

EDUARDO PERNAMBUCO DE SOUZA

**EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO GENITAL POR HPV
E ANORMALIDADES NA CITOLOGIA CERVICAL
EM MULHERES JOVENS BRASILEIRAS**

Tese de Doutorado

**ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a CECÍLIA MARIA ROTELI MARTINS
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. GUILHERME LOUREIRO WERNECK**

**UNICAMP
2004**

EDUARDO PERNAMBUCO DE SOUZA

**EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO GENITAL POR HPV
E ANORMALIDADES NA CITOLOGIA CERVICAL
EM MULHERES JOVENS BRASILEIRAS**

Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Doutor em Tocoginecologia, área de Ciências Biomédicas

**ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a CECÍLIA MARIA ROTELI MARTINS
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. GUILHERME LOUREIRO WERNECK**

**UNICAMP
2004**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

So89e Souza, Eduardo Pernambuco de
Epidemiologia da infecção genital por HPV e
anormalidades na citologia cervical em mulheres jovens
brasileiras / Eduardo Pernambuco de Souza. Campinas,
SP : [s.n.], 2004.

Orientadores : Cecília Maria Roteli Martins, Guilherme
Loureiro Werneck
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Reação em cadeia de polimerase. 2. Neoplasia do
colo uterino. 3. Citologia esfoliativa. 4. Vacinas virais.
5. Comportamento sexual. I. Cecília Maria Roteli Martins.
II. Guilherme Loureiro Werneck. III. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: EDUARDO PERNAMBUCO DE SOUZA

Orientadora: Prof.^a Dr.^a CECÍLIA MARIA ROTELI MARTINS

Co-Orientador: Prof. Dr. GUILHERME LOUREIRO WERNECK

Membros:

1.

2.

3.

4.

5.

**Curso de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas**

Data: / /

Dedico esta tese...

aos meus pais, Fernando e Sylvia.

Agradecimentos

À Prof.^a Dr.^a CECÍLIA MARIA ROTELI MARTINS, pelo estímulo à realização deste trabalho e orientação.

Ao Prof. Dr. GUILHERME LOUREIRO WERNECK, pela orientação na análise estatística.

Estudo parcialmente financiado pela
GlaxoSmithKline *biologicals*
(Protocolo 999910/106)

Sumário

Símbolos, Siglas e Abreviaturas	
Lista de Tabelas	
Resumo	
Summary	
1. Introdução	23
2. Objetivos	47
2.1. Objetivo geral	47
2.2. Objetivos específicos	47
3. Sujeitos e Métodos.....	49
3.1. Delineamento do estudo	49
3.2. Tamanho Amostral.....	49
3.3. Sujeitos.....	50
3.3.1. Critérios de inclusão.....	51
3.3.2. Critérios de exclusão.....	52
3.4. Procedimentos do Estudo e Coleta de dados.....	53
3.4.1. Colpocitologia.....	54
3.4.2. Pesquisa do DNA do HPV	54
3.4.3. Teste urinário para gravidez	55
3.4.4. Questionário	56
3.5. Variáveis do estudo.....	56
3.6. Processamento e Análise dos dados.....	60
3.7. Aspectos éticos	61
4. Resultados	63
5. Discussão.....	85
6. Conclusões	115
7. Referências Bibliográficas.....	117
8. Bibliografia de Normatizações	133
9. Anexos	135
9.1. Anexo 1- Questionário	135
9.2. Anexo 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	142
10. Apêndice	149
10.1. Apêndice 1: Prevalência da infecção por HPV observada em estudos conduzidos em diferentes grupos populacionais	149

Símbolos, Siglas e Abreviaturas

AGUS	<i>Atypical glandular cells of undetermined significance</i> (Células glandulares atípicas de significado indeterminado)
ALTS	<i>The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study</i> (Estudo de triagem das lesões intra-epiteliais escamosas de baixo grau/células escamosas atípicas de significado indeterminado)
ASC-H	<i>Atypical squamous cells – cannot exclude HSIL</i> (Células escamosas atípicas – HSIL não pode ser excluída)
ASCUS	<i>Atypical squamous cells of undetermined significance</i> (Células escamosas atípicas de significado indeterminado)
ASC-US	<i>Atypical squamous cells of undetermined significance</i> (Células escamosas atípicas de significado indeterminado)
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio padrão
DST	Doença sexualmente transmissível
E	<i>Early region</i> (Região precoce)
EUA	Estados Unidos da América
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana

HPV	Papilomavírus humano
HSIL	<i>High grade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão intra-epitelial escamosa de alto grau)
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> (Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer)
IC 95%	Intervalo de Confiança de 95%
L	<i>Late region</i> (Região tardia)
LIPA	<i>Line probe assay</i>
LSIL	<i>Low grade squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau)
NIC	Neoplasia intra-epitelial cervical
Nm	Nanômetro
OR	<i>Odds ratio</i> (Razão de chances)
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RNA	Ácido ribonucléico
SIL	<i>Squamous intraepithelial lesion</i> (Lesão intra-epitelial escamosa)
URR	<i>Upstream regulatory region</i> (Região reguladora superior)
VLPs	<i>Virus like particles</i> (Partículas semelhantes ao vírus)

Lista de Tabelas

Pag

<i>Tabela 1: Distribuição das mulheres por local de recrutamento e início da atividade sexual</i>	<i>64</i>
<i>Tabela 2: Distribuição das mulheres sexualmente ativas de acordo com as características selecionadas</i>	<i>64</i>
<i>Tabela 3: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por HPV entre as mulheres sexualmente ativas.</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 4: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por tipos de alto risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas.</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 5: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por tipos de baixo risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas.</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 6: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por tipos não caracterizados do HPV entre as mulheres sexualmente ativas.</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 7: Prevalência geral e por local de recrutamento das infecções isoladas e mistas entre as mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV.</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 8: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção múltipla entre as mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV</i>	<i>69</i>
<i>Tabela 9: Prevalências dos tipos de alto risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas, por local de recrutamento e em ordem decrescente de frequência.</i>	<i>70</i>
<i>Tabela 10: Prevalências dos tipos de baixo risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas, por local de recrutamento e em ordem decrescente de frequência. .</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 11: Prevalências, geral e por local de recrutamento, dos diferentes diagnósticos citológicos entre as mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para o exame.</i>	<i>73</i>

<i>Tabela 12: Prevalência da infecção por HPV de acordo com o resultado da colpocitologia, entre as 1.315 mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para o exame.</i>	<i>74</i>
<i>Tabela 13: Prevalências das infecções por HPV isoladas e mistas de acordo com o resultado da colpocitologia, entre as 1.315 mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para o exame.</i>	<i>74</i>
<i>Tabela 14: Tipos do HPV identificados entre a mulheres que não haviam iniciado a atividade sexual.</i>	<i>75</i>
<i>Tabela 15: Razão de chances de prevalência para a infecção por HPV (qualquer tipo) de acordo com fatores sociodemográficos e comportamentais entre as mulheres sexualmente ativas (n=1.318). Análise bivariada.</i>	<i>77</i>
<i>Tabela 15: (continuação)</i>	<i>78</i>
<i>Tabela 16: Razão de chances de prevalência para a infecção por tipos de alto risco do HPV de acordo com fatores sociodemográficos e comportamentais entre as mulheres sexualmente ativas (n=1.116). Análise bivariada.</i>	<i>79</i>
<i>Tabela 17: Razão de chances de prevalência para a infecção por tipos de baixo risco do HPV de acordo com fatores sociodemográficos e comportamentais entre as mulheres sexualmente ativas (n=919). Análise bivariada.</i>	<i>81</i>
<i>Tabela 17: (continuação)</i>	<i>82</i>
<i>Tabela 18: Razão de chances de prevalência para os fatores independentemente associados à infecção por HPV (qualquer tipo), HPV de alto risco e HPV de baixo risco de acordo com o resultado final do modelo de regressão logística multivariado</i>	<i>83</i>

Resumo

Objetivos: Determinar as prevalências da infecção genital por papilomavírus humano (HPV) e de anormalidades citológicas cervicais em mulheres jovens de cinco cidades brasileiras e investigar a associação entre fatores sociodemográficos, comportamentais e reprodutivos e a detecção do DNA do HPV. **Sujeitos e métodos:** Entre agosto e dezembro de 2000, 1.489 mulheres saudáveis, de 15 a 25 anos de idade, atendidas em unidades públicas de saúde de cinco cidades brasileiras participaram deste estudo do tipo transversal. Amostras cervicais foram coletadas para a realização da colpocitologia em meio líquido e para a detecção do DNA do HPV através da reação em cadeia da polimerase (PCR) mediada pelos iniciadores SPF₁₀. A genotipagem do HPV foi realizada pelo *line probe assay* (LIPA) ou, em amostras negativas pelo LIPA, pelo seqüenciamento dos produtos da PCR. Todas as mulheres completaram um questionário de saúde. Utilizou-se a análise por regressão logística para a investigação dos fatores associados às infecções por tipos de alto ou baixo risco do HPV. **Resultados:** Entre as 1.318 mulheres sexualmente ativas, as prevalências das infecções por HPV (qualquer tipo), por HPV de alto risco e por HPV de baixo risco foram de

38,5%, 27,9% e 12,9%, respectivamente. A freqüência destas infecções foi bastante similar entre as mulheres recrutadas em cada uma das cinco cidades estudadas. O HPV 16 foi o tipo de alto risco mais freqüente, seguido dos tipos 52, 31, 51, 68 e 18. Citologia anormal foi observada em 17,8% das mulheres (ASCUS=10,7%; LSIL=6,0%; HSIL=0,8%). O DNA de tipos de alto risco do HPV foi detectado em 53,5% das mulheres com ASCUS, em 81,3% das mulheres com LSIL e em 72,7% das mulheres com HSIL. Número de parceiros sexuais durante a vida e situação conjugal (ser solteira, divorciada ou viúva) foram fatores associados à detecção tanto dos tipos de alto risco como dos tipos de baixo risco do HPV. O uso regular de anticoncepcionais orais teve uma associação negativa com a infecção por tipos de alto risco do HPV, enquanto o número de parceiros sexuais no último ano foi um fator determinante exclusivamente da infecção por tipos de baixo risco. Entre as 171 mulheres que não haviam iniciado a atividade sexual, a prevalência da infecção por HPV foi de 6,4%. **Conclusões:** Neste grupo de mulheres brasileiras, jovens e sexualmente ativas, a infecção por HPV e as anormalidades citológicas cervicais foram freqüentes e nenhuma diferença significativa foi observada entre as mulheres recrutadas em cada uma das cinco cidades. A infecção por HPV estava associada com fatores relacionados ao comportamento sexual da mulher e, principalmente, com a sua situação conjugal e número de parceiros sexuais.

