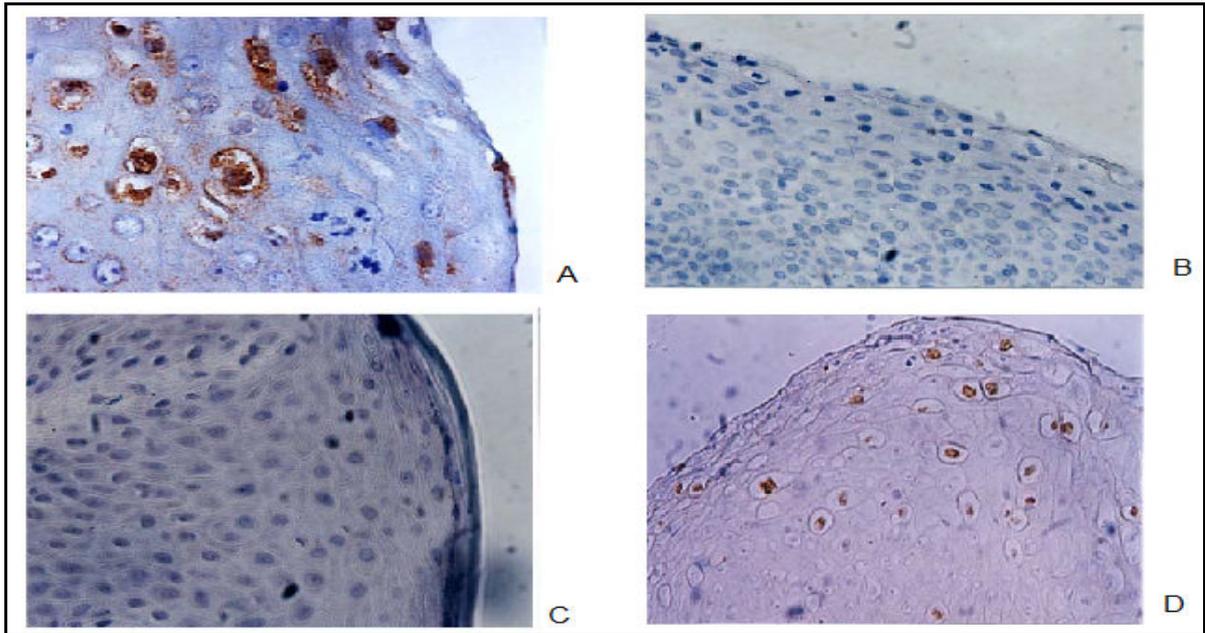
Os testes de biologia molecular vêm sendo usados como métodos de triagem na identificação do HPV em mulheres com risco de desenvolvimento do câncer uterino. (WOLSCHICK et al., 2007). Nos últimos 50 anos, o câncer de colo uterino vem sendo prevenido e diagnosticado através de técnicas tanto de baixa tecnologia, como o exame de visualização com ácido acético, como através de técnicas mais modernas, como as técnicas de biologia molecular. (BRAGAGNOLO et al., 2010)

As técnicas de biologia molecular são de grande importância na identificação do DNA do HPV, podendo se confirmar a existência da infecção, mesmo que não haja alterações morfológicas. Assim, pode-se avaliar, com muita antecedência, o risco de desenvolvimento do câncer de colo uterino. (WOLSCHICK et al., 2007).

Dentre estes métodos, os quais são classificados de acordo com sua sensibilidade, destacam-se: a Hibridização *in situ*, considerado de baixa sensibilidade; *Southern blot* e *dot blot*, de sensibilidade intermediária; e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e captura híbrida, de alta sensibilidade. (PIVA et al., 2008).

##### **4.4.2.1 Hibridização *in Situ***

Hibridização *in situ* (HIS) é uma técnica utilizada na detecção e localização do HPV na célula infectada. Ocorre a hibridização (ligação) de uma sonda específica (sequência curta de DNA) para um tipo de HPV, como por exemplo, tipo 16, e faz-se uma lâmina com a amostra previamente preparada com tampões específicos. E, através de uma reação de peroxidase, é possível a visualização de pontos amarronzados no núcleo celular, indicando a presença do HPV (Figura 3). (VIDAL et al., 2012).

