



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
CURSO DE MEDICINA**

Trabalho de Conclusão de Curso:

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A COINFECÇÃO COM MÚLTIPLOS TIPOS
DE PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) E O PROGNÓSTICO DO
CÂNCER DO COLO DO ÚTERO**

GOIÂNIA – GO

2025

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
CURSO DE MEDICINA**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE A COINFECÇÃO COM MÚLTIPLOS TIPOS
DE PAPILOMAVIRUS HUMANO (HPV) E O PROGNÓSTICO DO
CÂNCER DO COLO DO ÚTERO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola
de Ciências Médicas e da Vida, da Pontifícia
Universidade Católica de Goiás, no curso de Medicina.

Orientação: Dra. Vera Aparecida Saddi

GOIÂNIA – GO

2025

SUMÁRIO

RESUMO	4
--------	---

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	5
2. JUSTIFICATIVAS	8
3. OBJETIVOS	9
4. METODOLOGIA	10
5. RESULTADOS	13
6. DISCUSSÃO	25
7. CONCLUSÃO	26
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

RESUMO

Introdução/Objetivo: O câncer do colo do útero (CCU) é muito prevalente entre as mulheres de várias partes do mundo. No Brasil, o CCU é o terceiro tipo de câncer mais incidente entre as mulheres, atrás do câncer de mama e do câncer de cólon e reto. O principal fator de risco para o CCU é a infecção persistente pelo Papilomavírus Humano (HPV) de alto risco oncogênico. Mais de 200 genótipos de HPV já foram descritos e infecções simples, bem como coinfeções com múltiplos genótipos, são descritas em lesões precursoras e no câncer do colo de útero. Entretanto, estudos sobre o significado clínico e prognóstico das coinfeções com múltiplos genótipos apresentam resultados divergentes. Esse estudo tem como objetivo avaliar o significado clínico da associação entre a coinfeção com múltiplos genótipos de HPV e o prognóstico do câncer do colo do útero. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão sistemática da literatura, que utilizou as bases de dados PubMed e Medline. Os descritores usados na busca incluíram “*multiple HPV infections AND prognosis; multiple HPV infections AND lesion severity*”. Os artigos tiveram os resumos lidos, a fim de buscar os que melhor respondiam aos objetivos propostos por esta revisão. A revisão foi conduzida de acordo com o PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta Analyses*) e o protocolo foi submetido ao PROSPERO (*International Prospective Register of Systematic Reviews*), sob o número CRD42024582763. A busca foi feita em 17/08/2024 e foram incluídos estudos primários e descritivos que investigaram o significado clínico das coinfeções por múltiplos tipos de HPV e seu impacto no prognóstico do câncer de colo uterino. **Resultados:** Dos 152 estudos identificados, 21 preencheram os critérios de inclusão e todos investigaram CCU invasor, sendo que 12 também investigaram NIC2 e NIC3. Esses estudos foram desenvolvidos em hospitais, universidades e institutos de pesquisa em diversos países. Ao todo, foram analisadas 60.089 mulheres, das quais 5.504 apresentaram CCU invasor, com 5.100 casos HPV positivos. Assim, 18 estudos diferenciaram os tipos histológicos de carcinomas de células escamosas (CE) e adenocarcinomas (AD), 11 avaliaram estadiamento FIGO e oito avaliaram sobrevida. Os estudos utilizaram PCR para amplificação do DNA viral do HPV, complementada por diferentes métodos de genotipagem para identificação dos tipos virais. Os testes aplicados detectaram entre 14 e 38 tipos de HPV, incluindo variantes de alto e baixo risco oncogênico. A prevalência geral de coinfeções múltiplas nos estudos foi de 20%, variando 0% à 81%. Três estudos demonstraram uma associação significativa entre coinfeções múltiplas e sobrevida, evidenciada por redução significativa na sobrevida global, sobrevida específica por câncer e sobrevida livre de progressão. Além disso, foram encontradas associações significativas entre infecções múltiplas e aumento do tamanho tumoral, comprometimento linfonodal e maior taxa de recorrência e metástases à distância, resultando em pior prognóstico. Esses achados reforçam a importância clínica das coinfeções múltiplas por HPV como fator prognóstico, destacando a relevância dessa variável para orientar estratégias de tratamento e monitoramento em pacientes com CCU. **Conclusão:** Nessa revisão foi discutido o papel das coinfeções múltiplas por HPV associadas aos desfechos clínicos no CCU, como menor sobrevida e maior resistência ao tratamento. Os achados, embora não decisivos, ressaltam a importância de avaliar o perfil de coinfeções por múltiplos tipos de HPV na estratificação de risco do câncer do colo do útero.

Palavras-chave: Papilomavírus humano, Neoplasias do colo do útero, infecções múltiplas por HPV

ABSTRACT

Introduction/Objective: Cervical cancer (CC) is one of the most prevalent malignant neoplasms among women worldwide. In Brazil, CC is the third most common type of cancer among women, behind breast cancer and colorectal cancer. The main risk factor for cervical cancer is persistent infection with high-oncogenic risk Human Papillomavirus (HPV). More than 200 HPV genotypes have been described, and single infections, as well as co-infections with multiple genotypes, are described in precursor lesions and cervical cancer. However, studies on the clinical significance and prognosis of co-infections with multiple genotypes present divergent results. Therefore, this study aims to evaluate the clinical significance of the association between coinfection with multiple HPV genotypes and the prognosis of cervical cancer. **Methodology:** This is a systematic literature review, which used the PubMed and Medline databases. The descriptors used in the search included “multiple HPV infections AND prognosis; multiple HPV infections AND lesion severity”. The abstracts of the articles were read in order to find those that best responded to the objectives proposed by this review. The review was conducted in accordance with PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta Analyses) and the protocol was submitted for registration in PROSPERO (International Prospective Register of Systematic Reviews), under number CRD42024582763. The search date was 08/17/2024, and primary and descriptive studies that investigated the clinical significance of co-infections by multiple HPV types and their impact on the prognosis of cervical cancer were included. **Results:** Of the 152 studies identified, 21 met the inclusion criteria. All investigated invasive CCU, with 12 also investigating CIN2 and CIN3. These studies were developed in hospitals, universities and research institutes in several countries. In total, 60,089 women were analyzed, of which 5,504 presented invasive CC, with 5,100 HPV-positive cases. Thus, 18 studies differentiated the histological types of squamous cell carcinomas (SCC) and adenocarcinomas (AD), 11 evaluated FIGO staging and eight evaluated survivals. The studies used PCR to amplify HPV viral DNA, complemented by different genotyping methods to identify viral GTypes. The tests applied detected between 14 and 38 types of HPV, including high and low oncogenic risk variants. The overall prevalence of multiple co-infections in the studies was 20%, ranging from 0% to 81%. Three studies demonstrated a significant association between multiple coinfections and survival, evidenced by a significant reduction in overall survival, cancer-specific survival, and progression-free survival. Furthermore, significant associations were found between multiple infections and increased tumor size, lymph node involvement, and higher rate of recurrence and distant metastases, resulting in a worse prognosis. These findings discussed the clinical importance of multiple HPV coinfections as a prognostic factor, highlighting the relevance of this variable to guide treatment and monitoring strategies in patients with CC. **Conclusion:** This review showed that multiple HPV coinfections can be associated with worse clinical outcomes in CC, such as shorter survival and greater resistance to treatment. Although not decisive, our results highlight the importance of evaluating the profile of co-infections by multiple types of HPV in the risk stratification of cervical cancer.

Keywords: Human papillomavirus, Cervical neoplasms, Multiple coinfections

1. INTRODUÇÃO

O câncer do colo do útero (CCU) é uma das neoplasias malignas mais prevalentes entre as mulheres de todo o mundo. O *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN, 2023) estimou cerca de 662.301 novos casos de CCU entre as mulheres no mundo, em 2022, representando 6,9% de todos os novos casos de câncer. Em relação à mortalidade, a *World Health Organization* (WHO, 2023) reporta que, em 2022, foram registradas 350.000 mortes por CCU, e 94% dessas mortes ocorreram em países de médio-baixo desenvolvimento, dentre os quais o Brasil está incluído.

Em 42 países, o CCU é a principal causa de morte entre as mulheres. Essa diferença geográfica está relacionada com a desigualdade no acesso à vacinação, ao rastreio e aos serviços de tratamento, além de fatores de risco que incluem alta prevalência de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e determinantes sociais e econômicos como desigualdades de gênero e pobreza (WHO, 2023). De acordo com a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS, 2023), o CCU é a principal causa de morte em mulheres na América Latina e Caribe e apresenta taxas de mortalidade três vezes mais altas do que na América do Norte, devido às desigualdades em termos de renda, gênero e acesso aos serviços de saúde.

Já no Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA, 2023), o CCU é o terceiro tipo de câncer mais incidente entre mulheres (atrás do câncer de mama e do colorretal), com estimativa de 17.010 casos novos por ano (15,38/100 mil), para o triênio de 2023 a 2025. Além disso, comparando as diferentes regiões brasileiras, o CCU é o segundo mais incidente nas regiões Norte (20,48/100 mil) e Nordeste (17,59/100 mil), o terceiro na região Centro-Oeste (16,66/100 mil), o quarto na região Sul (14,55/100 mil) e, o quinto na região Sudeste (12,93/100 mil). Em termos de mortalidade, a taxa ajustada foi de 4,51 óbitos/100 mil mulheres, em 2021.