Summary

Objective: To determine the prevalences of genital infection with HPV and abnormal cervical cytology in young women from five Brazilian cities and to investigate the association between detection of HPV DNA and socio-demographic, behavioral and reproductive factors. **Subjects and methods:** Between August and December 2000, 1,489 healthy women, ages 15 to 25 years, attending public health centers in five Brazilian cities participated in this cross-sectional study. Cervical samples were collected for liquid-based cytology and for HPV DNA detection by a SPF₁₀ primer-mediated polymerase chain reaction (PCR). HPV genotyping was performed with a line probe assay (LIPA) or by sequence analysis of PCR products in LIPA negative samples. All women completed a health questionnaire. Logistic regression analysis was conducted to investigate factors associated with low-risk and high-risk HPV infections. **Results:** Among 1,318 sexually active women the prevalence of HPV infection with any type, high-risk types and low-risk types were 38,5%, 27,9% and 12,9%, respectively. The frequency of those infections was very similar among women enrolled in each of the five cities. HPV 16 was the most frequent high-risk type detected followed by types 52, 31, 51, 68 and 18. Abnormal

cytology was observed in 17,8% of the women (ASCUS=10,7%; LSIL=6,0%; HSIL=0,8%). HPV DNA was detected in 53,5% of the women with ASCUS, in 81,3% of those with LSIL and in 72,7% of those with HSIL. Lifetime number of sexual partners and marital status (being single, divorced or widow) were factors associated with both high-risk and low-risk HPV infections. The regular use of oral contraceptives was negatively associated with the detection of high-risk types while number of sexual partners during the last year was a determinant factor of infection with low-risk HPV types, only. Among 171 women who were not sexually active, the overall HPV prevalence was 6,4%. **Conclusions:** in this group of young and sexually active Brazilian women, HPV infection and abnormal cervical cytology were frequent and no significant difference was observed among women enrolled in each of the five cities. HPV infection was associated with factors related to the woman's sexual behavior and mainly with her marital status and number of sexual partners.

1. Introdução

Apesar de existirem estratégias eficazes para a prevenção do câncer de colo do útero, esta doença continua sendo um grave problema de saúde em todo o mundo, especialmente nos países em desenvolvimento. Para o ano 2000 estimava-se que ocorreriam no mundo 470.606 novos casos de câncer de colo do útero com 233.372 óbitos, sendo que mais de 80% destes casos e óbitos ocorreriam em mulheres de países em desenvolvimento (FERLAY *et al.*, 2001). Nesses países o câncer de colo do útero é, após o câncer de mama, o tipo mais freqüente de câncer e constitui-se na principal causa de óbito por câncer entre as mulheres. Para o ano 2000 estimava-se que existiriam em todo o mundo 1,4 milhão de mulheres com câncer de colo do útero diagnosticados clinicamente, e cerca de 7 milhões de mulheres com neoplasia intra-epitelial cervical de alto grau (PROGRAM FOR APPROPRIATE TECHNOLOGY IN HEALTH, 2000).

A maior morbi-mortalidade por câncer de colo do útero em países em desenvolvimento resulta da inexistência ou ineficácia de programas para a detecção e tratamento precoce das lesões precursoras e as maiores taxas de incidência

da doença são observadas na Melanésia (Papua Nova Guiné, Ilhas Solomon, Fiji e Vanuatu na Oceania), África, América Central e América do Sul (PROGRAM FOR APPROPRIATE TECHNOLOGY IN HEALTH, 2000). Já nos países desenvolvidos e com programas eficientes de prevenção para o câncer de colo do útero, o câncer invasor é relativamente raro e as lesões precursoras e as citologias equívocas são um desafio para a saúde pública (BOSCH e DE SANJOSE, 2003).

Para os países desenvolvidos estima-se uma taxa de incidência de câncer de colo do útero, ajustada para idade, de 11,3/100.000 mulheres e para os países em desenvolvimento de 18,7/100.000 mulheres (FERLAY *et al.*, 2001). A taxa de incidência do câncer de colo do útero aumenta rapidamente após a idade de 25-30 anos e nos países mais desenvolvidos atinge um patamar de cerca de 23/100.000 mulheres após os 45 anos de idade. Já nos países menos desenvolvidos a taxa de incidência do câncer de colo do útero é de cerca de 53/100.000 mulheres entre os 45 e 54 anos de idade, de 65/100.000 mulheres entre 55 e 64 anos e de aproximadamente 53/100.000 mulheres após os 65 anos de idade (BOSCH e DE SANJOSE, 2003).

Para o Brasil foram estimadas taxas de incidência e mortalidade por câncer de colo do útero, ajustadas para a idade, de 31,2/100.000 mulheres e de 11,5/100.000 mulheres, respectivamente, para o ano 2000 (FERLAY *et al.*, 2001). Já para o ano 2003 estimava-se a ocorrência de 16.480 novos casos de câncer de colo do útero em mulheres brasileiras, com a doença sendo responsável pelo óbito de 4.110 mulheres. Em 2003, o câncer de colo do útero seria a terceira causa mais freqüente de câncer entre mulheres no Brasil, sendo apenas menos

que as neoplasias malignas da pele e o câncer de mama, e seria a quarta causa mais importante de óbitos por câncer entre mulheres. Apenas os cânceres de mama, pulmão e colorretais teriam maiores taxas de mortalidade (BRASIL, 2003).

Nas últimas duas décadas os avanços nas técnicas de biologia molecular permitiram a realização de diversos estudos epidemiológicos que identificaram uma forte associação entre a infecção por papilomavírus humano (HPV) e o câncer de colo do útero. Em onze estudos caso-controle coordenados pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) a razão de chances (OR), para o câncer cervical associado com a presença do HPV, foi de 158,2 com um Intervalo de Confiança de 95% (IC 95%) de 113,4 a 220,6 (MUNOZ *et al.*, 2003). Observou-se também que o DNA do HPV podia ser detectado em mais de 99% dos casos de câncer de colo do útero, tanto nos carcinomas de células escamosas como nos adenocarcinomas. Analisando a associação entre infecção por HPV e o câncer de colo do útero, diversas organizações acadêmicas internacionais concluíram tratar-se de uma associação de natureza causal e, atualmente, a infecção por HPV é considerada uma causa necessária, porém não suficiente, do câncer de colo do útero (WALBOOMERS *et al.*, 1999; BOSCH *et al.*, 2002; MUNOZ *et al.*, 2003).

O HPV é um vírus sem envelope, com cerca de 55nm de diâmetro, possui um capsídeo icosaédrico com 72 capsômeros e seu genoma é composto de DNA circular, de dupla hélice, com cerca de 7.900 pares de bases. O genoma do HPV é organizado em três regiões: região precoce (E), região tardia (L) e região reguladora (URR). Os genes L1 e L2 codificam as proteínas do capsídeo viral e os genes E as proteínas envolvidas na replicação viral e transformação. Os genes

E5, E6 e E7 codificam proteínas responsáveis pela transformação, sendo que a proteína E6 é capaz de inativar a proteína supressora de tumor p53 e a E7 interage com a proteína do retinoblastoma. Os genes E1 e E2 estão envolvidos na replicação viral. Duas ou mais proteínas relacionadas com a replicação episomal do DNA são codificadas por E1 enquanto as proteínas codificadas por E2 regulam, positiva ou negativamente, a transcrição viral. A proteína E4 é o produto predominante da infecção viral produtiva e, por interagir com a citoqueratina, talvez esteja relacionada a alterações estruturais no citoplasma das células infectadas, levando à formação dos coilócitos. O HPV apresenta tropismo pela pele e membranas mucosas, e entre as doenças extragenitais causadas por este vírus incluem-se a verruga comum, os papilomas conjuntivais e a papilomatose respiratória recorrente (SONNEX, 1998; REICHMAN, 2001; STOLER, 2003).

Aproximadamente 100 tipos do HPV já foram descritos e tiveram seus genomas completos isolados e caracterizados. Entretanto, através da detecção de fragmentos parciais do genoma, presume-se que existam vários outros tipos do vírus. Tipos distintos do HPV apresentam diferenças superiores a 10% na sequência do DNA na região L1 do genoma. Subtipos do HPV apresentam diferenças entre 2% a 10% e variantes intratípicas apresentam diferenças inferiores a 2% nesta mesma região do genoma (DE VILLIERS *et al.*, 2004).

Mais de 40 tipos de HPV podem infectar o trato genital e estes são classificados como tipos de baixo risco (não oncogênicos), quando associados a lesões benignas, ou de alto risco (oncogênicos), quando associados ao câncer cervical. Critérios filogenéticos e epidemiológicos têm sido utilizados para esta

classificação. Alguns tipos do HPV são consistentemente classificados como de alto risco ou de baixo risco. Entretanto, para outros tipos, não se observa consenso na literatura quanto a sua classificação. Consistentemente, os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68 são incluídos no grupo de alto risco e os tipos 6, 11, 40, 42, 43, 44 são considerados como de baixo risco. Já para os tipos 26, 34, 53, 54, 55, 61, 62, 66, 73, 82, 83, entre outros, observam-se divergências na sua classificação, sendo eles algumas vezes considerados, individualmente, como de alto risco, de baixo risco, de risco indeterminado ou de provável alto risco (JACOBS *et al.*, 1997; GRAVITT *et al.*, 1998; JACOBS *et al.*, 2000; GRAVITT *et al.*, 2001; KJAER *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; SCHLECHT *et al.*, 2001; GIULIANO *et al.*, 2002a; MOLANO *et al.*, 2002; VAN DEN BRULE *et al.*, 2002; MUNOZ *et al.*, 2003).