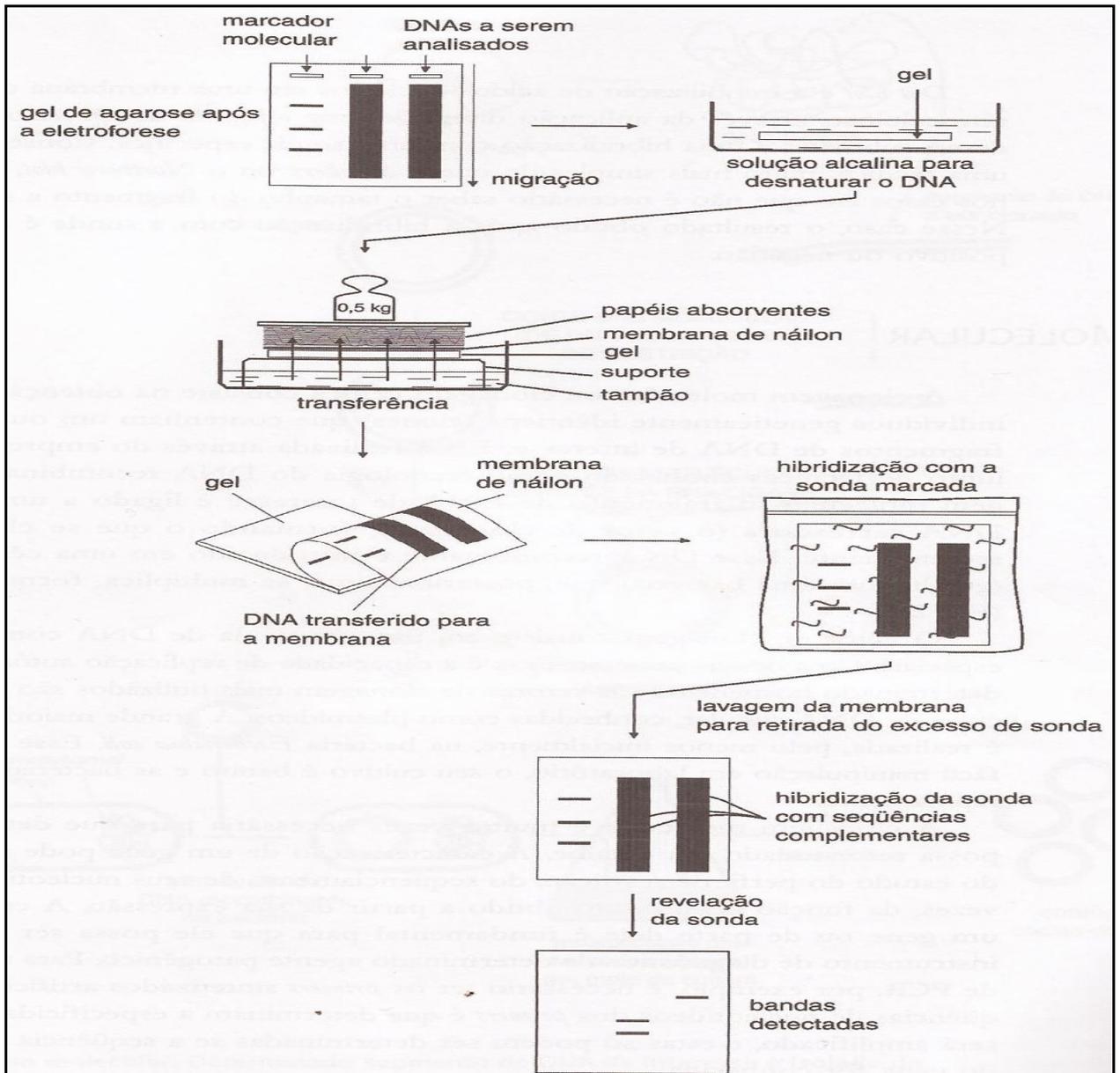


**Figura 3** – (A) Controle positivo da reação de HIS com sonda biotinilada para HPV, (B) Controle negativo da reação de HIS, (C) Controle de mucosa normal negativa (núcleos azuis) com sonda biotinilada para HPV 16 e 18, (D) Reação de HIS positiva com sonda biotinilada para HPV 16 e 18 (núcleos castanhos).

Fonte: Soares et al. (2002)

#### 4.4.2.2 Método de *southern blot*

O método *Southern blot* é bem específico na detecção do DNA viral. Pode ser feito através de fragmentos de biópsia ou esfoliação celular. No entanto, é uma técnica de alto custo e leva muito tempo. (MENDONÇA et al., 2005). Esta técnica consiste na extração do DNA e, após a extração, este é submetido a separação por eletroforese em gel de agarose, conforme velocidade de migração. (WOLSCHICK et al., 2007). Em seguida, sofre desnaturação e é transferido para uma membrana de nailon. Esta membrana é incubada com uma sonda específica, que, em seguida, é revelada conforme sua marcação. Os fragmentos de DNA que se hibridizarem com a sonda, por apresentarem sequência complementar a ela, são então detectados, confirmando, assim, a presença de HPV (Figura 4). (RODRIGUES 2006).