Infecções cervicais pelo Papilomavírus humano (HPV) são muito prevalentes na população em geral e, quando causadas por HPV de alto risco oncogênico, podem se tornar persistentes e associadas ao desenvolvimento de

lesões intraepiteliais cervicais, que precedem a maioria dos CCU. Os principais genótipos que causam infecções anogenitais são HPV 16 e HPV 18, os mais prevalentes, e que apresentam maior potencial carcinogênico (Cohen P, et al., 2019; Bhat D., 2022).

A grande maioria das infecções anogenitais por HPV são resolvidas naturalmente pelo sistema imunológico dentro de um a dois anos e não evoluem para o câncer. Entretanto uma parcela das infecções por HPV de alto risco pode durar anos e causar modificações nas células cervicais com piora gradual, resultando em lesões pré- malignas, que uma vez não tratadas, podem progredir para o CCU (Bhat D., 2022).

A infecção por HIV ou a presença de outros fatores que suprimem o sistema imunológico aumentam o risco de CCU, por reduzirem a capacidade do organismo em combater a infecção pelo HPV. Assim, as infecções persistentes pelo HPV são mais prováveis em indivíduos imunossuprimidos do que em indivíduos imunocompetentes. A coinfeção do HIV com o HPV aumenta o risco de desenvolvimento do CCU (Cohen P, et al., 2019). Uma análise da literatura recente evidenciou que as mulheres em uso de terapia antirretroviral, por um tempo prolongado, apresentam menores prevalências de lesões intraepiteliais cervicais e menores chances de progressão para CCU (Bhat D, 2022).

A maioria das mulheres que apresenta vida sexual ativa será infectada pelo HPV em alguma fase de suas vidas. Dessa maneira aquelas que começam a vida sexual precocemente, ou que apresentam diversos parceiros sexuais e que praticam modalidades sexuais de risco têm maior probabilidade de serem infectadas com algum tipo de HPV de alto risco e de desenvolver doença cervical (Bhat D., 2022). O uso de contraceptivos hormonais (CH) e a alta paridade também aumentam o risco de desenvolvimento do CCU (Bhat D, 2022). Isso ocorre principalmente devido ao estrogênio sintético dos CH por longo período e a exposição a níveis elevados do estrogênio durante a gravidez (Bhat D, 2022).

As mulheres sexualmente ativas adquirem infecções por HPV por meio do contato sexual, e os fatores de risco contribuem para essa aquisição, podendo diminuir com a idade. Durante a infecção ativa pelo HPV, anormalidades citológicas

cervicais de baixo grau podem ser detectadas clinicamente, mas, geralmente são transitórias e desaparecem sem intervenção dentro de 1 a 2 anos. Uma grande parte das infecções por HPV recém-adquiridas também se torna indetectável dentro de 1 a 2 anos, um fenômeno frequentemente descrito como "clearance/depuração viral", embora também possa representar controle imunológico abaixo dos níveis detectáveis ou "latência viral".

Uma resposta imune detectável é evidenciada pela presença de anticorpos séricos específicos para o tipo de HPV que causa a infecção, embora sua capacidade de fornecer imunidade contra reinfecção seja incerta. Uma pequena proporção de infecções por HPV persiste além de 12 meses, aumentando o risco de progressão carcinogênica para o desenvolvimento subsequente de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) e câncer cervical, se não tratada (Bhat D., 2022; Gavitt P., Winer R., 2017; Sanjosé S., Brotons M., Pavón MA., 2017).

A infecção pelo HPV após a sua entrada na célula pode seguir duas formas, isso depende se o tipo de vírus é de alto ou baixo risco oncogênico. Se o tipo de HPV for de baixo risco, o vírus permanece em sua forma de DNA circular dentro da célula e não se integra ao DNA genômico do hospedeiro, enquanto isso no grupo de alto risco o DNA viral integra-se ao DNA da célula hospedeira (Bhat D., 2022). Para que essa infecção pelo HPV de alto risco evolua para um CCU, é necessário a integração do genoma do vírus ou eventos epigenéticos que culminam com a hiperexpressão das oncoproteínas virais E6 e E7 (Sanjosé S., Brotons M., Pavón MA., 2017).

A infecção persistente pelo HPV é reconhecida como a principal causa de lesões pré-cancerosas cervicais e do câncer cervical, dado o vasto espectro de mais de 240 tipos de HPV divididos em 37 gêneros, porém, somente 14 tipos de HPV são classificados como de alto risco carcinogênico para humanos (Pisani T., Cenci M., 2024). Os genótipos de HPV de alto risco são responsáveis pela maioria dos carcinomas espinocelulares invasivos cervicais (CEC) e representam os principais fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) (Pisani T., Cenci M., 2024).

As neoplasias invasivas do colo uterino (CCU) geralmente são precedidas pelas NICs de grau moderado a alto. Isso ocorre principalmente devido a uma série de eventos que progridem da atipia celular a vários graus de neoplasia intraepitelial antes de avançar para o carcinoma invasivo (WHO). Assim, observou-se que alguns casos de infecções por HPV regredem, alguns persistem e outros progridem. Estudos sugerem que o intervalo médio para a progressão de lesões precursoras cervicais para neoplasia invasiva é de cerca de 10 a 20 anos (WHO).

O HPV é classificado em tipos de alto e baixo risco oncogênico conforme seu potencial de provocar lesões pré-cancerosas e câncer, especialmente no colo do útero. Dentre os tipos de alto risco oncogênico, destacam-se 14 genótipos, sendo os mais prevalentes o HPV 16 e o HPV 18, responsáveis pela maioria dos casos de CCU. Outros tipos de alto risco incluem HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 (Pisani T., Cenci M., 2024). Já os tipos de baixo risco oncogênico, os mais comuns foram HPV 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 e 81, geralmente associados a lesões benignas como verrugas genitais e presentes majoritariamente em lesões de baixo grau ou em mulheres sem alterações histológicas significativas (Bruno et al. 2020). A coinfeção dos genótipos HPV16 e HPV 34, pode atenuar a progressão do CCU. Mulheres com ambos os genótipos apresentaram menor estágio clínico da doença e ausência de metástases em linfonodos, sugerindo que o HPV 34 pode exercer um efeito protetor ao interferir nos mecanismos de ação do HPV 16, como a degradação da proteína p53 (Michimata R. et al., 2013).

Os estudos sobre as infecções simples e múltiplas mostram resultados divergentes no que diz respeito ao desenvolvimento da carcinogênese cervical e ao prognóstico do CCU (Pisani T., Cenci M., 2024). Enquanto alguns estudos, como o de Bruno et al. (2020), sugerem que as infecções simples pelo HPV apresentam um maior risco de desenvolvimento de CEC em comparação com infecções múltiplas, uma vez que, as infecções múltiplas são relevantes apenas na primeira fase da lesão (NIC1 e NIC2); outros, como Pisani T., et al. (2024) e Genta et al. (2017), indicam que múltiplos genótipos de HPV de alto risco podem coexistir no epitélio cervical, prolongando a infecção persistente pelo HPV e aumentando o risco de carcinogênese. Essas infecções múltiplas também podem ser mais resistentes à terapia e preditivas de piores sobrevidas em comparação com infecções únicas.

Pisani et al, (2024). sugerem que o genótipo HPV 16, caracterizado como HPV de alto risco, está presente na maioria das coinfeções de CCU e é o mais prevalente em algumas populações. Além disso, infecções múltiplas com genótipos $\alpha 9$, conhecidos por seu potencial carcinogênico, conferem um risco significativamente maior de CCU em comparação com genótipos $\alpha 7$.

Genta et al, (2017). sugerem que a detecção de múltiplos genótipos de HPV pode melhorar a previsão de sobrevida, sendo que pacientes diagnosticados em estágios iniciais tendem a apresentar melhor sobrevida do que aqueles em estágios mais avançados. Ademais, o HPV 16 e o HPV 18 não demonstram influência significativa no prognóstico em comparação com outros subtipos de HPV, embora o HPV 18 esteja associado a uma proporção maior de adenocarcinoma em comparação com o HPV 16.

Bruno et al, (2020) sugerem que à medida que o grau histológico da lesão aumenta, o número de genótipos de alto risco presentes tende a diminuir, indicando uma associação entre determinados genótipos e lesões de alto grau. Além disso, o HPV 16 está relacionado com lesões de alto grau e com maior risco oncogênico, e a combinação da infecção múltipla HPV16,18 e HPV16,31 representa, em particular, um grande risco de desenvolver NIC2/NIC3. Ademais, mulheres HIV positivas frequentemente apresentam múltiplas infecções, o que representa um fator prognóstico para lesões mais avançadas como NIC2/NIC3/CEC.

2. JUSTIFICATIVAS

- Estudos que investigam a coinfecção cervical com múltiplos genótipos de HPV apresentam resultados inconclusivos e contraditórios, o que dificulta a compreensão do significado clínico desse tipo de infecção.
- A coinfecção com múltiplos genótipos de HPV representa um desafio clínico importante, mas também oferece oportunidades significativas para avanços na compreensão da fisiopatologia do câncer do colo do útero, bem como o desenvolvimento de novas tecnologias de diagnóstico e tratamento deste câncer.
- A relação entre a coinfecção com múltiplos tipos de HPV e a gravidade das lesões cervicais é importante para a identificação de melhores estratégias de prevenção, triagem e tratamento das doenças associadas ao HPV.
- A coinfecção com múltiplos genótipos de HPV deve induzir diferentes respostas clínicas, que podem ser analisadas por meio da interação desses genótipos com as células da junção escamocelular (JEC) do colo uterino, impactando no prognóstico das lesões.
- Os métodos moleculares para determinação da coinfecção com múltiplos tipos de HPV no colo uterino evoluíram consideravelmente nos últimos anos e fazem parte das rotinas de rastreio do CCU em vários países. Entretanto, a compreensão das implicações clínicas dessas coinfecções ainda não é bem compreendida.
- A identificação dos genótipos virais envolvidos nas coinfecções com múltiplos tipos de HPV pode elucidar novos mecanismos de desenvolvimento do câncer cervical.
- A elucidação do significado clínico das coinfecções com múltiplos genótipos de HPV no colo uterino pode impactar na qualidade de vida das mulheres e no funcionamento do sistema de saúde, visto que pode melhorar os resultados clínicos e otimizar o uso de recursos financeiros na saúde.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral:

-Avaliar, por meio de revisão sistemática da literatura, o significado clínico da associação entre a coinfeção com múltiplos tipos de HPV no prognóstico do câncer do colo do útero.