A maioria dos casos de câncer cervical é causada pelos tipos 16 e 18, sendo o HPV 16 predominante no carcinoma de células escamosas e o HPV 18 nos adenocarcinomas (CLIFFORD *et al.*, 2003). Em estudo caso-controle multicêntrico sobre o câncer cervical conduzido pela IARC, os tipos 16 ou 18 foram identificados em 67,7% dos casos de carcinoma de células escamosas e os tipos 16, 18, 45, 31 ou 33 em 80,3% dos casos. Já entre as mulheres com adenocarcinomas/adenocarcinomas escamosos a prevalência cumulativa dos tipos 16, 18, 45, 59 e 33 foi de 94,1% (BOSCH e DE SANJOSE, 2003).

A infecção genital por HPV é, entre as doenças sexualmente transmissíveis, uma das mais freqüentes (KOUTSKY, 1997). A transmissão do HPV ocorre através do contato sexual com um parceiro infectado, sendo o número de parceiros sexuais um fator de risco para a aquisição da infecção (TORTOLERO-LUNA, 1999).

Embora as relações sexuais com penetração sejam importantes na transmissão, admite-se que a aquisição do HPV possa ocorrer também através de contatos sexuais sem penetração (MARRAZZO *et al.*, 2001; SCHIFFMAN e KJAER, 2003; WINER *et al.*, 2003).

Tipicamente observa-se maior prevalência da infecção por HPV em mulheres jovens, prevalência esta que diminui progressivamente após os 30-40 anos de idade. A menor prevalência da infecção por HPV em mulheres após a terceira ou quarta década de vida estaria relacionada à transitoriedade da infecção por HPV e à menor incidência da infecção nesta faixa etária, por menor exposição e/ou aquisição de imunidade. Entretanto, em algumas populações observou-se um novo aumento na prevalência do HPV em mulheres ao redor da menopausa (BURK *et al.*, 1996; HERRERO *et al.*, 2000; JACOBS *et al.*, 2000; BOSCH *et al.*, 2002; SCHIFFMAN e KJAER, 2003).

No modelo proposto para a história natural do câncer cervical, uma vez ocorrida a infecção por HPV, esta pode regredir espontaneamente ou levar ao aparecimento da lesão intra-epitelial escamosa de baixo grau (LSIL), cuja progressão subsequente resultaria na lesão intra-epitelial escamosa de alto grau (HSIL) e, eventualmente, no câncer cervical invasor. Entretanto, admite-se também a progressão direta da infecção por HPV para a lesão de alto grau. A evolução das lesões intra-epiteliais cervicais não é um processo irreversível, sendo possível a regressão espontânea das mesmas (BOSCH *et al.*, 2002; SCHIFFMAN e CASTLE, 2003).

A maioria das infecções por HPV é transitória, com o vírus tornando-se indetectável em um a dois anos, seja por eliminação completa da infecção ou pelo estabelecimento de uma infecção latente, não detectada pelos métodos moleculares convencionais, sendo que pouco se conhece sobre a frequência e evolução desta forma latente (HO *et al.*, 1998; SCHIFFMAN e KJAER, 2003). Cerca de 80% das infecções por tipos de alto risco do HPV seriam transitórias e não estariam associadas ao aparecimento da neoplasia intra-epitelial cervical (NIC). Por outro lado, em aproximadamente 20% das mulheres, a infecção por um tipo de alto risco levaria ao desenvolvimento de uma NIC, mas na maioria dessas mulheres haveria posteriormente regressão da infecção e da lesão. Apenas em um pequeno grupo de mulheres ocorreria a persistência da infecção por HPV de alto risco, com evolução da lesão para NIC 3 e, eventualmente, para o câncer cervical invasor. Estima-se um intervalo de cerca de 15 anos entre a ocorrência da infecção por HPV e o aparecimento do câncer cervical invasor (MEIJER *et al.*, 2000). A infecção persistente por um tipo de alto risco do HPV é considerada um fator necessário para a manutenção e progressão da lesão intra-epitelial cervical (HO *et al.*, 1995; REMMINK *et al.*, 1995; NOBBENHUIS *et al.*, 1999).

Com relação à LSIL, cerca de 60% a 80% destas lesões regredem espontaneamente, sendo que em adolescentes a frequência de regressão é ainda maior e em torno de 90% (MOSCICKI, 1999). A maioria das LSIL está associada com a infecção por HPV de alto risco. Em estudo recente, a infecção por HPV de alto risco foi detectada em aproximadamente 80% das mulheres com LSIL (THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP, 2000). A maioria das mulheres

com diagnóstico citológico de LSIL apresenta NIC 1 ou não tem lesão detectada pela biópsia cervical. Entretanto, cerca de 15% a 30% destas mulheres podem ter uma lesão compatível com NIC 2 ou NIC 3 na biópsia (WRIGHT *et al.*, 2002).

A NIC 2 ou 3, identificada por biópsia, pode surgir precocemente após a infecção por HPV e uma lesão anterior nem sempre é detectada (COX, 2001; WOODMAN *et al.*, 2001). A NIC 3 provavelmente persiste por um longo período de tempo antes de evoluir para o câncer e estima-se que um a dois terços destas lesões progridam para o câncer invasor (SCHIFFMAN e KJAER, 2003).

As infecções por tipos de baixo risco do HPV tendem a ser de menor duração do que as causadas por tipos de alto risco (FRANCO *et al.*, 1999) e raramente persistem (BOSCH *et al.*, 2002). A infecção por um tipo de baixo risco pode resultar em NIC 1 e algumas vezes em NIC 2, mas estas lesões nunca ou de forma extremamente rara progridem (MEIJER *et al.*, 2000).

Nas lesões benignas, o DNA do HPV é encontrado de forma extracromossômica, enquanto que no câncer o DNA viral está freqüentemente integrado ao cromossoma da célula hospedeira. A NIC 1 resulta de uma infecção viral produtiva. A infecção viral produtiva é altamente controlada e ocorre apenas em células que perderam a capacidade de proliferação e iniciaram a maturação escamosa. Neste tipo de infecção, à medida que ocorre a diferenciação celular, observa-se a indução de todos os genes virais e síntese do DNA viral, com a formação de partículas virais em células situadas logo abaixo da superfície do epitélio. Na NIC 1, o aumento nuclear e a hipercromasia resultam da ativação

da síntese do DNA da célula hospedeira mediada pelos genes E6 e E7 do HPV. Porém, a ativação desta síntese do DNA ocorre em células que perderam a capacidade de divisão (STOLER, 2003).

Por outro lado, na NIC 2 ou 3 observa-se proliferação das células tipo basais devido à expressão inapropriada e aumentada dos oncogenes E6 e E7 em células que mantêm a capacidade de divisão. Essa expressão inapropriada dos oncogenes E6 e E7 do HPV talvez esteja relacionada à perda dos mecanismos de regulação mediados por E2, como consequência de mutações neste gene ou como consequência da integração viral. Estas alterações ocorrem predominantemente com os tipos de alto risco do HPV e as células em proliferação têm maior probabilidade de adquirir alterações genéticas, seleção clonal e outras que levariam ao câncer invasor (STOLER, 2003).

Não sendo a infecção por HPV uma causa suficiente para o câncer de colo do útero, estudos têm sido conduzidos na tentativa de identificar fatores que poderiam aumentar o risco de progressão da infecção. Os potenciais co-fatores da infecção por HPV para o desenvolvimento do câncer de colo do útero incluem os ambientais (uso de anticoncepcionais orais, tabagismo, infecção concomitante pelo vírus da imunodeficiência humana ou outros agentes sexualmente transmissíveis), os relacionados ao próprio vírus (tipo viral, variantes, carga viral ou co-infecção com outros tipos do HPV) e os fatores relacionados ao hospedeiro (paridade, resposta imunológica e determinantes genéticos).

A associação entre uso de anticoncepcionais orais e câncer de colo do útero não tem sido consistente (CASTELLSAGUE e MUNOZ, 2003). Entretanto, alguns estudos observaram em mulheres positivas para o HPV uma associação entre o uso prolongado de anticoncepcionais orais (mais de cinco anos) e o câncer cervical (HILDESHEIM *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 2002). O uso de anticoncepcionais orais poderia influenciar a progressão da infecção por promover a integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro e estimular a transcrição dos genes E6 e E7 envolvidos na carcinogênese (CASTELLSAGUE e MUNOZ, 2003).

Alguns estudos observaram, em mulheres positivas para o DNA do HPV, maior risco de câncer cervical associado com um maior número de gestações a termo ou de nascidos vivos. Em estudos conduzidos pela IARC, a razão de chances para o câncer cervical aumentou linearmente com o número de gestações, sendo que mulheres com sete gestações ou mais tiveram uma chance 3,9 vezes maior (IC 95%: 1,9-7,9) de apresentar câncer cervical do que mulheres nulíparas. O maior risco de câncer cervical em mulheres com elevado número de gestações poderia estar relacionado à manutenção prolongada da zona de transformação na exocérvice ou a alterações hormonais como níveis aumentados de estrogênio e progesterona (HILDESHEIM *et al.*, 2001; MUNOZ *et al.*, 2002; CASTELLSAGUE e MUNOZ, 2003).

O tabagismo parece também aumentar o risco de câncer cervical em mulheres positivas para o HPV, sendo esta associação consistentemente observada em vários estudos. Carcinógenos presentes no tabaco podem ser encontrados no muco cervical e o tabaco poderia danificar diretamente o DNA

ou comprometer a resposta imunológica local, facilitando a persistência do HPV (CASTELLSAGUE e MUNOZ, 2003).

Embora existam evidências de que a *Chlamydia trachomatis* e o vírus herpes simples tipo 2 possam estar associados com um maior risco de câncer de colo do útero, pesquisas adicionais são necessárias para confirmar o papel desses agentes infecciosos como co-fatores da infecção por HPV no câncer cervical. A infecção concomitante por outros agentes sexualmente transmissíveis poderia causar um processo inflamatório crônico, que resultaria em comprometimento da imunidade celular, facilitando, assim, a persistência da infecção por HPV (SMITH *et al.*, 2002a; SMITH *et al.*, 2002b; CASTLE e GIULIANO, 2003). Da mesma forma, novos estudos seriam necessários para esclarecer se fatores dietéticos e situação nutricional seriam co-fatores da infecção por HPV no desenvolvimento do câncer de colo do útero (CASTELLSAGUE *et al.*, 2002; CASTLE e GIULIANO, 2003).