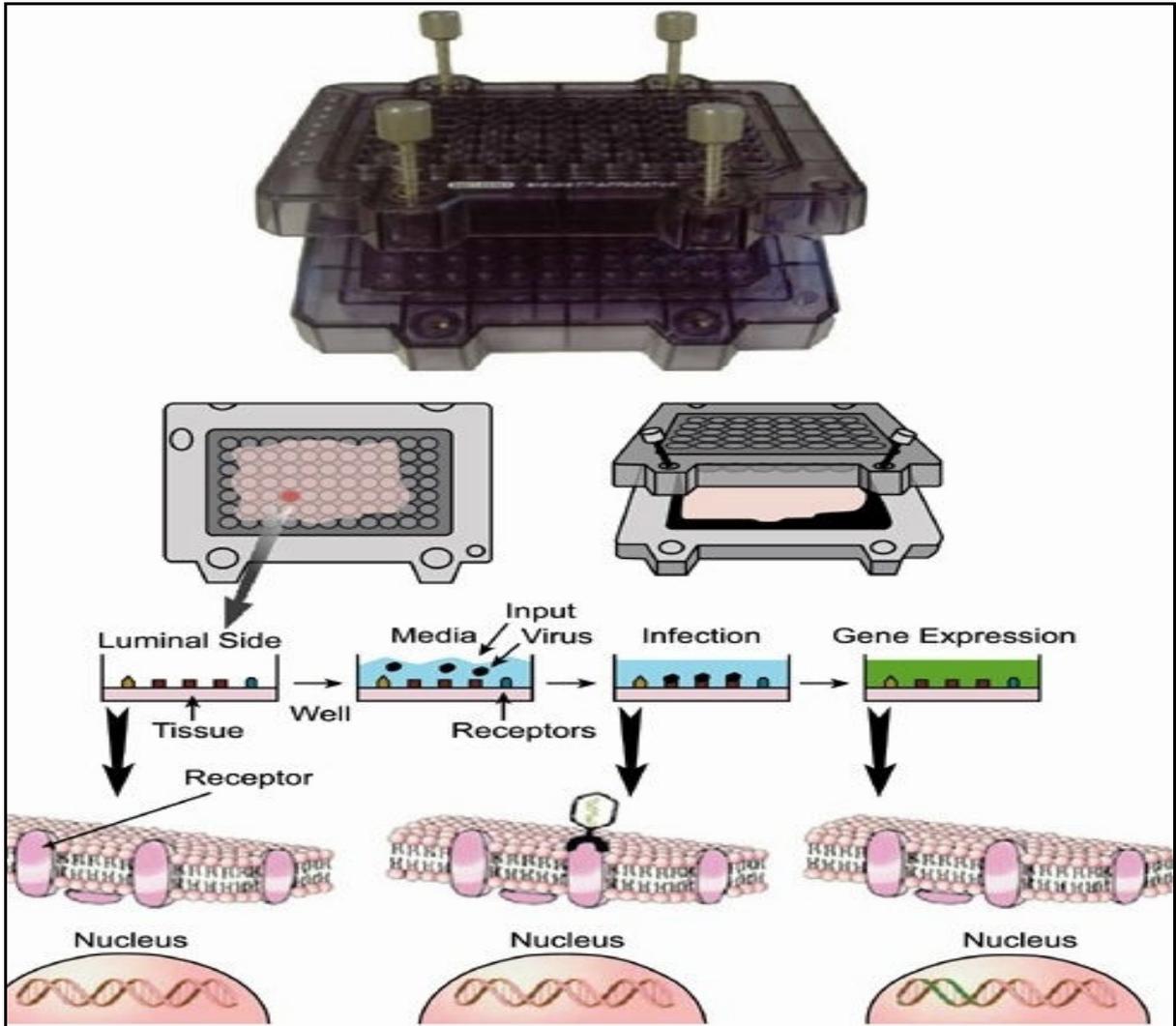


**Figura 4 – Demonstração da técnica Southern blot**

Fonte: Rodrigues (2006)

#### 4.4.2.3 Método de dot blot

Já o método *Dot blot* é considerado uma técnica trabalhosa, mas que apresenta boa sensibilidade e um bom diagnóstico. (LETO et al., 2011). Após extração do DNA aplica-se este em gotas sobre o filtro de netrocelulose onde são observados sinais típicos de hibridização após auto-radiografia (Figura 5). Este teste possibilita o exame de um grande número de amostras. (WOLSCHICK et al., 2007).



**Figura 5** – Demonstração da técnica *Dot blot*

Fonte: Arap et al. (2004)

#### 4.4.2.4 Captura hídrica

A captura hídrica é uma técnica molecular bastante específica que fornece a tipagem viral por grupos, permitindo avaliar a carga viral. Utiliza-se o genoma viral juntamente com sondas complementares e, em presença de partículas virais, ocorre formação de híbridos constituídos pelo DNA viral e sondas específicas (ROCHA et al., 2010).

Atualmente, o teste de captura hídrica II é muito utilizado. Este utiliza sondas de ácido ribonucleico (RNA) específicas para treze tipos de HPV de alto risco e cinco tipos de baixo risco. O resultado do teste não especifica o tipo de HPV presente na amostra, ele só indica se a amostra é positiva ou negativa, e se o vírus é de alto ou baixo risco. (VIDAL et al., 2012). O teste de captura hídrica I (primeira geração)

detecta HPV oncogênicos (16,18,31,33,35,45,51,52 e 56) e captura hídrica II (segunda geração) detecta quatro tipos de vírus adicionais (39,58,59 e 68). (ROCHA et al., 2010).