Objetivos Específicos:

- Classificar os estudos selecionados com relação aos métodos usados na investigação das coinfeções com múltiplos tipos de HPV.
- Investigar os estudos selecionados acerca da associação entre as coinfeções com múltiplos tipos de HPV e o prognóstico do câncer do colo uterino.
- Descrever os tipos de HPV mais prevalente nas coinfeções cervicais com múltiplos tipos de HPV.
- Descrever o significado clínico das coinfeções com múltiplos tipos de HPV.

4. METODOLOGIA

Tipo de Estudo

O estudo proposto compreende uma revisão sistemática da literatura acerca do significado clínico das coinfeções com múltiplos tipos de HPV em relação ao prognóstico do câncer de colo uterino. A revisão sistemática foi conduzida de acordo com o PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta Analyses*) e o protocolo foi submetido a registro no PROSPERO (*International Prospective Register of Systematic Reviews*), sob o número CRD42024582763. Foram pesquisados artigos nas bases de dados PUBMED, LILACS, Medline, Scielo e Web of Science. Os descritores utilizados na pesquisa foram identificados por meio do *Health Sciences Descriptors* (DECS) e do *Medical Subject Headings* (MESH), incluindo: *multiple HPV infections AND prognosis; multiple HPV infections AND lesion severity*.

A pesquisa pelos artigos nas bases de dados foram entre 1994 à 2024. Esse longo período da busca se justifica pela descoberta da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), desenvolvida por Kary Mullis, em 1983. E em 1993, Mullis recebeu o Prêmio Nobel de Química por essa contribuição fundamental. A PCR foi essencial para o avanço das pesquisas e diagnósticos envolvendo o HPV. Antes da PCR, a detecção do DNA viral era limitada a métodos de baixa sensibilidade, dificultando a identificação precoce de infecções por HPV, especialmente as assintomáticas. Com a introdução da PCR, tornou-se possível amplificar rapidamente pequenas quantidades de DNA viral presentes em amostras clínicas, como o material coletado do colo uterino. Essa tecnologia permitiu não apenas confirmar a presença do HPV, mas também identificar com precisão os diferentes genótipos virais, distinguindo os de alto e baixo risco oncogênico. Assim, a PCR se consolidou como uma ferramenta indispensável no rastreamento, diagnóstico e monitoramento de lesões associadas ao HPV, contribuindo diretamente para estratégias de prevenção do CCU e para o desenvolvimento de vacinas baseadas nos genótipos mais prevalentes.

A pergunta do estudo consistiu em identificar quais são as principais implicações clínicas das coinfeções com múltiplos tipos de HPV no prognóstico do câncer do colo do útero.

Critérios de Inclusão

Os critérios de relevância, classificação e desenho dos estudos incluíram:

- Estudos que investigaram o significado clínico das coinfeções com múltiplos tipos de HPV em relação ao prognóstico do câncer de colo uterino.
- Estudos primários e descritivos que investigaram o significado clínico das coinfeções com múltiplos tipos de HPV.
- Estudos que apresentavam metodologia claramente descrita.
- Estudos com objetivos claros e consistentes em relação à metodologia e os resultados apresentados;
- Artigos completamente disponíveis nas bases de dados investigadas.

Critérios de Exclusão

- Como critérios de exclusão, não foram selecionadas publicações que pertenciam à categoria de revisões sistemáticas e meta-análises, relatos de caso, revisões integrativas e editoriais.

- Leitura e Coleta de Dados

Uma vez selecionados, os artigos foram classificados de acordo com o título, autores, região geográfica, periódico no qual foi publicado e data de publicação, tipo de lesão estudada (câncer cervical), metodologia usada na identificação molecular dos genótipos de HPV, genótipos associados às coinfeções múltiplas, diagnóstico do CCU e/ou prognóstico das pacientes.

Todos os artigos encontrados nas bases de dados PUBMED, tiveram os resumos lidos, a fim de buscar os que melhor respondiam aos objetivos propostos por esta revisão. Os resumos foram lidos por duas pesquisadoras; aqueles não relacionados às coinfeções com múltiplos tipos de HPV ou que não empregaram metodologias adequadas foram excluídos. Artigos cujos resumos atenderam os critérios de inclusão descritos foram selecionados para leitura completa e revisão detalhada.

Análise dos Dados

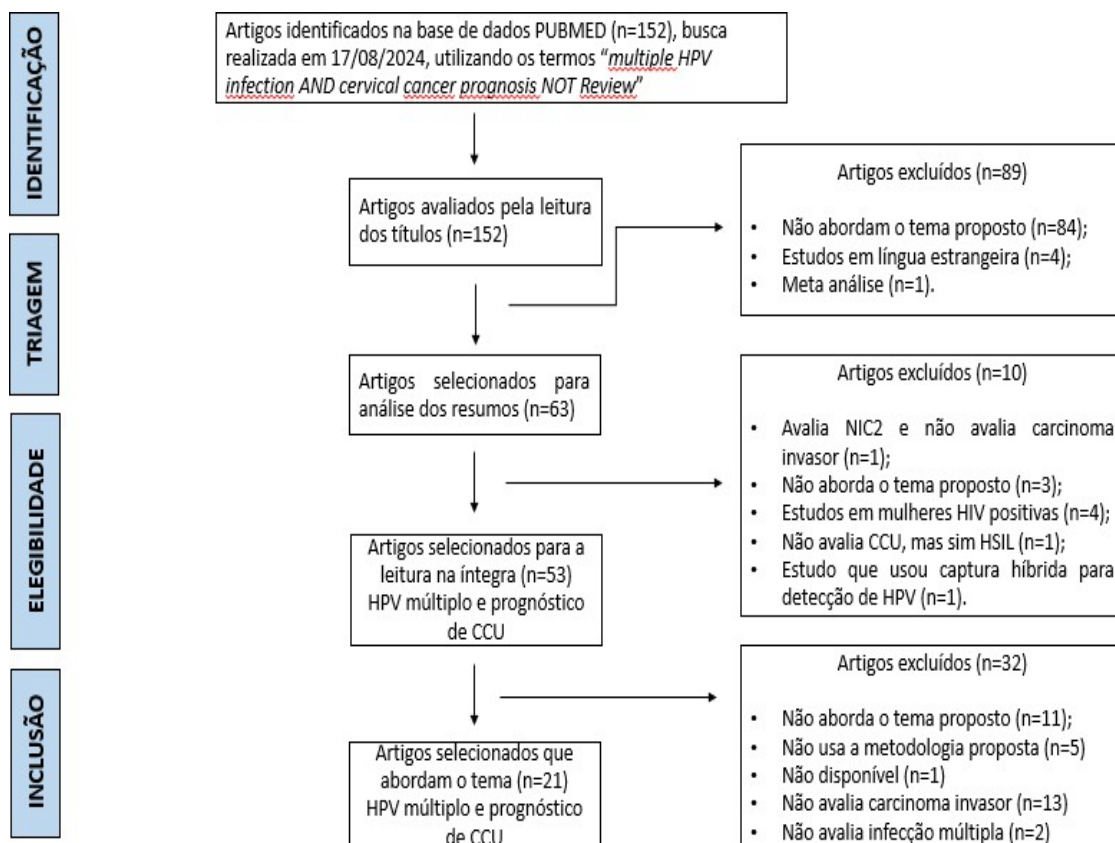
Os dados extraídos foram tabulados e resumidos. Os resultados encontrados nos diferentes estudos foram tabulados e posteriormente combinados de forma a identificar as principais implicações das coinfeções com múltiplos tipos de HPV e o prognóstico do câncer do colo do útero. A síntese foi feita quantitativamente usando ferramentas estatísticas descritivas e agrupamento formal dos resultados, por meio de uma abordagem narrativa.

5. RESULTADOS

Estudos incluídos:

Utilizando como estratégia de busca os termos: “*multiple HPV infection AND cervical cancer prognosis NOT Review*” no banco de dados PUBMED, foram encontrados 152 estudos. Após leitura dos títulos, 63 resumos foram selecionados para leitura. Após análise dos resumos, 53 estudos que avaliaram as coinfeções com múltiplos tipos de HPV em relação ao prognóstico do câncer de colo uterino foram selecionados para a leitura completa e detalhada. A leitura dos estudos na íntegra resultou na exclusão de 32 estudos que não contemplaram os critérios de inclusão propostos. Nesta etapa, 21 estudos foram incluídos para a revisão sistemática. A Figura 1 demonstra o processo de seleção dos estudos.

Figura 1: Fluxograma de seleção dos estudos.



Características gerais dos estudos incluídos:

As informações extraídas dos estudos incluíram referência/ano, país, casuística estudada, teste de genotipagem de HPV, número de casos de CCU, prevalência de casos HPV (+), prevalência de infecções simples e múltiplas e associações/diferenças significativas (valor de p) em relação aos desfechos analisados. As características dos estudos incluídos são descritas no quadro 1.