Comparadas com mulheres saudáveis, as mulheres infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) apresentam maior risco de desenvolver neoplasias anogenitais associadas ao HPV, sendo sugerido que a imunossupressão facilitaria o aparecimento das lesões precursoras de alto grau. Entretanto, a progressão destas lesões para o câncer seria independente da situação imunológica da mulher, talvez porque a progressão esteja mais relacionada à ocorrência de alterações genéticas celulares. Igualmente, observa-se maior risco de neoplasias anogenitais associadas ao HPV em outras situações de imunodepressão, incluindo aquela resultante do transplante de órgãos (CASTELLSAGUE *et al.*, 2002; PALEFSKY e HOLLY, 2003).

Diversos fatores relacionados ao próprio vírus ou ao hospedeiro podem influenciar a persistência da infecção por HPV e sua progressão para o câncer de colo do útero. As variantes não europeias do HPV 16 têm sido associadas a um maior risco de câncer cervical, o que talvez também ocorra para as variantes não europeias do HPV 18 e do HPV 58 (VILLA *et al.*, 2000; CHAN *et al.*, 2002b; HILDESHEIM e WANG, 2002). A carga viral e a integração viral parecem correlacionar-se com o risco de câncer cervical, mas o valor preditivo da carga viral na progressão da infecção e a importância biológica da integração viral ainda não foram claramente determinados (HILDESHEIM e WANG, 2002; WANG e HILDESHEIM, 2003).

Historicamente, a prevenção do câncer de colo do útero tem-se baseado no exame de Papanicolaou, desenvolvido na década de 30 pelo Dr. George Papanicolaou, e que permite detectar, em células esfoliadas do colo de útero e fixadas em lâmina de vidro, alterações sugestivas de câncer ou de suas lesões precursoras (PROGRAM FOR APPROPRIATE TECHNOLOGY IN HEALTH, 2000). Países que implementaram programas eficientes de prevenção para o câncer cervical baseados nesse exame conseguiram reduzir acentuadamente a incidência e mortalidade associadas à doença (SIGURDSSON, 1999; PROGRAM FOR APPROPRIATE TECHNOLOGY IN HEALTH, 2000; SASLOW *et al.*, 2002). Apesar da importância do exame de Papanicolaou para a prevenção do câncer cervical, o mesmo apresenta limitações relacionadas, principalmente, à sua baixa sensibilidade. Um estudo recente de metanálise estimou que o exame de Papanicolaou teria uma sensibilidade de apenas 51% para a detecção de qualquer

NIC (MCCRORY *et al.*, 1999). Para as lesões de alto grau, a sensibilidade do exame de Papanicolaou seria maior, atingindo 70% a 80% (SCHROEDER, 2003). Esse exame é considerado também um teste específico para a detecção das lesões de alto grau e lesões sugestivas de câncer (PROGRAM FOR APPROPRIATE TECHNOLOGY IN HEALTH, 2000).

Essas limitações da citologia convencional estimularam o desenvolvimento de novas tecnologias para a prevenção do câncer cervical como a citologia em meio líquido. Na citologia em meio líquido o instrumento utilizado para a coleta da amostra cervical é colocado em um líquido conservante, obtendo-se assim uma suspensão de células. Esta suspensão de células é posteriormente utilizada para o preparo da lâmina, sendo que este preparo é feito através de diferentes processos, de acordo com o sistema utilizado. Vários sistemas para a realização da citologia em meio líquido estão atualmente disponíveis como o *AutoCytePrep®*, *Cytoscreen®*, *Labonord Easy Prep®* e *ThinPrep®*. Entre as vantagens descritas para a citologia em meio líquido incluem-se uma melhor qualidade do esfregaço cervical, que conteria uma amostra mais representativa das células coletadas, células melhor preservadas, menor superposição celular e menor contaminação com sangue, pus e muco. Além disso, a suspensão de células em um meio conservante pode ser utilizada para testes de biologia molecular, como a pesquisa do DNA do HPV. Em relação ao desempenho da citologia em meio líquido tem-se observado que esta metodologia parece diminuir a frequência de amostras insatisfatórias, apresenta maior sensibilidade para detecção das lesões intra-epiteliais escamosas (SIL) e diminui o tempo necessário para a interpretação da citologia. Por outro lado, é

uma metodologia de custo elevado, exige treinamento do pessoal de laboratório e talvez tenha menor especificidade. Também não se conhece ainda o impacto da citologia em meio líquido na incidência e mortalidade associadas ao câncer cervical (PAYNE *et al.*, 2000).

Um estudo de metanálise observou que, em comparação com a citologia convencional, a citologia em meio líquido foi superior para identificar as lesões intra-epiteliais escamosas de baixo e alto graus, porém não foram observadas diferenças nas frequências de diagnósticos de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASCUS). Entretanto, os autores ressaltaram que para uma melhor avaliação do desempenho da citologia em meio líquido seriam necessários estudos que comparassem os diagnósticos citológicos com os achados histológicos (BERNSTEIN *et al.*, 2001). Outra revisão sistemática sobre o assunto concluiu que a citologia em meio líquido teria maior sensibilidade e menor especificidade do que a citologia convencional, embora tenha se observado, entre as citologias em meio líquido, uma maior proporção de amostras sem um componente endocervical. Nessa revisão foram incluídos apenas estudos que utilizaram um padrão de referência externo (colposcopia e biópsia; revisão dos testes normais por um painel de citologistas) para comparar os dois métodos citológicos (SULIK *et al.*, 2001). Nas suas normas para a detecção precoce da neoplasia e do câncer cervical, a *American Cancer Society* concluiu que a citologia em meio líquido é mais sensível, porém menos específica, do que a citologia convencional para a detecção das lesões de alto grau e talvez aumente a

detecção de células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) e a proporção de amostras sem um componente endocervical (SASLOW *et al.*, 2002).

Como consequência das limitações da colpocitologia para a detecção do câncer cervical observa-se, nos últimos anos, um grande interesse na utilização dos testes de identificação do DNA do HPV na prática clínica. Essencialmente, três diferentes metodologias estão disponíveis para a detecção do DNA do HPV: os métodos de detecção direta do DNA, os métodos baseados na amplificação do sinal e os métodos de amplificação do alvo. Os métodos de detecção direta do DNA incluem o *Southern blot*, a Hibridização *in situ* e o *Dot blot*. Uma das grandes vantagens da Hibridização *in situ* consiste na preservação da morfologia da amostra clínica, o que permite a localização do HPV no tecido e na célula infectada. A Captura Híbrida é o único método disponível comercialmente para a detecção do DNA do HPV e baseia-se na amplificação do sinal. Na Captura Híbrida, a hibridização do DNA é realizada com sondas de RNA de tipos de baixo ou alto risco do HPV. Estes híbridos de DNA-RNA são posteriormente capturados por anticorpos monoclonais e visualizados através de métodos de quimioluminescência (VAN DOORN *et al.*, 2001; HUBBARD, 2003).

A detecção do DNA do HPV através do método de amplificação do alvo é feita pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Na PCR são utilizados iniciadores gerais (consensuais) ou iniciadores tipo específicos para a amplificação do DNA do HPV. Com os iniciadores tipo específicos consegue-se detectar apenas um tipo do HPV em cada reação. Isto limita a utilidade clínica da PCR baseada nestes iniciadores, já que diversos tipos do HPV podem ser encontrados nas infecções

genitais. Por outro lado, com os iniciadores gerais pode-se amplificar vários tipos do HPV em uma única reação. Os iniciadores gerais são direcionados basicamente para as regiões L1 e E1 do genoma do HPV e que parecem ser as regiões mais conservadas. Entretanto, não existem áreas perfeitamente congruentes entre os diferentes tipos do HPV, sendo portanto necessária a utilização de alguns mecanismos para que os iniciadores gerais possam amplificar simultaneamente vários tipos do HPV. Estes mecanismos incluem a utilização de iniciadores degenerados (misturas de oligonucleotídeos apresentando diferenças nos nucleotídeos em várias posições), iniciadores contendo resíduos de inosina, resíduos estes que se combinam com qualquer nucleotídeo e aceitação de um certo grau de incongruências entre os iniciadores e o DNA-alvo através de uma hibridização em baixas temperaturas. Vários conjuntos de iniciadores gerais já foram descritos como o GP5+/6+, MY09/11, PGMY e SPF₁₀. Após a amplificação do DNA por meio da PCR, o genótipo do HPV pode ser identificado através do seqüenciamento direto do produto da PCR, através da utilização de enzimas de restrição (*restriction fragment length polymorphism*) ou pela hibridização dos produtos da PCR com sondas de oligonucleotídeos, utilizando métodos como a hibridização reversa. A hibridização reversa tem-se mostrado útil para a hibridização simultânea do produto da PCR com múltiplas sondas de oligonucleotídeos. O *line probe assay* (LIPA), o *line blot assay* e o HPV-DNA *chip* são metodologias embasadas na hibridização reversa (VAN DOORN *et al.*, 2001).

A PCR tem sensibilidade bastante elevada, porém está sujeita à contaminação caso não sejam utilizados procedimentos apropriados. Entre os métodos para

quantificar o DNA do HPV incluem-se a Captura Híbrida e a PCR em tempo real (HUBBARD, 2003).