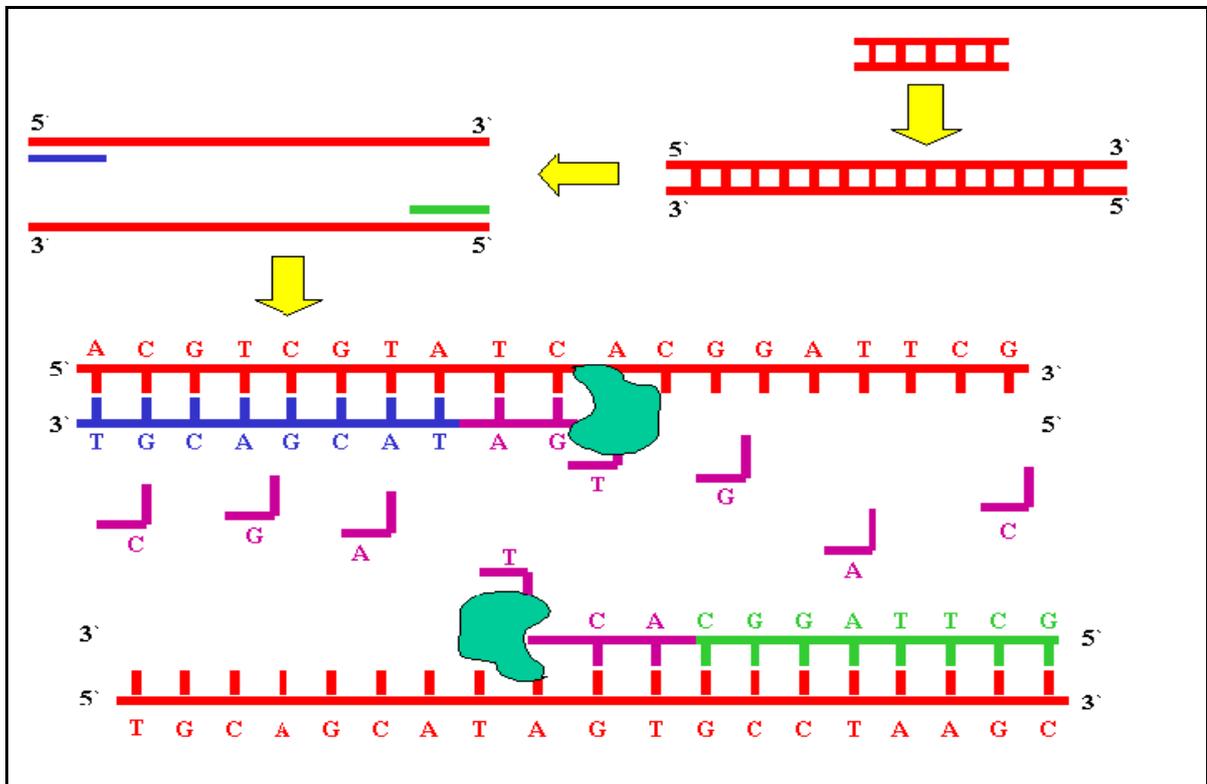
#### 4.4.2.5 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) é uma técnica criada em 1983 por Kary Mullins e que gerou grande impacto por ser de alta sensibilidade. (MENDONÇA et al., 2005). É uma das técnicas mais utilizadas atualmente na detecção do HPV devido a sua alta sensibilidade permitindo o uso de uma pequena quantidade de material. A PCR ocorre em três etapas, repetidas, em média de 25 a 30 ciclos. Cada etapa ocorre em temperatura adequada. As etapas são: desnaturação do DNA, que consiste na separação das fitas do DNA-molde em temperatura de aproximadamente 95°C; em seguida, com o DNA já desnaturado, os *primers*, com suas sequências de base complementar a região delimitada, liga-se à região de DNA que irá ser amplificada, ou seja, anela-se ao DNA-molde, esta etapa ocorre em baixa temperatura; a terceira etapa é a de extensão, a qual é feita pela ação de uma DNA-polimerase (Taq DNA-polimerase) que adiciona os desoxirribonucleotídeos as extremidades dos *primers* que estão pareados à fita do DNA-molde (Figuras 6 e 7). (RODRIGUES, 2006).

Os *primers* mais utilizados nas técnicas de PCR são os pares MY09/11, GP+5/+6 e o par de *primers* PGMY09/11. Estes *primers* podem ser utilizados na detecção da maioria dos tipos de HPV, pois são derivados do gene da proteína L1 viral, proteína encontrada no capsídeo dos vírus. Os *primers* MY09/11 e PGMY09/11 possuem 450 pares de base e os *primers* GP+5/+6 190 pares de base. (VIDAL et al., 2012).