Todos os 21 estudos investigaram câncer do colo do útero (CCU). Desses estudos, 12 também investigaram NIC2 e NIC3 (Li Y et al, 2020.; Bruno MT et al, 2020.; Onuki M et al, 2020.; Wu Z et al, 2019.; Brebi P et al, 2017.; De Brot L et al, 2016.; Wang L et al, 2016.; van der Marel J et al, 2015.; Azuma Y et al, 2014.; Pista A. et al., 2013.; Wang S. et al., 2012.; An H.J., et al., 2005).

Os 21 estudos incluídos foram desenvolvidos em hospitais, universidades e institutos de pesquisa, sendo seis localizados na China (Li Y et al, 2020.; Wu Z et al, 2019.; Li P et al, 2018.; Wang L et al, 2016.; Lau YM et al, 2015.; Wang S. et al., 2012.), dois na Espanha (Nicolas I et al, 2020.; van der Marel J et al, 2015.), um na Holanda (van der Marel J et al, 2015.), um na Coreia do Sul (An H.J., et al., 2005.), três no Japão (Onuki M et al, 2020.; Azuma Y et al, 2014.; Michimata R. et al., 2013.), um na Itália (Bruno MT et al, 2020.), um na Suécia (Kaliff M et al, 2018.), dois no Brasil (Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.; De Brot L et al, 2016.), um no Chile (Brebi P et al, 2017.), um em Portugal (Pista A. et al., 2013.), um em Taiwan (Lai C.H., et al., 2007.), um na Índia (Munagala R. et al, 2008.) e um na Áustria (Bachtiary B. et al., 2002).

No total, 60.089 mulheres foram avaliadas nos 21 estudos incluídos. Destas, 5.504 mulheres apresentaram CCU, dos quais 5.100 eram HPV positivos. O número de pacientes por estudo variou de 30 (Li P et al, 2018.) a 27.284 pacientes (Li Y et al, 2020.) e o número de pacientes com CCU variou de 5 (Bruno MT et al, 2020.) a 1.130 (Onuki M et al, 2020.).

Quadro 1: Características dos estudos incluídos.

Referência/ano	País	Casística Estudada
		Grupo estudado
Li Y et al, 2020.	China.	27.284 mulheres.
Bruno MT et al, 2020.	Itália.	909 mulheres.
Onuki M et al, 2020.	Japão.	7.709 mulheres
Nicolas I et al, 2020.	Espanha.	215 mulheres.
Wu Z et al, 2019.	China.	1781 mulheres.
Li P et al, 2018.	China.	30 mulheres.
Kaliff M et al, 2018.	Suécia.	204 mulheres
Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.	Brasil.	292 mulheres.
Brebi P et al, 2017.	Chile.	985 mulheres.
De Brot L et al, 2016.	Brasil.	260 mulheres.
Wang L et al, 2016.	China.	2.046 mulheres
Lau YM et al, 2015.	China.	236 mulheres.
van der Marel J et al, 2015.	Espanha e Holanda.	266 mulheres.
Azuma Y et al, 2014.	Japão.	647 mulheres
Michimata R. et al., 2013	Japão	42 mulheres
Pista A. et al., 2013	Portugal	570 mulheres
Wang S. et al., 2012	China	15257 mulheres
Munagala R. et al, 2008	Índia	43 mulheres
Lai C.H., et al., 2007	Taiwan	1067 mulheres
An H.J., et al., 2005	Coreia do Sul	135 mulheres
Bachtiary B. et al., 2002	Áustria	106 mulheres

Sobre a detecção e a genotipagem do HPV, todos os artigos utilizaram PCR para detectar o DNA viral e utilizaram outro método auxiliar para identificar os tipos de HPV. Alguns detectaram somente os tipos de HPV de alto risco e outros identificaram HPV de alto risco e baixo risco oncogênico. O teste que detectou maior número de tipos de HPV identificou 38 tipos, e o que menos detectou o menor número, identificou 14 tipos de HPV de alto risco. Alguns kits de genotipagem foram usados em mais de um estudo, como por exemplo o kit LiPA25, usado em 2 artigos, Nicolas I et al, 2020, identificando 32 subtipos de HPV e van der Marel J et al, 2015, detectando 25 tipos de HPV. Outro kit utilizado em 2 estudos foi o BD Onclarity HPV que detecta 14 tipos de HPV de alto risco tanto no Wu Z et al, 2019, quanto no Nogueira Dias Genta ML et al, 2017. Além desses métodos, o mais usado pelos artigos foi o kit Ensaio Linear Array (LA) (Roche Molecular Systems), utilizado em 3 estudos que detecta 37 genótipos de HPV usado nos estudos Onuki M et al, 2020; De Brot L et al, 2016; Lau YM et al, 2015.

A prevalência média dos casos de coinfeções com múltiplos tipos de HPV em pacientes com CCU, nos estudos foi de 20% (1.103 infecções múltiplas/5.504 CCU). Quando considerados os casos de carcinomas escamosos (CE) e adenocarcinomas (AD), coinfeções com múltiplos tipos variaram de 0% (van der Marel J et al, 2015 e Bruno MT et al, 2020) a 81% (Michimata R. et al., 2013). De acordo com os artigos que avaliaram estadiamento dos cânceres, a prevalência de coinfeções com múltiplos tipo foi de 15,58% (538 infecções múltiplas/3.451 estadiamento dos CCU) variando de 3,76% Nogueira Dias Genta ML et al, (2017) a 81% no Michimata R. et al., (2013), e conforme a sobrevida global das pacientes, com uma prevalência total foi de 14,82% (479 infecções múltiplas/ 3.231 sobrevida) a qual variou nos estudos que avaliaram a sobrevida de 3,76% em Nogueira Dias Genta ML et al, 2017 a 70% em Li P et al, 2018. Estes dados destacam a importância de considerar a diversidade genotípica das infecções por HPV ao avaliar o impacto clínico nos diferentes subtipos histológicos e estágios da doença.

Dezoito estudos (Bruno MT et al, 2020.; Onuki M et al, 2020.; Nicolas I et al, 2020.; Wu Z et al, 2019.; Li P et al, 2018.; Kaliff M et al, 2018.; Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.; Brebi P et al, 2017.; Wang L et al, 2016.; Lau YM et al, 2015.; Azuma Y et al, 2014.; Michimata R. et al., 2013.; Pista A. et al., 2013.; Wang S. et

al., 2012.; Munagala R. et al, 2008.; Lai C.H., et al., 2007.; An H.J., et al., 2005. e Bachtiary B. et al., 2002) diferenciaram os tipos histológicos diagnosticando carcinomas de células escamosas (CE) e adenocarcinomas (AD). Desses estudos, 16 separaram CE de AD (Bruno MT et al, 2020.; Onuki M et al, 2020.; Nicolas I et al, 2020.; Li P et al, 2018.; Kaliff M et al, 2018.; Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.; Brebi P et al, 2017.; Lau YM et al, 2015.; Azuma Y et al, 2014.; Michimata R. et al., 2013.; Pista A. et al., 2013.; Wang S. et al., 2012.; Munagala R. et al, 2008.; Lai C.H., et al., 2007.; An H.J., et al., 2005. e Bachtiary B. et al., 2002).

Estudos que avaliaram estadiamento FIGO

Onze estudos avaliaram estadiamento FIGO (Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia) (Nicolas I et al, 2020.; Li P et al, 2018.; Kaliff M et al, 2018.; Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.; Lau YM et al, 2015.; Michimata R. et al., 2013.; Wang S. et al., 2012.; Munagala R. et al, 2008.; Lai C.H., et al., 2007.; An H.J., et al., 2005.; Bachtiary B. et al., 2002.), e oito estudos avaliaram sobrevida, sendo que Nicolas I et al, 2020 avaliou sobrevida global e sobrevida livre de doença; Li P et al, 2018., Nogueira Dias Genta ML et al, 2017. e Wang S. et al., 2012. avaliaram sobrevida global; Kaliff M et al, 2018. avaliou sobrevida específica por câncer; Lau YM et al, 2015 avaliou sobrevida global e sobrevida específica por câncer; Lai C.H., et al., 2007. avaliou sobrevida global e sobrevida livre de recorrência; e Bachtiary B. et al., 2002. avaliou sobrevida livre de progressão e sobrevida específica por câncer. Os estudos que avaliaram associações entre infecções com múltiplos genótipos de HPV e estadiamento FIGO são descritos no quadro 2.