A PCR baseada no sistema de iniciadores SPF₁₀ e seguida do LIPA (SPF-LIPA) tem-se mostrado um método eficaz para a identificação dos diferentes tipos do HPV (KLETER *et al.*, 1999). O sistema de iniciadores SPF₁₀ consiste em um conjunto de 10 iniciadores que amplificam um pequeno fragmento de 65 pares de bases da região L1 do HPV. Após a amplificação do DNA, a genotipagem é feita através do LIPA, ensaio que permite a caracterização rápida e simultânea de 25 tipos do HPV (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33-35, 39, 40, 42-45, 51-54, 56, 58, 59, 66, 68, 70 e 74). No LIPA, o produto final da PCR é desnaturado e hibridizado com sondas tipo específicas, imobilizadas em linhas paralelas em uma membrana de nitrocelulose. Os híbridos assim obtidos são detectados através da adição de um conjugado de estreptavudina e substrato, o que resulta na formação de um precipitado de cor púrpura no local da sonda. O padrão de hibridização é comparado com um modelo, sendo então identificados os tipos específicos do HPV presentes na amostra (KLETER *et al.*, 1998; 1999; VAN DOORN *et al.*, 2001)

Entre as vantagens descritas para o sistema SPF-LIPA incluem-se alta sensibilidade para a detecção de um amplo espectro de tipos do HPV e elevada especificidade na genotipagem do vírus. Além disso, este sistema apresenta boa capacidade para detectar simultaneamente mais de um tipo do HPV na amostra, mesmo quando um tipo predomina sobre o outro, o que é útil no diagnóstico das infecções múltiplas. O sistema SPF-LIPA tem-se mostrado eficiente também para a detecção do DNA do HPV em amostras clínicas fixadas pelo

formol ou incluídas em parafina. Estas amostras podem conter DNA danificado e os iniciadores que geram produtos menores, como o SPF₁₀, parecem ter maior eficácia do aqueles que geram produtos de maior tamanho (KLETER *et al.*, 1998; 1999).

GRAVITT e colaboradores (1998) descreveram a genotipagem de 27 diferentes tipos do HPV usando um *reverse line blot assay* e o conjunto de iniciadores MY09/11. Mais recentemente, VAN DEN BRULE e colaboradores (2002) descreveram a identificação de 37 tipos do HPV utilizando o conjunto de iniciadores GP5+/6+ e também um *reverse line blot assay*.

Diversos estudos têm avaliado a utilidade do teste para o DNA do HPV na prevenção primária do câncer cervical e também na triagem de mulheres com alterações citológicas específicas (ASCUS e LSIL) e no acompanhamento de mulheres que receberam tratamento para NIC.

Em revisão recente de diversos estudos que avaliaram o desempenho do teste de identificação do DNA do HPV na prevenção primária do câncer de colo do útero, FRANCO (2003) estimou que, em comparação com a citologia, o teste para o DNA do HPV teria em média uma sensibilidade 27% maior e uma especificidade 8,4% menor para a detecção das lesões de alto grau. A citologia teria, em média, sensibilidade de 60% e especificidade de 95% enquanto que o teste para o DNA do HPV teria, em média, sensibilidade de 85% e especificidade de 84%. Em mulheres com mais de 30-35 anos o teste para o DNA do HPV teria um desempenho melhor (sensibilidade de 89% e especificidade de 90%) devido, provavelmente, a menor frequência de infecções transitórias neste grupo etário.

O teste para o DNA do HPV e a citologia, se utilizados em combinação, teriam sensibilidade e valor preditivo negativo bastante elevados - e de quase 100% - para as lesões de alto grau, porém com perda na especificidade (RATNAM *et al.*, 2000; FRANCO, 2003; SHERMAN *et al.*, 2003).

Recentemente, a *American Cancer Society*, em suas normas para a detecção precoce da neoplasia e do câncer cervical, considerou que, como alternativa à citologia isolada, a prevenção primária do câncer de colo do útero em mulheres acima de 30 anos poderia ser feita com o teste para tipos de alto risco do HPV, associado à citologia convencional ou à citologia em meio líquido, sendo estes exames realizados a cada três anos. Ressaltou, entretanto, a necessidade de serem criadas normas para a abordagem de mulheres com citologia normal e positivas para um tipo de alto risco do HPV (SASLOW *et al.*, 2002).

O teste para o DNA do HPV tem-se mostrado útil também na abordagem de mulheres com resultados citológicos de células escamosas atípicas. Aproximadamente 40% a 50% das mulheres com ASCUS na citologia cervical são positivas para o DNA do HPV. Além disso, quase todos os casos ocultos de NIC 2 e NIC 3, associados com um diagnóstico citológico de ASCUS, ocorrem nestas mulheres positivas para o HPV. Assim, a utilização do teste para o DNA do HPV permite identificar adequadamente as mulheres com ASCUS que necessitam de avaliação posterior por colposcopia, e ao mesmo tempo evita que quase a metade das mulheres sejam encaminhadas para colposcopia desnecessariamente (MANOS *et al.*, 1999; SOLOMON *et al.*, 2001; THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP, 2003b).

De acordo com as normas para o manuseio de mulheres com anormalidades na citologia cervical da Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical, as condutas para mulheres com células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US) podem ser a repetição da citologia, a colposcopia imediata ou a pesquisa do DNA de tipos de alto risco do HPV. A pesquisa do DNA do HPV é considerada a melhor estratégia quando se utiliza a citologia em meio líquido ou quando se realiza a coleta simultânea de material para citologia convencional e pesquisa do HPV. Mulheres positivas para um tipo de alto risco do HPV devem ser submetidas à colposcopia e aquelas negativas devem repetir a citologia após 12 meses. Com relação ao diagnóstico citológico de “células escamosas atípicas–HSIL não pode ser excluída” (ASC-H), todas as mulheres com este resultado na citologia devem ser submetidas à colposcopia, uma vez que de 24% a 94% destas mulheres podem ter NIC 2 ou NIC 3 em biópsia cervical subsequente (WRIGHT *et al.*, 2002).

Um resultado de HSIL na citologia é altamente específico e tem valor preditivo positivo elevado, não sendo necessário um teste adicional de triagem. Em mulheres com LSIL observou-se elevada prevalência da infecção por HPV, o que limita a utilidade do teste para o DNA do HPV na triagem destas lesões (THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP, 2000; SOLOMON, 2003 ; THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP, 2003a).

O teste para o DNA do HPV tem sido recomendado para o acompanhamento de mulheres que tiveram diagnóstico de células escamosas atípicas ou LSIL na citologia e nas quais a biópsia não confirmou uma NIC (WRIGHT *et al.*, 2002), e

talvez também seja útil na monitorização da eficácia do tratamento das NIC 2 e NIC 3. Após o tratamento da NIC 2 ou NIC 3 pode-se observar, em alguns casos, lesão residual ou recorrência da lesão. Existem evidências sugerindo que a eliminação do DNA do HPV estaria associada a um risco menor de aparecimento de NIC após o tratamento, enquanto que a persistência da infecção indicaria um maior risco de falha terapêutica (SOLOMON, 2003; WRIGHT *et al.*, 2003).

A imunização ativa contra o HPV tem demonstrado bons resultados e talvez no futuro passe a ser um componente importante das estratégias de prevenção do câncer de colo do útero (BREITBURD e COURSAGET, 1999). As principais vacinas profiláticas contra o HPV em desenvolvimento são baseadas nas “Partículas semelhantes ao vírus” (VLPs – *virus like particles*) que contêm a proteína L1 do capsídeo viral de tipos específicos do HPV. Estas VLPs são formadas através da agregação espontânea das proteínas do capsídeo viral sintetizadas através da tecnologia do DNA recombinante e parecem induzir altos títulos de anticorpos neutralizantes. Entretanto, a proteção conferida por estas vacinas é do tipo específica e para se obter uma redução na incidência do câncer de colo do útero, uma vacina contra o HPV deverá conter provavelmente VLPs relacionadas aos tipos de HPV mais freqüentemente isolados entre os casos de câncer de colo do útero em determinada região. Amplos estudos de eficácia estão sendo planejados com vacinas contra o HPV contendo VLPs para os tipos 16 e 18, combinadas ou não com VLPs para os tipos 6 e 11. Espera-se que esses estudos sejam capazes de demonstrar a eficácia dessas vacinas em diminuir a ocorrência de infecções persistentes por HPV ou a ocorrência de neoplasias

intra-epiteliais cervicais moderadas e graves. Uma vez licenciadas, as vacinas contra o HPV terão como principal grupo-alvo as adolescentes jovens que ainda não iniciaram a atividade sexual, ou seja, mulheres com baixo risco de já terem sido infectadas por HPV (LOWY e FRAZER, 2003).

Recentemente, KOUTSKY e colaboradores (2002) observaram entre 2.392 mulheres jovens, em estudo duplo cego, randomizado e controlado com placebo, que uma vacina contendo VLPs do HPV 16 e administrada em três doses (0, 2 e 6 meses) obteve eficácia de 100% na prevenção da infecção persistente por HPV 16. Após o seguimento de aproximadamente 17,4 meses, a incidência da infecção persistente por HPV 16 foi de 3,8/100 mulheres-ano no grupo placebo e nenhum caso desta infecção foi detectado no grupo vacinado. Além disso, todos os nove casos de neoplasia intra-epitelial cervical associada ao HPV 16 ocorreram no grupo placebo.

Outras vacinas contra o HPV em avaliação são as VLPs baseadas na proteína do capsídeo viral L2, as quais talvez possam induzir uma proteção cruzada contra outros tipos de HPV, e as vacinas quiméricas. As vacinas quiméricas contêm, além de VLPs baseadas em proteínas do capsídeo viral, polipeptídeos obtidos de proteínas não estruturais do HPV, o que talvez confira a essas vacinas propriedades profiláticas e terapêuticas. Uma vacina com efeitos profiláticos e terapêuticos combinados poderia ter um maior impacto na incidência do câncer de colo do útero a curto prazo, porque, além de prevenir novas infecções, poderia eliminar as infecções já estabelecidas (LOWY e FRAZER, 2003).

A prevalência da infecção por HPV parece estar relacionada com a incidência do câncer cervical, principalmente em países que não sofreram grande influência de programas de prevenção para este câncer. Altas taxas de incidência de câncer cervical podem ser observadas ou podem ser previstas para populações com altas prevalências da infecção por HPV (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2001; BOSCH e DE SANJOSE, 2003; SHIN *et al.*, 2003). Assim, apesar de o câncer cervical ser um evento raro em mulheres jovens, conhecer a prevalência do principal fator responsável por esse câncer, e que consiste em infecção genital por tipos de alto risco do HPV, poderá contribuir para o planejamento das estratégias de prevenção da doença.

Além disso, conhecer a prevalência da infecção por HPV em um grupo populacional específico poderá ser útil também para o planejamento de pesquisas com vacinas contra o HPV a serem realizadas com esse grupo, e informações sobre a prevalência dos diferentes tipos do HPV em uma população poderão contribuir para o planejamento de futuras estratégias de vacinação.