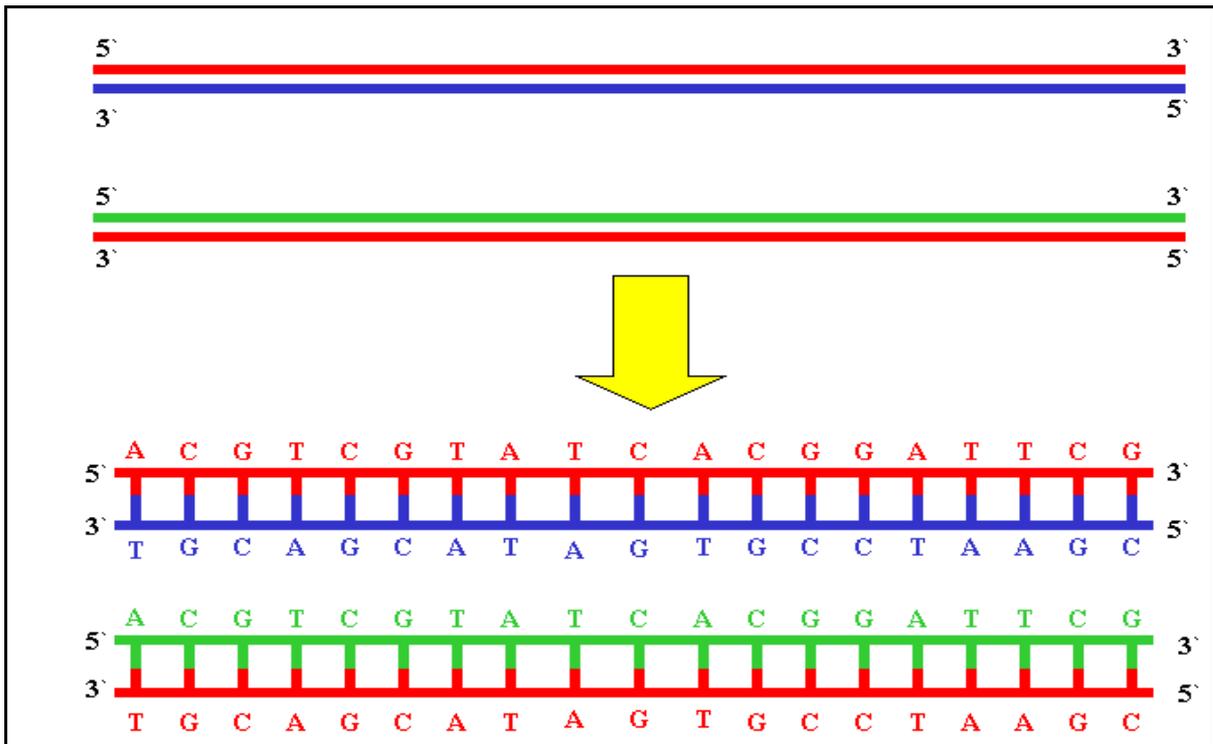
A PCR convencional utiliza apenas um dos pares de *primers*, citados acima para a detecção do HPV. (LIMA et al., 2011). É uma técnica rápida, barata e segura, que não necessita de muito espaço e utiliza um aparelho chamado termociclador. (OLIVEIRA, 2010). A PCR em tempo real consiste na quantificação do DNA de modo preciso, determinando os valores durante as fases de reação, através da emissão de compostos fluorescentes, que aumentam à medida que entram em contato com o produto da PCR. (NOVAIS, 2004).

No entanto, o método habitualmente utilizado para detecção de HPV genital é o *Nested* PCR utilizando o MY09/11 e GP5+/6+ *primers* conjuntos (MY/ GP+). (HAWS et al., 2004). *Nested*-PCR consiste em duas etapas: uma que é semelhante à PCR convencional, onde se utiliza um par de *primers* que amplifica uma região específica do DNA, resultando em fragmentos amplificados do gene escolhido; e a outra consiste na utilização de *primers* internos a esta região anteriormente amplificada. As amostras para análises são coletadas por raspagem da região cervical, utilizando escovas do tipo *cytobrush* e a extração do DNA se dá a partir de 500µL de secreção vaginal. (LIMA et al., 2011).



**Figura 6** Processo da reação de PCR. Desnaturação da fita molde e pareamento dos *primers*. Em verde a enzima que adiciona os nucleotídeos complementares a fita mãe.

Fonte: Brasil (2011)



**Figura 7** – Resultado final da reação de PCR. As duas fitas mães, pareadas com as fitas-filhas complementares, resultado da adição dos nucleotídeos pela DNA polimerase.

Fonte: Brasil (2011)

#### 4.5 TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO

Existem vários tipos de tratamento para o câncer de colo uterino, desde medicações tópicas até criocirurgia e excisão cirúrgica. Entre os medicamentos tópicos usados o ácido tricloroacético é bastante eficaz em lesões na mucosa. O 5-fluorouracil e a podofilina também são bastante usadas. (NADAL et al., 2004).

O uso de agentes tópicos, como Ácido tricloroacético de 50% a 90%, é indicado em lesões na mucosa vaginal e cervical, já a 5-fluoracida em creme é o tratamento de escolha nos casos de lesões com condilomas de grande extensão vaginal. O objetivo do tratamento é diminuir ou eliminar lesões causadas pela infecção e a forma de tratamento depende de vários fatores como: idade do paciente tipo, tamanho e localização da lesão. (BRASIL, 2002). O tratamento atual para o HPV é relacionado às condições clínicas, não podendo ser considerado um tratamento específico, pois não atua diretamente no vírus, mas sobre as lesões. (MARANA et al., 1999).

Geralmente, o tratamento de lesões intra-epiteliais pode ser feito através de técnicas ablativas, como crioterapia e vaporização a laser de CO<sub>2</sub>, sendo que a crioterapia possui um custo baixo e boa ação para lesões vulvares e cervicais. Através da vaporização a laser de CO<sub>2</sub> pode-se ter controle da profundidade da destruição tecidual e possui rápida cicatrização. (WOLSCHICK et al., 2007).

A radioterapia é uma técnica usada na fase evolutiva da doença, sendo capaz de destruir células tumorais através de feixes de radiações ionizantes, onde uma quantidade específica de radiação é aplicada a um determinado tempo e volume de tecido que engloba o tumor, buscando não atingir as células vizinhas normais. (ALMEIDA et al., 2008).

Vacinas funcionam como métodos profiláticos, atualmente estão disponíveis dois tipos de vacinas: a quadrivalente (Gardasil®) para os tipos (6,11,16 e 18) e a bivalente (Cervarix®) para os tipos (16 e 18). (SANTOS, 2011).