Quadro 2: Estudos que avaliaram estadiamento FIGO

Referência/ ano	Método detecção e genotipagem	Número de casos CCU	Prevalência HPV (+) N (%)	Infecção Simples N (%)	Infecção Múltipla N (%)	Associações /diferenças significativas/ desfechos –
Nicolas I et al, 2020.	PCR seguida de hibridização reversa em linha (LiPA) - SPF10 PCR-LiPA25. Identificação de 32 genótipos de HPV.	CE= 157 (81%) AD= 33 (17%) Outros= 4 (2,5%) Total = 194	194 (100%)	149 (77%)	45 (23%)	- Não demonstrou diferença significativa entre infecções simples ou múltiplas em relação aos aspectos prognósticos e sobrevida (P > 0,05). - Desfecho clínico: o estadiamento FIGO foi significativamente associado à sobrevida global das pacientes com câncer cervical (p < 0,01)
Li P et al, 2018.	HPV Genotyping Detection Kit (Asia Energy Biotechnology Co., Ltd., Shenzhen, China). PCR com Hibridização Reversa. Identificação de 23 genótipos	CE= 7 (23,3%) AD= 3 (10,0%) Outros= 20 (66,7%) Total = 30	30 (100%)	13 (43,3%)	17 (56,7%)	- Não houve associação significativa entre infecções múltiplas e aspectos clínicos (p = 0,605 para FIGO), prognóstico (p = 0,498) ou sobrevida (p = 0,716).
Kaliff M et al, 2018.	Anyplex™ II HPV28 (Seegene, Seul, Coreia), PCR em tempo real. Genotipagem de 28 tipos de HPV.	CE= 172 (84%) AD= 28 (14%) Outros= 4 (2%) Total = 204	188 (93%)	163 (87%)	25 (13%)	- Infecções múltiplas relacionaram com maior taxa de recorrência e metástases a distância (p = 0,0022). - Infecções múltiplas foram associadas com pior sobrevida específica por câncer em 5 anos comparadas as infecções simples (P = 0,0081). - Desfecho clínico: pacientes com infecção por múltiplos genótipos de HPV apresentaram prognóstico significativamente pior quando comparadas às portadoras de infecção simples.
Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.	BD Onclarity™ HPV Assay (BD Diagnostics, Sparks, EUA). PCR em tempo real (RT- PCR), detecta 14 tipos de HPV de alto risco.	CE= 217 (74,3%) AD= 60 (20,5%) Outros= 15 (5,1%) Total = 292	246 (84,2%)	235 (96%)	11 (4%)	- Infecções múltiplas foram associadas com pior sobrevida global e com maior mortalidade (p=0,039). - Desfecho clínico: a presença de infecção por múltiplos genótipos de HPV em pacientes com carcinoma cervical invasivo está associada a pior prognóstico, com redução significativa na sobrevida.
Lau YM et al, 2015.	Linear Array HPV (Roche, Molecular Systems, Inc., CA), com identificação de 37 genótipos de HPV.	CE= 186 (78,8%) AD= 41 (17,4%) Outros= 9 (3,8%) Total = 236	236 (100%)	190 (80,5%)	46 (19,5%)	- Nenhuma variável relacionada ao HPV (genótipo, espécie, infecção simples/múltipla) associada com sobrevida após ajuste multivariado (p=0,05). - Desfecho clínico: Não houve associação significativa entre o estadiamento FIGO e infecções por múltiplos tipos de HPV.
Michimata R. et al., 2013	PCR HPV-DNA array desenvolvido pela equipe que identifica 25 genótipos de HPV.	CE= 42 (100%) AD= 0 Outros= 0 Total = 42	42 (100%)	8 casos (19%)	34 casos (81%)	- Coinfecção do HPV 16 com HPV18, HPV31, HPV52, HPV 58 e HPV 11 não teve associação significativa com o estadiamento e prognóstico - Coinfecção por HPV 16 e HPV 34: Pacientes coinfectadas apresentaram estágios clínicos significativamente mais baixos (FIGO ≤ Ib, p=0,0038). - Nenhum caso apresentou metástase linfática, enquanto aproximadamente metade dos pacientes sem coinfecção por HPV 34 apresentou essa complicação (p=0,0299). - Desfecho clínico: o estágio clínico dos pacientes com co-infecção do HPV16 e HPV34 possui desfechos menos agressivos do câncer invasor que a pacientes sem coinfecção com HPV34
Wang S. et al., 2012.	PCR e hibridização em array (HPV GenoArray kit), permitindo a identificação de 21 genótipos de HPV.	CE= 767 AD= 341 Outros= 0 Total=1108	935 (84,4%)	779 (83,3%)	196 (16,7%)	- A infecção por múltiplos genótipos de HPV foi significativamente associada à idade avançada (todos P < 0,05) e foi significativamente menor em cervicite do que em NIC ou câncer cervical (CCU) (p < 0,0001). Infecções com múltiplos HPV não foram associados significativamente à sobrevida, ao estadiamento FIGO, grau tumoral ou histologia (P > 0,05). - Desfecho clínico: a infecção persistente por HPV-18 é o principal fator prognóstico negativo, associando-se significativamente a adenocarcinoma, metástase linfática e pior sobrevida em 3 anos. Coinfecções múltiplas mostraram relação com idade e gravidade das lesões, mas sem impacto direto na sobrevida.
Munagala R. et al, 2008.	Ensaio de PCR desenvolvido por Gheit et al. Detectou HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 e 82.	CE= 40 AD= 3 Outros= 0 Total= 43	40 (93%)	33 (82,5%)	7 (17,5 %)	- Infecção múltipla aumenta significativamente o risco de não responder à radioterapia) (p = 0,015). Associação significativa entre infecção múltipla e maior tamanho tumoral (>4 cm) (p = 0,042) e pior resposta ao tratamento (p = 0,025). - Não houve associação estatisticamente significativa entre o estadiamento FIGO e os tipos de infecção por HPV (simples vs. múltiplas) (p = 0,45). - Desfecho clínico: infecções múltiplas por HPV estão significativamente associadas ao maior tamanho tumoral e falha no tratamento radioterápico, representando importante fator prognóstico negativo.
Lai C.H., et al., 2007.	PCR e hibridização reversa (Easychip HPV Blot, King Car, Taiwan). Identifica 38 genótipos de HPV	CE= 886 AD= 131 Outros= 50 Total= 1067	1015 (95,1%)	918 (90,4%)	97 (9,6%)	- Infecções múltiplas por HPV não mostraram associação estatística significativa com câncer invasor ou com piores desfechos clínicos (p>0,05). - Desfecho clínico: HPV 18 significativamente associado a piores desfechos clínicos, menor sobrevida e maior risco de recidiva, independentemente de outros fatores clínicos. reforçando seu papel como fator prognóstico independente.
An H.J., et al., 2005.	PCR e HPV DNA Chips (Biomedlab Co., Seoul, Korea). Identifica 23 genótipos de HPV..	CE= 0 AD=135 Outros=0 Total= 135	121 (90%)	103 (77%)	18 (13%)	- Não houve diferença significativa entre infecções simples e múltiplas por HPV em relação aos aspectos patológicos (p>0,05). - Desfecho clínico: Não houve associação significativa entre subtipo histológico e estadiamento FIGO em relação a infecção múltipla (p>0,05)
Bachtiary B. et al., 2002.	PCR e hibridização in situ que identifica 14 genótipos de HPV.	CE= 96 AD= 10 Total= 106	96 (90,6%)	54 (56,3%)	42 (43,7%)	- Múltiplas infecções foram significativamente associadas à falha no tratamento local (p = 0,02). Sobrevida livre de progressão (PFS) em 5 anos: 24,8% em pacientes com múltiplas infecções vs. 64% nas com infecção simples (p = 0,008). Sobrevida específica por câncer cervical (CCSS) em 5 anos: 34,9% com múltiplas infecções vs. 60,8% com infecção simples (p = 0,041). - Na análise multivariada, a presença de múltipla infecção, metástase linfonodal, tamanho do tumor e tipo histológico foram fatores independentes do prognóstico na sobrevida câncer específica. Desfecho clínico: A presença de múltiplos genótipos de HPV foi significativamente associada a piores desfechos clínicos, incluindo falha terapêutica, menor sobrevida livre de progressão e menor sobrevida específica por câncer cervical, reforçando seu papel como fator prognóstico independente negativo.

Estudos que avaliaram sobrevida de pacientes com CCU

Os estudos que avaliaram associações entre infecções com múltiplos genótipos de HPV e a sobrevida das pacientes com CCU são descritos no quadro 3. Entre os oito estudos que investigaram a sobrevida, apenas três encontraram associação significativa entre coinfeções com múltiplos tipos de HPV e sobrevida em pacientes com CCU. No estudo de Kaliff M et al, 2018, infecções múltiplas foram associadas com pior sobrevida específica por câncer em 5 anos comparadas as infecções simples ($p = 0,0081$), ou seja, pacientes com infecção por múltiplos genótipos de HPV apresentaram prognóstico significativamente pior quando comparadas às portadoras de infecção simples. Já no estudo de Nogueira Dias Genta ML et al, 2017., pacientes com infecções múltiplas foram associadas com pior sobrevida global e com maior mortalidade ($p=0,039$), ou seja, a presença de infecção por múltiplos genótipos de HPV em pacientes com carcinoma cervical invasivo está associada a pior prognóstico oncológico, com redução significativa na sobrevida. Além disso, no estudo de Bachtiary B. et al., 2002., sobrevida livre de progressão (PFS) em 5 anos foi 24,8% em pacientes com múltiplas infecções vs. 64% nas com infecção simples ($p = 0,008$) e sobrevida específica por câncer cervical (CCSS) em 5 anos foi 34,9% com múltiplas infecções vs. 60,8% com infecção simples ($p = 0,041$), ou seja, a presença de múltiplos genótipos de HPV foi significativamente associada a piores desfechos clínicos, menor sobrevida livre de progressão e menor sobrevida específica por câncer cervical, reforçando seu papel como fator prognóstico independente negativo.