Em relação aos fatores associados à infecção por HPV observa-se que o número de parceiros sexuais tem sido freqüentemente identificado como um fator de risco para a infecção. Entretanto, a associação entre essa infecção e outros fatores comportamentais, sociodemográficos e reprodutivos não tem sido tão consistente e estudos conduzidos em diferentes grupos populacionais têm encontrado diferentes fatores determinantes da infecção por HPV (BAUER *et al.*, 1993; HILDESHEIM *et al.*, 1993; FRANCO *et al.*, 1995; MUNOZ *et al.*, 1996; TORTOLERO-LUNA, 1999; ROUSSEAU *et al.*, 2000; SELLORS *et al.*, 2000;

GIULIANO *et al.*, 2001; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; MOLANO *et al.*, 2002; DE SANJOSE *et al.*, 2003; MATOS *et al.*, 2003; PHAM *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2003; SUKVIRACH *et al.*, 2003). Assim, investigar fatores associados à infecção por HPV em um grupo populacional específico poderá contribuir para um melhor conhecimento da história natural da doença neste grupo.

Apesar de o câncer cervical ser um importante problema de saúde no Brasil, em revisão da literatura encontram-se poucos estudos sobre a infecção por HPV em mulheres brasileiras e que utilizaram as novas técnicas da biologia molecular para identificação de um amplo espectro de tipos do vírus. Igualmente, poucos estudos abordam a ocorrência de anormalidades citológicas cervicais em mulheres brasileiras com a utilização da citologia em meio líquido. No presente trabalho são relatados os resultados de um estudo que, além de ter sido realizado entre mulheres jovens de diferentes regiões do Brasil, utilizou metodologias consideradas bastantes sensíveis para a detecção do DNA de um amplo espectro de tipos do HPV e a citologia em meio líquido. Pretende-se assim, com este trabalho, contribuir para um maior conhecimento sobre a epidemiologia da infecção por HPV mulheres brasileiras, conhecimento este que é relevante e necessário para a definição de estratégias de prevenção do câncer cervical no Brasil.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Determinar, em mulheres jovens de cinco cidades brasileiras, a prevalência da infecção cervical por HPV, a prevalência de anormalidades citológicas cervicais e investigar a associação entre a infecção por HPV e fatores sociodemográficos, comportamentais e reprodutivos.

2.2. Objetivos específicos

1. Determinar para todo o grupo estudado e para cada local de recrutamento:
 - a prevalência da infecção cervical por HPV (detecção de qualquer tipo do HPV);
 - a prevalência da infecção cervical por tipos de alto risco, por tipos de baixo risco e por tipos não caracterizados do HPV;
 - a prevalência de cada tipo específico do HPV;
 - a prevalência da infecção simultânea por mais de 1 tipo do HPV;

2. Determinar, para todo o grupo estudado e para cada local de recrutamento, as prevalências dos diferentes diagnósticos da citologia cervical;
3. Determinar a frequência de detecção do DNA do HPV de acordo com os resultados da citologia cervical;
4. Investigar a associação entre infecção por HPV e fatores sociodemográficos, comportamentais e reprodutivos selecionados.

3. Sujeitos e Métodos

3.1. Delineamento do estudo

Este estudo é uma análise secundária dos dados coletados no Brasil durante o estudo SERO-HPV106 (Protocolo 999910/106). O estudo SERO-HPV106 teve o delineamento do tipo transversal, sendo um estudo multicêntrico internacional realizado entre agosto e dezembro de 2000 em Unidades Públicas de Saúde de cinco cidades brasileiras (Fortaleza, São Paulo, Campinas, Porto Alegre e Curitiba) e em diversos centros localizados na América do Norte. O estudo SERO-HPV106 teve como objetivo primário determinar a prevalência combinada da infecção por HPV 16 e/ou HPV 18 em mulheres jovens.

3.2. Tamanho Amostral

O tamanho da amostra para o estudo SERO-HPV106 foi calculado para obter-se o poder de 93%, para demonstrar que a verdadeira prevalência da infecção combinada por HPV 16 e HPV 18, detectada por PCR, era inferior a 12%,

supondo-se o valor esperado de 10%. Assim, para o estudo SERO-HPV106, planejou-se o recrutamento de 3.000 mulheres, sendo que 1.500 seriam recrutadas no Brasil e 1.500 seriam recrutadas na América do Norte.

No presente estudo trabalhou-se com uma amostra fixa que incluiu apenas as mulheres recrutadas no Brasil. Portanto, em relação aos objetivos do presente estudo, os intervalos de confiança de 95% para as estimativas de prevalência são indicativos da precisão com que estas estimativas puderam ser obtidas com o tamanho amostral disponível.

3.3. Sujeitos

As participantes foram selecionadas entre mulheres que compareceram para atendimento ginecológico de rotina a um dos centros clínicos da pesquisa ou entre mulheres da comunidade que, após tomarem conhecimento do estudo, compareceram espontaneamente a um destes centros. Os centros clínicos da pesquisa foram as seguintes Unidades Públicas de Saúde:

1. Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará, Hospital Infantil Albert Sabin e Centro de Saúde Escola Meireles – Fortaleza, Ceará;
2. Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, Rio Grande do Sul;
3. Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas – Campinas, São Paulo;

4. Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná – Curitiba, Paraná;
5. Hospital Leonor Mendes de Barros - São Paulo, São Paulo.

Para a seleção das participantes foram utilizados os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

3.3.1. Critérios de inclusão

- Idade entre 15 e 25 anos
- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pela participante ou responsável
- Ausência de problemas de saúde evidentes de acordo com a história clínica e exame físico
- Útero presente
- Não mais que quatro parceiros sexuais durante a vida (parceiro foi definido como alguém com o qual a mulher teve relações sexuais ou contato genital-genital)
- Sem potencial para engravidar (submetidas à esterilização cirúrgica) ou, se com potencial de engravidar, praticar a abstinência ou utilizar ou desejar utilizar um método anticoncepcional efetivo (exemplo: dispositivo intra-uterino, contraceptivo oral, diafragma ou preservativo em combinação com geléia, creme ou espuma contraceptiva, Norplant® ou Depoprovera®)
- Concordância em preencher o questionário do estudo relacionado aos seus dados pessoais e à sua história sexual, contraceptiva, reprodutiva e médico-ginecológica.

3.3.2. Critérios de exclusão

- Gravidez ou amamentação
- Presença de corrimento vaginal anormal no momento do recrutamento
- Mulheres em tratamento ou aguardando tratamento para condilomas internos ou externos
- Citologia cervical (Papanicolaou) anterior anormal, exceto um diagnóstico anterior de ASCUS com exame subsequente normal
- Tratamento de doença cervical por eletrocoagulação, crioterapia ou conização nos últimos seis meses
- História de uso crônico (mais de 14 dias) de imunossupressores ou outras drogas modificadoras da imunidade nos últimos seis meses, exceto o uso de esteróides inaláveis ou tópicos
- Suspeita ou diagnóstico confirmado de imunodeficiência, incluindo a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana
- História familiar de imunodeficiência congênita ou hereditária
- Defeitos congênitos significativos ou doença crônica grave
- História de qualquer distúrbio neurológico ou convulsões
- Alterações clinicamente significativas, agudas ou crônicas, da função pulmonar, cardiovascular, hepática ou renal, conforme determinado pelo exame clínico
- História de uso crônico de álcool e/ou abuso de drogas
- Em uso, no momento do recrutamento, de qualquer droga ou vacina em fase de pesquisa ou não registrada
- Presença de temperatura corporal anormal

3.4. Procedimentos do Estudo e Coleta de dados

As participantes compareceram uma única vez ao centro clínico da pesquisa, quando foram realizados os seguintes procedimentos:

1. Esclarecimentos sobre o estudo e obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
2. Revisão dos critérios de inclusão e exclusão
3. Coleta de dados demográficos, história médica e exame físico
4. Teste urinário para gravidez
5. Exame pélvico com coleta de amostra para citologia cervical e para pesquisa do DNA do HPV
6. Coleta de amostra de sangue para estudos imunológicos
7. Preenchimento do questionário do estudo

Entretanto, a coleta da amostra cervical foi adiada em mulheres que estavam menstruadas ou usando medicamentos intravaginais no dia do seu comparecimento ao centro clínico da pesquisa. Estas participantes foram solicitadas a retornar uma segunda vez ao centro clínico e a coleta da amostra cervical foi realizada um dia após o término do fluxo menstrual ou três dias após o término do uso da medicação intravaginal.

3.4.1. Colpocitologia

A citologia cervical foi realizada com o *ThinPrep® PapTest™*. A amostra cervical foi obtida com uma espátula plástica e uma escova cervical e ambos os dispositivos foram colocados, para recuperação das células esfoliadas, em um frasco contendo o meio de conservação e transporte (*PreservCyt®*). As amostras foram refrigeradas (entre 2°C e 10°C) até o envio, em temperatura ambiente e dentro de cinco a sete dias, para um laboratório central (*Quest Diagnostics* - NJ, EUA). Nesse laboratório preparou-se uma alíquota para a pesquisa do DNA do HPV e a amostra residual foi processada para a citologia cervical utilizando-se o *ThinPrep 2000 Processor*. O Sistema Bethesda de 1991 (LUFF, 1992) foi utilizado para relatar os resultados da citologia cervical.

3.4.2. Pesquisa do DNA do HPV

A pesquisa do DNA do HPV foi realizada através da PCR, em laboratório central, utilizando-se o sistema de iniciadores SPF₁₀. A presença de DNA do HPV na amostra foi detectada através da hibridização do produto final da PCR com sondas gerais para o HPV, utilizando-se um ensaio em microplacas com controles negativos e positivos. Em amostras positivas para o DNA do HPV, a genotipagem foi realizada através do *line probe assay* (LIPA), método que permite a caracterização rápida e simultânea de 25 tipos do HPV (HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33-35, 39, 40, 42-45, 51-54, 56, 58, 59, 66, 68, 70 e 74). No LIPA, o produto final da PCR é desnaturado e hibridizado com sondas tipo específicas imobilizadas, em linhas paralelas, em uma membrana de nitrocelulose. Os híbridos são detectados

através da adição de um conjugado de estreptavudina e substrato, o que resulta na formação de um precipitado de cor púrpura no local da sonda. O padrão de hibridização assim obtido é comparado com um modelo que permite a identificação dos tipos específicos do HPV presentes na amostra. A adequação da amostra foi avaliada através da amplificação do gene da beta-globina (KLETER *et al.*, 1998; 1999; VAN DOORN *et al.*, 2001).