As vacinas, tanto a bivalente quanto a quadrivalente, são produzidas a partir da proteína L1 do capsídeo viral através de tecnologia de DNA recombinante e são constituídas de partículas semelhantes ao vírus que não possuem DNA, não sendo infectantes. (BORSATTO et al., 2011).

A vacina quadrivalente é indicada para mulheres com idade entre 9 e 26 anos, com o objetivo de prevenção de doenças causadas pelos vírus dos tipos: 6, 11, 16 e 18 de HPV, câncer cervical e verrugas genitais e para a prevenção de lesões pré-cancerígenas ou displásicas. (VESPA, 2006).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O câncer de colo uterino é uma neoplasia que acomete o trato genital feminino, tendo como principal agente causador o Papilomavírus Humano (HPV), vírus que se replica no interior das células epiteliais, sendo transmitido principalmente através de relações sexuais.

Para diagnóstico de infecções por HPV, emprega-se exames convencionais, como: Papanicolau, colposcopia e biopsia, bem como técnicas de biologia molecular como: *Southern blot*, *Dot blot*, Hibridização *In Situ*, Captura Hídrica e PCR.

Destaca-se a importância da criação de programas de incentivo ao rastreamento e diagnóstico precoce das lesões precursoras, para diminuir o risco de desenvolvimento do câncer de colo uterino.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. H. R. B. de; PEREIRA, Y. B. A. de S.; OLIVEIRA, T. A. de. Radioterapia: percepção de mulheres com câncer cérvico-uterino. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 61, n. 4, p. 482 - 487, Ago. 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034). Acesso em: 08 mai. 2013.
- ARAP, M. A. et al. Model of Unidirectional Transluminae Gene Transfer. **Molecular Therapy**, [S.l.], v. 9. n. 2. p. 306 - 310, February 2004. Disponível em: <http://www.nature.com/mt/journal/v9/n2/pdf/mt200440a.pdf>. Acesso em 15 mai. 2013.
- AYRES, A. R. G.; SILVA, G. A. Prevalência de infecção do colo do útero pelo HPV no Brasil: revisão sistemática. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 5 p. 963 - 974, Fev. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v44n5/1672.pdf>. Acesso em 09 dez. 2012.
- BORSSATO, A. Z.; VIDAL, M. L. B.; ROCHA, R. C. M. P. Vacina contra o HPV e a prevenção do câncer do colo do útero: subsídios para a prática. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro v. 57, n. 1, p. 67 - 74, Jan 2011. Disponível em: [http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_57/pdf/10\\_revisão\\_de\\_literatura\\_acina\\_hpv\\_prevencao\\_cancer\\_colo\\_uterio\\_subsidios.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_57/pdf/10_revisão_de_literatura_acina_hpv_prevencao_cancer_colo_uterio_subsidios.pdf). Acesso em 09 mai. 2013.
- BRAGAGNOLO, A. L.; ELI, D.; HAASS, P. Papiloma vírus humano (HPV). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S.l.] v. 42, n. 2, p. 91 - 96. jan., 2010. Disponível em: [http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac\\_42\\_02\\_03.pdf](http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac_42_02_03.pdf). Acesso em: 22 nov. 2012.
- BRASIL. Papilomavírus humano (HPV) diagnóstico e tratamento. **Federação Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia**, [S.l.] (Projeto e Diretrizes), 2002. Disponível em: <http://www.febrasgo.or.br/arquivos/diretrizes/> Acesso em: 22 nov. 2012.
- BRASIL. Técnicas de PCR: Aplicações e Padronização de Reações. **IPEN**, [S.l.] (Protologia-IMTSP/ Laboratório de Biologia Molecular), 2011. Disponível em: [http://www.fea.br/Arquivos/Biotecnologia/Material%20Prof%C2%AA%20Cristina%20-%20Biologia%20Celular/Principios\\_da\\_PCR.pdf](http://www.fea.br/Arquivos/Biotecnologia/Material%20Prof%C2%AA%20Cristina%20-%20Biologia%20Celular/Principios_da_PCR.pdf). Acesso 03 mai. 2013
- BRINGHENTI, M. E. Z et al. Prevenção do câncer cervical: associação da citologia oncológica a novas técnicas de biologia molecular na detecção do papilomavírus humano (HPV). **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, [S.l.] v. 22, n. 3, p. 135 - 140, 2010. Disponível em: <http://www.dst.uff.br/revista22-3-2010/PrevençãodoCancerCervical.pdf>. Acesso em: 06 mai. 2013.
- CAMARA, G. N. N. de L. et al. Os papilomavírus humanos – HPV: histórico, morfologia e ciclo biológico. **Universitas Ciências da Saúde**, [S.l.] v. 01, n. 01, p. 149 - 158, [2000?]. Disponível em: <http://www.publicacoesacademicas.uniceub.br>. Acesso em: 23 mar. 2013.