Quadro 3: Estudos que avaliaram sobrevida de pacientes com CCU

Referência/ ano	Método detecção e genotipagem	Número de casos CCU	Prevalência HPV (+) N (%)	IS N (%)	IM N (%)	Associações /diferenças significativas/ desfechos – Valor de P
Nicolas I et al, 2020.	PCR seguida de hibridização reversa em linha (LiPA) - SPF10 PCR-LiPA25. Identificação de 32 genótipos de HPV.	CE= 157 (81%) AD= 33 (17%) Outros= 4 (2,5%) Total = 194	194 (100%)	149 (77%)	45 (23%)	- Não demonstrou diferença significativa entre infecções simples ou múltiplas em relação aos aspectos prognósticos e sobrevida (P > 0,05). - Desfecho clínico: o estadiamento FIGO foi significativamente associado à sobrevida global das pacientes com câncer cervical (p < 0,01)
Li P et al, 2018.	HPV Genotyping Detection Kit (Asia Energy Biotechnology Co, Ltd., Shenzhen, China). PCR com Hibridização Reversa. Identificação de 23 genótipos	CE= 7 (23,3%) AD= 3 (10,0%) Outros= 20 (66,7%) Total = 30	30 (100%)	13 (43,3%)	17 (56,7%)	- Não houve associação significativa entre infecções múltiplas e aspectos clínicos (p = 0,605 para FIGO), prognóstico (p = 0,498) ou sobrevida (p = 0,716).
Kaliff M et al, 2018.	Anyplex™ II HPV28 (Seegene, Seul, Coreia), PCR em tempo real. Genotipagem de 28 tipos de HPV.	CE= 172 (84%) AD= 28 (14%) Outros= 4 (2%) Total = 204	188 (93%)	163 (87%)	25 (13%)	- Infecções múltiplas relacionaram com maior taxa de recorrência e metástases a distância (p = 0,0022). -Infecções múltiplas foram associadas com pior sobrevida específica por câncer em 5 anos comparadas as infecções simples (P = 0,0081). - Desfecho clínico: pacientes com infecção por múltiplos genótipos de HPV apresentaram prognóstico significativamente pior quando comparadas às portadoras de infecção simples.
Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.	BD Onclarity™ HPV Assay (BD Diagnostics, Sparks, EUA). PCR em tempo real (RT- PCR), detecta 14 tipos de HPV de alto risco.	CE= 217 (74,3%) AD= 60 (20,5%) Outros= 15 (5,1%) Total = 292	246 (84,2%)	235 (96%)	11 (4%)	- Infecções múltiplas foram associadas com pior sobrevida global e com maior mortalidade (p=0,039). - Desfecho clínico: a presença de infecção por múltiplos genótipos de HPV em pacientes com carcinoma cervical invasivo está associada a pior prognóstico, com redução significativa na sobrevida.
Lau YM et al, 2015.	Linear Array HPV (Roche, Molecular Systems, Inc., CA), com identificação de 37 genótipos de HPV.	CE= 186 (78,8%) AD= 41 (17,4%) Outros= 9 (3,8%) Total = 236	236 (100%)	190 (80,5%)	46 (19,5%)	-Nenhuma variável relacionada ao HPV (genótipo, espécie, infecção simples/múltipla) associada com sobrevida após ajuste multivariado (p=0,05). - Desfecho clínico: Não houve associação significativa entre o estadiamento FIGO e infecções por múltiplos tipos de HPV.
Wang S. et al., 2012.	PCR e hibridização em array (HPV GenoArray kit), permitindo a identificação de 21 genótipos de HPV.	CE= 767 AD= 341 Outros= 0 Total=1108	935 (84,4%)	779 (83,3%)	196 (16,7%)	- A infecção por múltiplos genótipos de HPV foi significativamente associada à idade avançada (todos P < 0,05) e foi significativamente menor em cervicite do que em NIC ou câncer cervical (CCU) (p < 0,0001). Infecções com múltiplos HPV não foram associados significativamente à sobrevida, ao estadiamento FIGO, grau tumoral ou histologia (P > 0,05). - Desfecho clínico: a infecção persistente por HPV-18 é o principal fator prognóstico negativo, associando-se significativamente a adenocarcinoma, metástase linfática e pior sobrevida em 3 anos. Coinfecções múltiplas mostraram relação com idade e gravidade das lesões, mas sem impacto direto na sobrevida.
Lai C.H., et al., 2007.	PCR e hibridização reversa (Easychip HPV Blot, King Car, Taiwan). Identifica 38 genótipos de HPV	CE= 886 AD= 131 Outros= 50 Total= 1067	1015 (95,1%)	918 (90,4%)	97 (9,6%)	- Infecções múltiplas por HPV não mostraram associação estatística significativa com câncer invasor ou com piores desfechos clínicos (p>0,05). - Desfecho clínico: HPV 18 significativamente associado a piores desfechos clínicos, menor sobrevida e maior risco de recidiva, independentemente de outros fatores clínicos. reforçando seu papel como fator prognóstico independente.
Bachtiary B. et al., 2002.	PCR e hibridização in situ que identifica 14 genótipos de HPV.	CE= 96 AD= 10 Total= 106	96 (90,6%)	54 (56,3%)	42 (43,7%)	-Múltiplas infecções estão significativamente associadas à falha no tratamento local (p = 0,02). Sobrevida livre de progressão (PFS) em 5 anos: 24,8% em pacientes com múltiplas infecções vs. 64% nas com infecção simples (p = 0,008). Sobrevida específica por câncer cervical (CCSS) em 5 anos: 34,9% com múltiplas infecções vs. 60,8% com infecção simples (p = 0,041). - Na análise multivariada, a presença de múltipla infecção, metástase linfonodal, tamanho do tumor e tipo histológico foram fatores independentes do prognóstico na sobrevida câncer específica. Desfecho clínico: A presença de múltiplos genótipos de HPV foi significativamente associada a piores desfechos clínicos, incluindo falha terapêutica, menor sobrevida livre de progressão e menor sobrevida específica por câncer cervical, reforçando seu papel como fator prognóstico independente negativo.

Estudos que avaliaram aspectos clínicos dos casos de CCU

Doze estudos investigaram associações entre infecções com múltiplos genótipos de HPV e os aspectos clínicos dos casos de CCU, conforme descrito no quadro 4. O estudo de Munagala R. et al, 2008., encontrou associação significativa entre as coinfeções com múltiplos tipos de HPV e maior tamanho tumoral (>4 cm) em pacientes com CCU ($p=0,042$), apresentando prognóstico ruim. O estudo de Nicolas I et al, 2020., encontrou associação significativa entre as coinfeções com múltiplos tipos de HPV e comprometimento de linfonodos em pacientes com CCU ($p<0,01$), associando ao pior prognóstico. Já o estudo de Michimata R. et al, 2013., a coinfeção de HPV 16 e HPV 34 teve associação significativa com melhor progressão do tumor em relação ao estágio FIGO e a presença de metástase linfonodal, com valor de $p=0,0038$ e $p=0,0299$ respectivamente, ou seja, o estágio clínico dos pacientes com coinfeção por HPV16 e HPV34 era significativamente melhor do que aqueles sem coinfeção com o HPV34 e maior parte dos pacientes sem coinfeção com HPV34 apresentou metástase linfonodal.

O estudo de Kaliff M et al, 2018., encontrou associação significativa entre as coinfeções com múltiplos tipos de HPV e maior taxa de recorrência e metástases a distância em pacientes com CCU ($p=0,0022$), apresentando prognóstico significativamente pior. Pacientes com tumores em estágios FIGO mais avançados comparados aos estágios iniciais, apresentaram a pior sobrevida, ou seja, estágios mais avançados correspondem a uma sobrevida consideravelmente menor e um risco de morte significativamente maior (Nicolas I et al, 2020.; Kaliff M et al, 2018.; Nogueira Dias Genta ML et al, 2017.; Lai C.H., et al., 2007.).

Esses resultados ressaltaram a importância de considerar o tipo de infecção por HPV (simples ou múltipla) na avaliação clínica e prognóstica das pacientes com CCU, indicando que as coinfeções múltiplas podem estar associadas a um risco aumentado de piores desfechos clínicos.