Em amostras positivas para o DNA do HPV, e nas quais não se identificou o genótipo pelo LIPA, foram realizados o seqüenciamento do DNA e a PCR específica para o HPV 16 e para o HPV 18. A PCR específica para detecção do DNA do HPV 16 e HPV 18 foi também realizada em amostras nas quais o LIPA foi positivo apenas para os tipos de baixo risco detectados por esse ensaio.

Os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68 foram classificados como de alto risco (JACOBS *et al.*, 1997; KJAER *et al.*, 2001; VAN DEN BRULE *et al.*, 2002; MATOS *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2003; SUKVIRACH *et al.*, 2003) e os demais como de baixo risco. Amostras positivas para o DNA do HPV, porém sem um tipo identificado, foram classificadas como amostras contendo tipos não caracterizados do HPV.

3.4.3. Teste urinário para gravidez

O teste para gravidez foi realizado através da pesquisa da gonadotrofina coriônica humana na urina.

3.4.4. Questionário

Todas as participantes completaram um questionário contendo perguntas relacionadas aos seus dados pessoais e história sexual, contraceptiva, reprodutiva e médico-ginecológica, com ou sem o auxílio de um membro da equipe do estudo (Anexo 1).

3.5. Variáveis do estudo

- **Infecção por HPV:** presente quando o DNA do HPV foi detectado pela PCR. A infecção por HPV foi classificada em:
 - **Infecção por HPV (qualquer tipo):** detecção do DNA de qualquer tipo do HPV
 - **Infecção por HPV de alto risco:** detecção do DNA de tipos de alto risco do HPV
 - **Infecção por HPV de baixo risco:** detecção do DNA de tipos de baixo risco do HPV
 - **Infecção por tipos não caracterizados do HPV:** detecção do DNA do HPV, não sendo possível a identificação do tipo com as técnicas utilizadas
 - **Infecção por HPV mista :** detecção simultânea do DNA de tipos de HPV pertencentes a 2 ou mais grupos diferentes. **OBS:** grupos do HPV: 1)alto risco, 2)baixo risco e 3) tipos não caraterizados
 - **Infecção por HPV isolada:** detecção do DNA de um ou mais tipos do HPV de um mesmo grupo

- **Infecção por HPV múltipla:** detecção do DNA de 2 ou mais tipos do HPV, podendo estes tipos pertencerem ou não a um mesmo grupo
- **Infecção por HPV única:** detecção do DNA de apenas 1 tipo do HPV
- **Idade:** idade em anos
- **Faixa etária**
 - 15 a 17 anos
 - 18 a 20 anos
 - 21 a 25 anos
- **Local de recrutamento**
 - Fortaleza
 - Porto Alegre
 - Campinas
 - Curitiba
 - São Paulo
- **Escolaridade:** anos de estudo
 - 0 a 4 anos
 - 5 a 8 anos
 - 9 a 11 anos
 - ≥ 12 anos
- **Situação Conjugal**
 - Morando com parceiro
 - Casada
 - Solteira
 - Divorciada
 - Viúva

- **Atividade sexual:** já ter tido intercurso sexual ou contato genital-genital
 - Sim
 - Não
- **Idade de início da atividade sexual:** idade do primeiro intercurso sexual ou contato genital-genital
 - ≤ 14 anos
 - 15 a 19 anos
 - ≥ 20 anos
- **Tempo de atividade sexual:** tempo desde o primeiro intercurso sexual ou contato genital-genital
 - ≤ 5 anos
 - ≥ 6 anos
- **Parceiros sexuais:** alguém com quem a mulher teve intercurso sexual ou contato genital-genital
 - Número de parceiros sexuais durante a vida
 - a) 1
 - b) 2
 - c) ≥ 3
 - Número parceiros sexuais no último ano
 - a) 0
 - b) 1
 - c) ≥ 2
 - Número de parceiros sexuais novos no último ano
 - d) 0
 - e) 1
 - f) ≥ 2

- **Uso de anticoncepcional oral**
 - Nunca
 - Algumas vezes
 - Regularmente (pelo menos três meses consecutivos)
- **Uso de preservativo masculino/feminino**
 - Nunca
 - Algumas vezes
 - Regularmente (pelo menos três meses consecutivos)
- **Número de gestações**
 - 0
 - 1-2
 - ≥ 3
- **História de DST:** história de Tricomoníase vaginal, Condilomas, Verrugas venéreas, Infecção por HPV, Infecção por *Chlamydia trachomatis*, Herpes genital, Sífilis, Gonorréia ou Úlceras genitais
 - Não
 - Sim
- **Tabagismo:** ter fumado um cigarro ou mais, a cada dia, durante um ano ou mais
 - Não
 - Sim

3.6. Processamento e Análise dos dados

Em cada centro de estudo os dados foram registrados em um Formulário de Relato de Casos e posteriormente digitados e armazenados em um banco de dados. Para a análise dos dados utilizou-se o programa STATA, versão 8.0 para *Windows*.

Na análise foram incluídas todas as mulheres recrutadas no Brasil, exceto aquelas com dados ignorados sobre as seguintes variáveis: infecção por HPV e início da atividade sexual.

Foram calculadas, para cada local de recrutamento e para todo o grupo, as prevalências da infecção por HPV e das lesões identificadas na citologia cervical com seus respectivos intervalos de confiança de 95%, binomiais exatos.

Para a investigação de fatores potencialmente associados à infecção por HPV foram calculadas, por regressão logística não condicional, as razões de chances de prevalência com seus respectivos intervalos de 95% de confiança. Os valores de P para a tendência linear das razões de chances foram obtidos considerando-se as variáveis ordinais como contínuas no modelo de regressão logística. Variáveis com valores de $P < 0,1$ (P de tendência linear ou P para heterogeneidade) na análise bivariada foram incluídas em um modelo de regressão logística multivariado. Este modelo foi realizado em etapas com a retirada sucessiva das variáveis não significativas (HOSMER e LEMESHOW, 1989).

Foram conduzidas, separadamente, análises para a investigação dos fatores associados à infecção por qualquer tipo do HPV, infecção por tipos de alto risco

e infecção por tipos de baixo risco. Somente mulheres exclusivamente infectadas por tipos de alto ou baixo risco foram incluídas nos grupos correspondentes, quando da análise separada destas infecções, e o grupo-controle incluiu apenas as mulheres negativas para qualquer tipo de HPV.

A mesma análise já descrita, porém com a idade sendo forçada no modelo e considerando-se a agregação dos dados por local de recrutamento, mostrou resultados semelhantes. Assim, apenas os resultados do modelo descrito acima são apresentados neste trabalho.

3.7. Aspectos éticos

O estudo SERO-HPV106 foi aprovado em cada um dos centros de pesquisa por um Comitê de Ética reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e posteriormente pela própria CONEP. Todas as participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2). O acompanhamento de mulheres com citologias cervicais anormais não fez parte do estudo SERO-HPV106. Entretanto, o protocolo previa que os resultados da citologia deveriam estar disponíveis dentro de duas semanas após o envio das amostras pelo local de pesquisa, e que seria responsabilidade do pesquisador comunicar esses resultados às participantes dentro de duas semanas do seu recebimento. Um resultado anormal na citologia seria explicado à participante e esta encaminhada para avaliação ginecológica apropriada, sendo também fornecido ao ginecologista de referência os resultados dos testes para o HPV e das citologias realizadas.

4. Resultados

Foram recrutadas para o estudo 1.507 mulheres de 15 a 25 anos de idade, mas 18 foram excluídas desta análise por terem amostras insuficientes para a pesquisa do DNA do HPV (n=2) ou por terem dados desconhecidos ou inconsistentes sobre o início da atividade sexual (n=16). Assim, esta análise incluiu 1.489 mulheres e, em todo este grupo, as amostras obtidas do colo do útero tiveram o controle válido para a beta-globina.

Em relação ao local de recrutamento, 485 mulheres (32,6%) foram recrutadas na cidade de Porto Alegre, 300 (20,1%) na cidade de São Paulo, 299 (20,1%) em Campinas, 250 (16,8%) em Fortaleza e 155 (10,4%) em Curitiba. Entre as 1.489 mulheres, 1.318 (88,5%) foram consideradas sexualmente ativas por relatarem intercurso sexual ou contato genital-genital prévio e 171 (11,5%) nunca haviam tido atividade sexual. A Tabela 1 apresenta a distribuição das mulheres por local de recrutamento e início ou não da atividade sexual.

Para as mulheres sexualmente ativas, a média e mediana para idade foram de 20,3 anos ($DP \pm 2,8$) e 20 anos, respectivamente. As mulheres que não haviam iniciado a atividade sexual tinham média e mediana para idade de 16,9 anos ($DP \pm 2,1$) e 16 anos, respectivamente. A Tabela 2 apresenta, para

todo o grupo e para cada local de recrutamento, a distribuição das mulheres sexualmente ativas de acordo com algumas características selecionadas.