DINIZ, G. C. Vírus do Papiloma Humano (HPV): Aspectos Moleculares, Reação Imunológica do Hospedeiro e Bases do Desenvolvimento da Vacina. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, [S.l.] v. 01, n. 3, p. 114 - 120, 2009. Disponível em: <http://www.editoraufjf.com.br/revista/index.php/riee/article/view/953>. Acesso em: 27 mai. 2013

FERRAZ, L. de C; SANTOS, A. B. R; DISCACCIATI, M. G. Ciclo celular, HPV e evolução da neoplasia intra-epitelial cervical: seleção de marcadores biológicos. **J Health Sci Instituto**, [S.l.] v. 30, n. 2, p. 107 - 111, 2012. Disponível em: [http://www.unip.br/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2012/02\\_abr-jun/V30\\_n2\\_2012\\_p107-111.pdf](http://www.unip.br/comunicacao/publicacoes/ics/edicoes/2012/02_abr-jun/V30_n2_2012_p107-111.pdf). Acesso em: 05 mai. 2013.

FRANCO, E. S. et al . Critérios de positividade para cervicografia digital: melhorando a sensibilidade do diagnóstico do câncer cervical. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 11, p. 2653 - 2660, Nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/csp/v24n11/20.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2012.

GUARASI, R. et al. Rastreamento, Diagnóstico e Tratamento das Lesões Precursoras e do Câncer Invasor de Colo Uterino no Município de Franco da Rocha, SP. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S.l.] v. 50, n. 1, p. 7 - 15, 2004. Disponível em: [http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_50/v01/pdf/ARTIGO1.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_50/v01/pdf/ARTIGO1.pdf). Acesso em: 07 mai. 2013.

HAWS, A. L. F. et al. Nested PCR With the PGMY09/11 and GP5+/6+ primer set Improves Detection of HPV DNA in Cervical Samples. **Journal of Virological Methods**, [S.l.] v. 122 p. 87 - 93 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15488625>. Acesso em: 07 mai. 2013

LETO, M. das G. P. et al. Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogênia, biologia molecular e manifestações clínicas. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 2, p. 306 - 317 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abd/v86n2/v86n2a14.pdf>. Acesso em: 30 jan. 2013.

LIMA S. F. de L. J. et al. prevalência dos genótipos do papilomavírus humano: comparação entre três métodos de detecção em pacientes de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 33, n. 10, p. 315 - 320, ago/out 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-72032011001000](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-72032011001000). Acesso em: 02 mai.2013.

MARANA, H. R. C.; DUARTE, G. Q.; Silvana Maria. Fatores de risco para recidiva após tratamento de lesões provocadas pelo HPV no trato genital feminino. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 4, Mai. 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbgo/v21n4/12623.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2012.

MENDONÇA, L. M.; NETO, J. C. A. Importância da infecção pelo papilomavírus humano em pacientes do sexo masculino. **DST - Jornal Brasileiro Doenças Sexualmente Transmissíveis**, [S.l.] v. 17, n. 4, p. 306 - 310, 2005. Disponível em: <http://www.dst.uff.br/revista17-4-2005/Importancia-da-Infeccao-pelo-papilomavipdf>. Acesso em: 08 mai. 2013.

MUNHOZ, L. M. B. S. et al. Comparativo citológico, colposcópico e histológico de biópsias do colo uterino no ambulatório Amaral Carvalho/Iitararé - SP. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, São Paulo, v.41, n. 3, p. 167 - 171, Abr 2009. Disponível em: [http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac41\\_03/01.pdf](http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac41_03/01.pdf). Acesso em: 09 mai. 2013.

NADAL, S. R. Sistematização do Atendimento dos Portadores de Infecção Perianal Pelo Papilomavírus Humano (HPV). **Revista Brasileira de Colo-proctologia**, [S.l.] v. 24, n. 4, p. 322 - 328 Out/Dez 2004. Disponível em: <http://www.saudedireta.com.br/docsupload/1332103156Papiloma.pdf>. Acesso em: 18 mai. 2013.

NAKAGAWA, T. T. et al. Vírus HPV e câncer de colo de útero. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 63, n. 2, p. 307 - 311, Apr. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/reben/v63n2/21.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2013.

NORONHA, V. et al. Papilomavírus humano associado a lesões de cérvix uterina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.l.] v. 32, n. 3, p. 235 - 240, mai/jun. 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v32n3/0356.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2012.

NOVAIS, C. M; ALVES, M. P. PCR em Tempo Real. **Revista Biotecnológica Ciências & Desenvolvimento**, [S.l.] v. 33, p. 10 - 13 Jul/Dez 2004. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio33/pcr.pdf>. Acesso em: 22 mai. 2013.

OLIVEIRA, T. M. dos S. **PRC em tempo real: métodos e aplicações**. (Dissertação) Universidade de Aveiro Departamento de Biologia, 2010. p. 1 - 111. Disponível em: <https://ria.ua.pt/handle/10773/7230>. Acesso em: 22 fev. 2013.

PASSOS, M. R. L. Papiloma virose humana em genital, parte I. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, [S.l.] v. 20, n. 2, p. 108 - 124, 2008. Disponível em: <http://www.dst.uff.br/revista20-2-2008/7.pdf>. Acesso em 11 mai. 2013.

PINCINATO, A. L. et al . Recidiva de lesões associadas ao HPV em pacientes HIV positivos após tratamento cirúrgico. **Revista Brasileira de Colo-proctologia**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 169 - 173, Jun 2009. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010198802009000200003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010198802009000200003&script=sci_arttext). Acesso em 08 mai. 2013.