Quadro 4: Estudos que avaliaram aspectos clínicos dos casos de CCU

Referência/ ano	Método detecção e genotipagem	Número de casos CCU	Prevalência HPV (+) N (%)	IS N (%)	IM N (%)	Associações /diferenças significativas/ desfechos – Valor de P
Li Y et al, 2020.	PCR em tempo real. Genotipagem de 21 genótipos de HPV	122 CCU	122 (100%)	101 (3,0%)	21 (5,8%)	- Infecção por múltiplos tipos de HPV associou-se significativamente a lesões cervicais de maior gravidade (NIC II/NIC III e câncer invasivo), em comparação com infecções por um único tipo de HPV ($p < 0,001$). - Desfecho clínico: A presença de coinfeção por múltiplos tipos de HPV foi indicadora de maior gravidade das lesões cervicais, sendo útil como marcadores prognósticos e preditores de NIC II+.
Bruno MT et al, 2020.	Nested PCR - kit HPV-HS Bio, AB Analítica s.r.l, Itália). Genotipagem com hibridização para 29 genótipos.	CE= 5 (1,38%) AD= 0 Outros= 0 Total = 5	5 (100%)	5 (1,38%)	0 (0%)	- Infecções simples foram mais prevalentes em lesões de alto grau (NIC II/III) e câncer em relação as infecções múltiplas ($P = 0,0005$). - Desfecho clínico: Infecções simples representaram o principal fator de risco para evolução das lesões de alto grau e carcinoma. Infecções múltiplas são mais comuns em estágios iniciais (NIC1) e praticamente inexistentes nos carcinomas invasivos, sugerindo que a progressão para neoplasia invasiva tende a ocorrer a partir de uma linhagem monoclonal de HPV de alto risco, principalmente HPV 16.
Onuki M et al, 2020.	Ensaio Linear Array (LA) (Roche Molecular Systems). Genotipagem por hibridização em linhas para a identificação de 37 genótipos.	CE= 720 (63,7%) AD= 287 (25,4%) Outros= 123 (10,9%) Total = 1130	1.130 (100%)	862 (76,3%)	268 (23,7%)	- Infecções múltiplas diminuíram com o aumento da gravidade das lesões: 42,9% em NIC1, 40,4% em NIC2-3/AIS, e 23,7% em ICC ($P < 0,0001$). - Desfecho clínico: Lesões mais graves tendem a estar associadas a infecções simples. E as infecções por HPV 16, 18 e 31 são marcadores prognósticos independentes de risco elevado para progressão neoplásica.
Wu Z et al, 2019.	Ensaio BD Onclarity HPV. PCR em tempo real (RT-PCR). Identificação de 14 genótipos de HPV de alto risco (hrHPV).	492 CCU (CE/AD)	HPV16: 380 HPV18=62 TOTAL = 442 (89,83%)	Por HPV16= 260/282 - CE/AD (92,2 %) Por HPV 18= 31/33 - CE/AD (93,9 %)	Por HPV 16= 75/98 - CE/AD (76,5%) Por HPV 18= 18/29 - CE/AD (62,1 %)	- A frequência da expressão da oncoproteína E6 foi significativamente maior em infecções simples do que em infecções múltiplas, tanto para HPV16-E6 quanto para HPV18-E6 (HPV 16: $P < 0,001$; HPV18: $P = 0,002$). - Desfecho clínico: Infecções simples por HPV16/18 foram associadas a maiores taxas de positividade para E6 em comparação com infecções múltiplas apenas para casos de câncer (HPV16: 92,2% vs. 76,5%; HPV18: 93,9% vs. 62,1%), mas não para histopatologia normal ou neoplasia intraepitelial cervical.
Brebi P et al, 2017.	PCR e hibridização reversa em linhas (Biodyne C), identifica 36 genótipos de HPV.	CE= 24 (95,8%) AD= 0 Outros= 0 Total = 24	23 (95,8%)	21 (87,5%)	2 (8,3%)	- Mulheres com lesões intraepiteliais de alto grau (HSIL) ou carcinoma apresentaram maior frequência de coinfeção por múltiplos tipos de HPV ($p < 0,001$). - Desfecho clínico: A infecção por múltiplos tipos de HPV, especialmente quando envolve genótipos de alto risco oncogênico, está significativamente associada às lesões cervicais de maior gravidade.
De Brot L et al, 2016.	Teste Linear Array HPV Genotyping (Roche Molecular Systems Inc.). PCR e hibridização reversa, identifica 37 genótipos de HPV.	6 CCU.	5 (83,3%)	3 (50%)	2 (33%)	- As coinfeções múltiplas por HPV de alto risco foram mais frequentes em LSIL (61,5%), HSIL (55,8%) e carcinoma (33%) do que em citologias normais (6,25%) ($p = 0,0152$). - Desfecho clínico: a infecção por múltiplos genótipos de HPV de alto risco (HR-mHPV) está significativamente associada à persistência de lesões intraepiteliais de baixo grau (LSIL/NIC1).
Wang L et al, 2016.	PCR com tipagem baseada em sequenciamento (PCR-SBT), com identificação de 17 genótipos HPV de alto risco.	49 CCU (CE/AD).	31 (63,3,%)	5 (3,0%)	26 (15,7%)	- Infecções múltiplas por HR-HPV foram associadas significativamente à presença de lesões mais graves e câncer invasivo ($p < 0,05$). - Desfecho clínico: a positividade para HR-HPV, especialmente em infecções múltiplas, aumenta progressivamente com o agravamento da lesão cervical, até atingir o pico mais alto nos casos de câncer invasivo.
van der Marel J et al, 2015.	PCR (SPF10-PCR) seguida de hibridização reversa (LIPA25). Identifica 25 genótipos de HPV.	6 CCU.	6(100%)	6 (100%)	0 (0%)	- A maioria das lesões NIC2/3 foi causada por um único genótipo de HPV de alto risco ($p < 0,001$). Não houve associação significativa entre infecções múltiplas por HPV e carcinoma invasor. - Desfecho clínico: as lesões invasivas foram atribuídas a um único genótipo de HPV de alto risco, reforçando a hipótese de que a progressão para câncer invasivo ocorre geralmente com uma infecção persistente e única.
Azuma Y et al, 2014.	PCR (PGMY-PCR) e hibridização reversa, com identificação de 31 genótipos de HPV.	CE= 91 (61,1%) AD= 56 (37,6%) Outros= 2 (1,3%) Total = 149	131 (87,9%)	110 (73,8%)	21 (14,1%)	- Redução de coinfeções com múltiplos genótipos em relação ao aumento da gravidade da lesão ($P = 0,0005$). - Desfecho clínico: Infecções múltiplas diminuíram conforme a gravidade da lesão aumenta, indicando que infecções simples, especialmente por HPV16, predominam em câncer invasor.
Pista A. et al., 2013.	PCR e hibridização CLART Human Papillomavirus 2 (Genomica, Madrid, Spain). Identifica 35 genótipos de HPV.	CE= 57 AD=7 Outros= 0 Total=64	62 (96,9%)	57 (89,1%)	5 (7,8%)	- Nenhuma associação significativa entre as infecções múltiplas em relação aos aspectos prognósticos e grau de lesão ($p=0,234$). - Desfecho clínico: HPV 16 teve maior frequência em carcinoma invasor. Além disso, carcinoma invasor foi mais comum em mulheres mais velhas.
Wang S. et al., 2012.	PCR e hibridização em array (HPV GenoArray kit), permitindo a identificação de 21 genótipos de HPV.	CE= 767 AD= 341 Outros= 0 Total=1108	935 (84,4%)	779 (83,3%)	196 (16,7%)	- A infecção por múltiplos genótipos de HPV foi significativamente associada à idade avançada (todos $P < 0,05$) e foi significativamente menor em cervicite do que em NIC ou câncer cervical (CCU) ($p < 0,0001$). Infecções com múltiplos HPV não foram associados significativamente à sobrevida, ao estadiamento FIGO, grau tumoral ou histologia ($P > 0,05$). - Desfecho clínico: a infecção persistente por HPV-18 é o principal fator prognóstico negativo, associando-se significativamente a adenocarcinoma, metástase linfática e pior sobrevida em 3 anos. Coinfecções múltiplas mostraram relação com idade e gravidade das lesões, mas sem impacto direto na sobrevida.
An H.J., et al., 2005.	PCR e HPV DNA Chips (Biomediab Co., Seoul, Korea). Identifica 23 genótipos de HPV..	CE= 0 AD=135 Outros=0 Total= 135	121 (90%)	103 (77%)	18 (13%)	-Não houve diferença significativa entre infecções simples e múltiplas por HPV em relação aos aspectos patológicos ($p>0,05$). - Desfecho clínico: Não houve associação significativa entre subtipo histológico e estadiamento FIGO em relação a infecção múltipla ($p>0,05$)

6. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo destacam que as coinfeções com múltiplos tipos de Papilomavírus Humano (HPV) apresentam um papel relevante no prognóstico do câncer do colo do útero (CCU). Coinfeções foram associadas a piores desfechos clínicos em termos de sobrevida, agressividade tumoral e resposta ao tratamento, reforçando sua importância como um fator prognóstico independente. Contudo, divergências entre os estudos analisados sugerem que a influência das coinfeções depende de fatores adicionais, como o tipo de genótipo envolvido, o estadiamento tumoral e o contexto clínico.

Alguns estudos indicam que as infecções múltiplas estão significativamente associadas à pior sobrevida específica por câncer e à maior taxa de mortalidade, como observado nos estudos de Kaliff et al. (2018) e Nogueira Dias Genta et al. (2017). Adicionalmente, genótipos específicos, como o HPV16 e HPV18, emergem como os mais prevalentes em coinfeções e são frequentemente associados à progressão do CCU. Esses resultados corroboram estudos como o de Munagala et al. (2008), que destacaram a maior agressividade tumoral em pacientes com infecções múltiplas.

Por outro lado, alguns achados sugerem que as infecções simples, especialmente por HPV16, estão mais associadas a lesões de alto grau e câncer invasivo (Bruno et al., 2020; Azuma et al., 2014). Este contraste pode ser explicado pelo fato de que infecções múltiplas predominam nos estágios iniciais da infecção (NIC1 e NIC2), enquanto lesões mais graves frequentemente resultam de uma linhagem viral dominante.

Achados contraditórios também foram encontrados. Por exemplo, Michimata et al. (2013) relataram que a coinfeção entre HPV16 e HPV34 esteve associada a uma progressão tumoral mais favorável, evidenciando que nem todas as coinfeções resultam em pior prognóstico. Esses resultados ressaltam a complexidade das interações virais no ambiente tumoral e sugerem a necessidade de estudos mais aprofundados para compreender as dinâmicas envolvidas.

As coinfeções por múltiplos tipos de HPV possuem significado clínico relevante. Elas podem contribuir para a persistência viral, dificultando a erradicação do vírus e aumentando a resistência ao tratamento. Essa persistência é particularmente preocupante em contextos onde a resposta imune está comprometida, como em pacientes imunossuprimidos. Ademais, a identificação de coinfeções pode fornecer informações valiosas para a estratificação de risco e o planejamento terapêutico.

Na prática clínica, a genotipagem de HPV deve ser considerada como uma ferramenta complementar para guiar o manejo do CCU. Pacientes com infecções múltiplas poderiam se beneficiar de uma abordagem terapêutica mais agressiva e de um monitoramento mais rigoroso devido ao risco aumentado de piores desfechos.

As discrepâncias entre os estudos analisados podem ser atribuídas à heterogeneidade metodológica, incluindo diferenças nos métodos de genotipagem, populações estudadas e definições de desfechos clínicos. Enquanto alguns estudos identificaram até 14 genótipos de HPV, outros detectaram mais de 30 tipos, o que pode influenciar a prevalência de coinfeções relatada. Essa variação limita a comparação direta dos resultados e enfatiza a necessidade de padronização em futuras investigações.

Estudos futuros devem focar em populações mais homogêneas e utilizar protocolos de genotipagem consistentes. Além disso, é essencial investigar os mecanismos biológicos que sustentam a persistência e interações entre genótipos em coinfeções para identificar novas abordagens de tratamento e prevenção.

Os achados desta revisão destacam que as coinfeções múltiplas por HPV são fatores prognósticos negativos relevantes no CCU, estando associadas a piores desfechos clínicos em diversos contextos. Contudo, a influência dessas coinfeções varia conforme o genótipo viral envolvido e outros fatores clínicos. A incorporação da genotipagem no manejo clínico do CCU pode melhorar significativamente a estratificação de risco e os desfechos das pacientes.

7. CONCLUSÃO

O estudo demonstra que as coinfeções por múltiplos genótipos de HPV estão associadas a diferentes desfechos clínicos no CCU, destacando-se como um fator potencialmente relevante na avaliação prognóstica e no planejamento terapêutico.

Os estudos analisados revelam divergências na prevalência e impacto das coinfeções, com associações significativas em alguns casos entre múltiplas infecções e maior gravidade das lesões, pior prognóstico oncológico, e redução da sobrevida.

Enquanto alguns estudos identificaram infecções simples, especialmente pelo HPV16, como mais frequentemente associadas a lesões de alto grau e câncer invasivo, outros destacaram a coinfeção com múltiplos tipos de HPV como fator preditivo de piores desfechos, incluindo maior taxa de recorrência, metástases à distância e redução na sobrevida global e específica por câncer. Ademais, as coinfeções estão associadas a um prognóstico mais severo, com maior risco de complicações, resposta terapêutica reduzida e maior probabilidade de evolução para formas graves da doença, exigindo acompanhamento mais rigoroso e abordagens terapêuticas individualizadas.

Além disso, a caracterização histológica e a análise do estadiamento FIGO mostraram impacto significativo no prognóstico, independentemente do tipo de infecção, reforçando a necessidade de uma abordagem integrada que considere múltiplos fatores clínicos e moleculares.

Portanto, a identificação detalhada dos genótipos de HPV envolvidos pode oferecer insights valiosos para estratégias de prevenção, rastreamento e intervenção personalizada, contribuindo para a melhoria dos desfechos clínicos e para o manejo mais eficiente do CCU.

Estudos retrospectivos, multicêntricos, incluindo alto número de participantes e métodos validados de genotipagem de HPV são necessários, a fim de elucidar melhor o significado clínico das coinfeções por múltiplos tipos de HPV e o prognóstico das lesões precursoras e do CCU.

REFERÊNCIAS

1. AN, H. J. et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in various histological subtypes of cervical adenocarcinoma: a population-based study. *Modern Pathology*, v. 18, n. 4, p. 528–534, abr. 2005.
2. AZUMA, Y. et al. Human Papillomavirus Genotype Distribution in Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2/3 and Invasive Cervical Cancer in Japanese Women. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, v. 44, n. 10, p. 910–917, 1 out. 2014.
3. BACHTIARY, B. et al. Impact of multiple HPV infection on response to treatment and survival in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer. *International Journal of Cancer*, v. 102, n. 3, p. 237–243, 20 nov. 2002.
4. BHAT, D. The “Why and How” of Cervical Cancers and Genital HPV Infection. *CytoJournal*, v. 19, p. 22, 2022.
5. BREBI, P. et al. Frequency of Human papillomavirus in women attending cervical cancer screening program in Chile. *BMC Cancer*, v. 17, n. 1, p. 518, 3 dez. 2017.
6. BRUNO, M. T. et al. Multiple HPV 16 infection with two strains: a possible marker of neoplastic progression. *BMC Cancer*, v. 20, n. 1, p. 444, 19 dez. 2020.
7. COHEN, P. A. et al. Cervical cancer. *The Lancet*, v. 393, n. 10167, p. 169–182, jan. 2019.
8. CROSBIE, E. J. et al. Human papillomavirus and cervical cancer. *The Lancet*, v. 382, n. 9895, p. 889–899, set. 2013.
9. DE BROT, L. et al. Infections with multiple high-risk HPV types are associated with high-grade and persistent low-grade intraepithelial lesions of the cervix. *Cancer Cytopathology*, v. 125, n. 2, p. 138–143, 21 fev. 2017.
10. DE SANJOSÉ, S.; BROTONS, M.; PAVÓN, M. A. The natural history of human papillomavirus infection. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, v. 47, p. 2–13, fev. 2018.
11. GRAVITT, P.; WINER, R. Natural History of HPV Infection across the Lifespan: Role of Viral Latency. *Viruses*, v. 9, n. 10, p. 267, 21 set. 2017.
12. IARC. Números absolutos, incidência, mulheres, em 2022 continentes. Disponível em:
<https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&types=0&sexes=2>. Acesso em: 19 mar. 2024.
13. INCA. Web

https://antigo.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//dados_e_numeros_colo_22marco2023.pdf. Disponível em:

<https://antigo.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//dados_e_numeros_colo_22marco2023.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2024.

14. KALIFF, M. et al. Findings of multiple HPV genotypes in cervical carcinoma are associated with poor cancer-specific survival in a Swedish cohort of cervical cancer primarily treated with radiotherapy. *Oncotarget*, v. 9, n. 27, p. 18786– 18796, 10 abr. 2018.
15. LAI, C.-H. et al. Role of Human Papillomavirus Genotype in Prognosis of Early-Stage Cervical Cancer Undergoing Primary Surgery. *Journal of Clinical Oncology*, v. 25, n. 24, p. 3628–3634, 20 ago. 2007.
16. LAU, Y. M. et al. Prognostic Implication of Human Papillomavirus Types and Species in Cervical Cancer Patients Undergoing Primary Treatment. *PLOS ONE*, v. 10, n. 4, p. e0122557, 9 abr. 2015.
17. LI, P. et al. Cervical small cell carcinoma frequently presented in multiple high risk HPV infection and often associated with other type of epithelial tumors. *Diagnostic Pathology*, v. 13, n. 1, p. 31, 22 dez. 2018.
18. LI, Y. et al. Correlation between multi-type human papillomavirus infections and viral loads and the cervical pathological grade. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, v. 152, n. 1, p. 96–102, 22 jan. 2021.
19. MICHIMATA, R. et al. Human Papillomavirus 16-Positive Uterine Cervical Squamous Cell Carcinoma with Coinfection with Human Papillomavirus 34 Has a Lower Incidence in Lymph Node Metastasis than That without Coinfection with Human Papillomavirus 34. *Pathobiology*, v. 80, n. 5, p. 259–264, 2013.
20. MUNAGALA, R. et al. Significance of multiple HPV infection in cervical cancer patients and its impact on treatment response. *International journal of oncology*, v. 34, n. 1, p. 263–71, jan. 2009.
21. NICOLÁS, I. et al. Prognostic implications of genotyping and p16 immunostaining in HPV-positive tumors of the uterine cervix. *Modern Pathology*, v. 33, n. 1, p. 128–137, jan. 2020.
22. NOGUEIRA DIAS GENTA, M. L. et al. Multiple HPV genotype infection impact on invasive cervical cancer presentation and survival. *PLOS ONE*, v. 12, n. 8, p. e0182854, 22 ago. 2017.

23. ONUKI, M. et al. Human papillomavirus genotype contribution to cervical cancer and precancer: Implications for screening and vaccination in Japan. *Cancer Science*, v. 111, n. 7, p. 2546–2557, 21 jul. 2020.
24. OPAS. Dia Mundial Contra o Câncer 2023: Por Cuidados Mais Justos. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/campanhas/dia-mundial-contra-cancer-2023-por-cuidados-mais-justos>>. Acesso em: 19 mar. 2024.
25. PISANI, T.; CENCI, M. Prevalence of Multiple High Risk Human Papilloma Virus (HR-HPV) Infections in Cervical Cancer Screening in Lazio Region, Italy. *Cancer Diagnosis & Prognosis*, v. 4, n. 1, p. 42–45, 2 jan. 2024.
26. PISTA, A. et al. Human Papillomavirus Type Distribution in Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2/3 and Cervical Cancer in Portugal. *International Journal of Gynecological Cancer*, v. 23, n. 3, p. 500–506, mar. 2013.
27. VAN DER MAREL, J. et al. Attributing Oncogenic Human Papillomavirus Genotypes to High-grade Cervical Neoplasia. *American Journal of Surgical Pathology*, v. 39, n. 4, p. 496–504, abr. 2015.
28. WANG, L. et al. Prevalence of High-Risk Human Papillomavirus (HR-HPV) Genotypes and Multiple Infections in Cervical Abnormalities from Northern Xinjiang, China. *PLOS ONE*, v. 11, n. 8, p. e0160698, 5 ago. 2016.
29. WANG, S. et al. The prevalence and role of human papillomavirus genotypes in primary cervical screening in the northeast of China. *BMC Cancer*, v. 12, n. 1, p. 160, 1 dez. 2012.
30. WHO. Câncer cervical. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer>>. Acesso em: 19 mar. 2024.
31. WU, Z. et al. Human Papillomavirus (HPV) 16/18 E6 Oncoprotein Expression in Infections with Single and Multiple Genotypes. *Cancer Prevention Research*, v. 12, n. 2, p. 95–102, 1 fev. 2019.