PIVA, M. R. et al. Detecção de HPV em lesões orais através da Técnica de Hibridização in Situ. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilar Facial**, Camaragibe, v. 8, n. 4, p. 61 - 68, Out/dez. 2008. Disponível em: <http://www.revista.cirurgiabmf.com/2008/V8n4/08%2020DETECCAO%20DE%20HPV%20corrigido.pdf>. Acesso: 16 mai. 2013.

QUEIROZ, D. T.; PESSOA, S. M. F.; SOUSA, R. A. Infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) incertezas e desafios. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 18, n. 2, p 190 - 196, Mar. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/ape/v18n2/a12v18n2.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2012.

RAMA, C. H. et al . Prevalência do HPV em mulheres rastreadas para o câncer cervical. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1 - 7 Feb 2008. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/rsp/v42n1/en\\_6028.pdf](http://www.scielo.br/pdf/rsp/v42n1/en_6028.pdf). Acesso em: 08 mai. 2013.

RIVOIRE, A. et al. Biologia molecular do câncer cervical. **Revista Brasileira Saúde Materna Infantil**, Recife, v. 6 n. 4, p. 447 - 451 out/dez 2006. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/rbsmi/v6n4/12.pdf>. Acesso em 23 nov. 2012.

ROCHA, G. A. ; MELO, V. H. Biologia molecular no rastreamento das neoplasias cervicais uterinas. **FEMINA**, [S.I.] v. 38, n. 3, p. 167-172 Mar 2010. Disponível em [http://www.febrasgo.org.br/arquivos/femina2010/fevereiro/Femina\\_v38n3/Femina-v38n3\\_p167-72.pdf](http://www.febrasgo.org.br/arquivos/femina2010/fevereiro/Femina_v38n3/Femina-v38n3_p167-72.pdf). Acesso em: 30 nov. 2012.

RODRIGUES, J. J. S; SILVA, R. de C; SIQUEIRA, M. M. Técnicas de Biologia Molecular Aplicadas ao Diagnóstico. In: ROSSETI, M. L. (Orgs). **Doenças Infecciosas Diagnóstico Molecular**, [S.I.] 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap. 2. p. 16 - 40.

SANTOS, I. M; MAIORAL, M. F; HAAS, P. Infecção por HPV em homens: Importância na transmissão, tratamento e prevenção do vírus. **Estudos de Biologia**, [S.I.], v. 32-33, n. 76-81, p. 111 - 118. Dez/Jan, 2010/2011. Disponível em: [www2.pucpr.br/reol/index.php/BS?dd1=5951&dd99=p](http://www2.pucpr.br/reol/index.php/BS?dd1=5951&dd99=p). Acesso: 16 mai 2013.

SILVA, Terezinha Tenório da et al . Identificação de tipos de papilomavirus e de outros fatores de risco para neoplasia intra-epitelial cervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 5, May 2006. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010072032006000500004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010072032006000500004&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 maio 2013.

SOARES, C. P. et al. Presença do papilomavírus humano em lesões malignas de mucosa oral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.I.] v. 35, n. 5, p. 439 - 444 Set/Out. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v35n5/13160.pdf>. Acesso em: 16 mai. 2013.

TULIO, S. et al. Relação entre a carga viral de HPV oncogênico determinada pelo método de captura híbrida e o diagnóstico citológico de lesões de alto grau. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 4 p. 31 - 35 Fev. 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttrxt&pid=S1676so](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttrxt&pid=S1676so)>. Acesso em: 08 mai. 2013.

VESPA, N. J. Vacina quadrivalente contra HPV 6,11,16,18: a mais nova ferramenta de prevenção. **DST - Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, [S.I.] v. 18, n. 4, p. 220 - 223, 2006. Disponível em: <http://www.dst.uff.br/revista18-4-2006/EDITORIAL.pdf>. Acesso em 09 mai. 2013

VIDAL, F. C. B. et al. Análise crítica dos métodos moleculares para detecção do papilomavírus humano: revisão de literatura. **FEMINA**, [S.I.] v.40. n. 5. p. 263 - 267 Set/Out 2012. Disponível em: [http://itarget.com.br/clients/febrasgo.org.br/arquivos/revista%20femina/Femina\\_40\\_05/263.pdf](http://itarget.com.br/clients/febrasgo.org.br/arquivos/revista%20femina/Femina_40_05/263.pdf). Acesso em: 16 mai. 2013.

WOLSCHICH, N. M. et al. Câncer do colo do útero: tecnologias emergente no diagnóstico, tratamento e prevenção da doença. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S.l.] v. 39 n. 2, p. 123 - 129, Fev., 2007. Disponível em [http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac\\_39\\_02/rbac\\_39\\_2\\_08.pdf](http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac_39_02/rbac_39_2_08.pdf). Acesso em: 02 fev. 2012.

XAVIER, S. D. et al. Frequência de aparecimento de papilomavírus humano (HPV) na mucosa oral de homens com HPV anogenital confirmado por biologia molecular. **Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia**, São Paulo v. 11, n. 1, p. 36 - 44, 2007. Disponível em: <http://arquivosdeorl.org.br/conteudo/>. Acesso em: 07 mai. 2013.