Tabela 1: Distribuição das mulheres por local de recrutamento e início da atividade sexual

Local de recrutamento	Início da atividade sexual				Total	
	sim		Não			
	n	%	n	%	n	%
Fortaleza	250	19,0	0	0,0	250	16,8
Porto Alegre	396	30,0	89	52,1	485	32,6
Campinas	272	20,6	27	15,8	299	20,1
Curitiba	131	10,0	24	14,0	155	10,4
São Paulo	269	20,4	31	18,1	300	20,1
Total	1.318	100,0	171	100,0	1.489	100,0

Tabela 2: Distribuição das mulheres sexualmente ativas de acordo com as características selecionadas

Variável	Fortaleza N ¹ =250 n (%) ²	Porto Alegre N=396 n (%)	Campinas N=272 n (%)	Curitiba N=131 n (%)	São Paulo N=269 n (%)	Total N=1318 n (%)
Idade, anos						
Média (DP)	19,7 (3,1)	20,5 (2,7)	20,5 (2,8)	19,8 (2,8)	20,7 (2,6)	20,3 (2,8)
Mediana	19	21	21	20	21	20
Escolaridade						
Não disponível ³	0 (0,0)	13 (3,3)	1 (0,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	14 (1,1)
0 a 8 anos	99 (39,6)	80 (20,2)	105 (38,6)	34 (26,0)	72 (26,8)	390 (29,6)
≥ 9 anos	151 (60,4)	303 (76,5)	166 (61,0)	97 (74,0)	197 (73,2)	914 (69,4)
Situação conjugal						
Morando com parceiro/casada	94 (37,6)	101 (25,5)	108 (39,7)	39 (29,8)	100 (37,2)	442 (33,5)
Solteira	154 (61,6)	288 (72,7)	158 (58,1)	92 (70,2)	167 (62,1)	859 (65,2)
Divorciada/viúva	2 (0,8)	7 (1,8)	6 (2,2)	0 (0,0)	2 (0,7)	17 (1,3)
Idade de início da atividade sexual						
Não disponível	20 (8,0)	14 (3,5)	9 (3,3)	5 (3,8)	3 (1,1)	51 (3,9)
≤ 14 anos	54 (21,6)	75 (18,9)	48 (17,6)	29 (22,1)	39 (14,5)	245 (18,6)
15 a 19 anos	158 (63,2)	283 (71,5)	199 (73,2)	92 (70,2)	208 (77,3)	940 (71,3)
≥ 20 anos	18 (7,2)	24 (6,1)	16 (5,9)	5 (3,8)	19 (7,1)	82 (6,2)
Tempo de atividade sexual						
Não disponível	20 (8,0)	14 (3,5)	9 (3,3)	5 (3,8)	3 (1,1)	51 (3,9)
≤ 5 anos	188 (75,2)	250 (63,1)	176 (64,7)	92 (70,2)	182 (67,7)	888 (67,4)
≥ 6 anos	42 (16,8)	132 (33,3)	87 (32,0)	34 (26,0)	84 (31,2)	379 (28,8)

Tabela 2: (continuação)

Variável	Fortaleza N ¹ =250 n (%) ²	Porto Alegre N=396 n (%)	Campina s N=272 n (%)	Curitiba N=131 n (%)	São Paulo N=269 n (%)	Total N=1318 n (%)
Nº parceiros sexuais durante a vida						
Não disponível	0 (0,0)	4 (1,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (0,3)
1	123 (49,2)	147 (37,1)	126 (46,3)	62 (47,3)	119 (44,2)	577 (43,8)
2	70 (28,0)	96 (24,2)	83 (30,5)	34 (26,0)	67 (24,9)	350 (26,6)
≥ 3	57 (22,8)	149 (37,6)	63 (23,2)	35 (26,7)	83 (30,9)	387 (29,4)
Nº parceiros sexuais no último ano						
Não disponível	2 (0,8)	10 (2,5)	0 (0,0)	1 (0,8)	0 (0,0)	13 (1,0)
0	12 (4,8)	29 (7,3)	27 (9,9)	19 (14,5)	20 (7,4)	107 (8,1)
1	216 (86,4)	305 (77,0)	229 (84,2)	104 (79,4)	233 (86,6)	1087 (82,5)
≥ 2	20 (8,0)	52 (13,1)	16 (5,9)	7 (5,3)	16 (5,9)	111 (8,4)
Nº parceiros sexuais novos no último ano						
Não disponível	7 (2,8)	157 (39,6)	12 (4,4)	25 (19,1)	31 (11,5)	232 (17,6)
0	201 (80,4)	151 (38,1)	203 (74,6)	78 (59,5)	190 (70,6)	823 (62,4)
1	36 (14,4)	72 (18,2)	50 (18,4)	26 (19,8)	44 (16,4)	228 (17,3)
≥ 2	6 (2,4)	16 (4,0)	7 (2,6)	2 (1,5)	4 (1,5)	35 (2,7)
Uso de anticoncepcional oral						
Não disponível	1 (0,4)	1 (0,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (0,2)
Nunca	107 (42,8)	52 (13,1)	61 (22,4)	41 (31,3)	94(34,9)	355(26,9)
Algumas vezes	24 (9,6)	60 (15,2)	28 (10,3)	14 (10,7)	22(8,2)	148(11,2)
Regularmente	118 (47,2)	283 (71,5)	183 (67,3)	76 (58,0)	153(56,9)	813(61,7)
Uso de preservativo masculino/feminino						
Não disponível	1 (0,4)	2 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (0,2)
Nunca	54 (21,6)	40 (10,1)	48 (17,6)	32 (24,4)	49 (18,2)	223 (16,9)
Algumas vezes	106 (42,4)	238 (60,1)	71 (26,1)	46 (35,1)	79 (29,4)	540 (41,0)
Regularmente	89 (35,6)	116 (29,3)	153 (56,3)	53 (40,5)	141 (52,4)	552 (41,9)
Número de gestações						
Não disponível	3 (1,2)	6 (1,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (0,7)	11 (0,8)
0	126 (50,4)	227 (57,3)	145 (53,3)	85 (64,9)	158 (58,7)	741 (56,2)
1-2	108 (43,2)	140 (35,4)	122 (44,9)	44 (33,6)	103 (38,3)	517 (39,2)
≥ 3	13 (5,2)	23 (5,8)	5 (1,8)	2 (1,5)	6 (2,2)	49 (3,7)
História de DST						
Não disponível	153 (61,2)	102 (25,8)	19 (7,0)	6 (4,6)	17 (6,3)	297 (22,5)
Não	74 (29,6)	265 (66,9)	235 (86,4)	112 (85,5)	191 (71,0)	877 (66,5)
sim	23 (9,2)	29 (7,3)	18 (6,6)	13 (9,9)	61 (22,7)	144 (10,9)
Tabagismo						
Não disponível	0(0,0)	7 (1,8)	2 (0,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	9 (0,7)
Não	207(82,8)	271 (68,4)	207 (76,1)	74 (56,5)	197 (73,2)	956 (72,5)
Sim	43(17,2)	118 (29,8)	63 (23,2)	57 (43,5)	72 (26,8)	353 (26,8)

¹ N : número de mulheres sexualmente ativas

² n (%) : número e porcentagem de mulheres em cada categoria, exceto para a variável idade

³ Não disponível: não foi possível obter informação sobre a variável

Entre as 1.318 mulheres sexualmente ativas, 508 (38,5%) apresentavam infecção por HPV (qualquer tipo) e a prevalência desta infecção variou de 36,3% em Porto Alegre a 41,2% em Fortaleza, não havendo diferença significativa entre as cinco cidades (Tabela 3).

Tabela 3: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por HPV entre as mulheres sexualmente ativas.

Local de recrutamento (N ¹)	Infecção por HPV (qualquer tipo)		
	n	%	IC 95%
Fortaleza (250)	103	41,2	35,0-47,5
Porto Alegre(396)	144	36,3	31,6-41,3
Campinas(272)	103	37,8	32,0-43,9
Curitiba (131)	49	37,4	29,1-46,2
São Paulo(269)	109	40,5	34,6-46,6
Geral (1.318)	508	38,5	35,9-41,2

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas

As prevalências das infecções por tipos de alto risco, por tipos de baixo risco e por tipos não caracterizados do HPV foram de 27,9%, 12,9% e 2,3%, respectivamente, entre as 1.318 mulheres sexualmente ativas. As estimativas pontuais para as prevalências dessas infecções foram também semelhantes nas cinco cidades estudadas (Tabelas 4, 5 e 6).

Tabela 4: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por tipos de alto risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas.

Local de recrutamento (N ¹)	Infecção por tipos de alto risco do HPV		
	n	%	IC 95%
Fortaleza (250)	76	30,4	24,7-36,5
Porto Alegre(396)	105	26,5	22,3-31,1
Campinas(272)	71	26,1	20,9-31,7
Curitiba (131)	36	27,4	20,0-35,9
São Paulo(269)	81	30,1	24,6-35,9
Geral (1.318)	369	27,9	25,5-30,5

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas

Tabela 5: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por tipos de baixo risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas.

Local de recrutamento (N ¹)	Infecção por tipos de baixo risco do HPV		
	n	%	IC 95%
Fortaleza (250)	34	13,6	9,6-18,4
Porto Alegre(396)	45	11,3	8,4-14,9
Campinas(272)	40	14,7	10,7-19,4
Curitiba (131)	16	12,2	7,1-19,0
São Paulo(269)	36	13,3	9,5-18,0
Geral (1.318)	171	12,9	11,2-14,9

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas

Tabela 6: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção por tipos não caracterizados do HPV entre as mulheres sexualmente ativas.

Local de recrutamento (N ¹)	Infecção por tipos não caracterizados do HPV		
	n	%	IC 95%
Fortaleza (250)	5	2,0	0,6-4,6
Porto Alegre(396)	6	1,5	0,5-3,2
Campinas(272)	6	2,2	0,8-4,7
Curitiba (131)	4	3,0	0,8-7,6
São Paulo(269)	10	3,7	1,7-6,7
Geral (1.318)	31	2,3	1,6-3,3

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas

Entre as 508 mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV, foram detectados em 60,2% delas apenas tipos de alto risco, em 21,5% apenas tipos de baixo risco e em 5,9% apenas tipos de HPV não caracterizados. Em 12,2% delas foram detectados simultaneamente tipos de alto e baixo riscos e em 0,2% detectou-se a infecção simultânea por tipo de alto risco e tipo não caracterizado. As prevalências destas infecções isoladas e mistas, entre as mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV, em cada uma das cinco cidades estudadas são apresentadas na Tabela 7 e na Figura 1.

Tabela 7: Prevalência geral e por local de recrutamento das infecções isoladas e mistas entre as mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV.

Local de recrutamento (N ¹)	Infecção por HPV				
	Apenas alto risco	Alto e baixo riscos	Alto risco e tipos não caracterizados	Apenas baixo risco	Apenas tipos não caracterizados
	%	%	%	%	%
Fortaleza (103)	62,1	11,7	0,0	21,4	4,9
Porto Alegre(144)	64,6	8,3	0,0	22,9	4,2
Campinas(103)	55,3	13,6	0,0	25,2	5,8
Curitiba (49)	59,2	14,3	0,0	18,4	8,2
São Paulo(109)	57,8	15,6	0,9	17,4	8,3
Geral (508)	60,2	12,2	0,2	21,5	5,9

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV

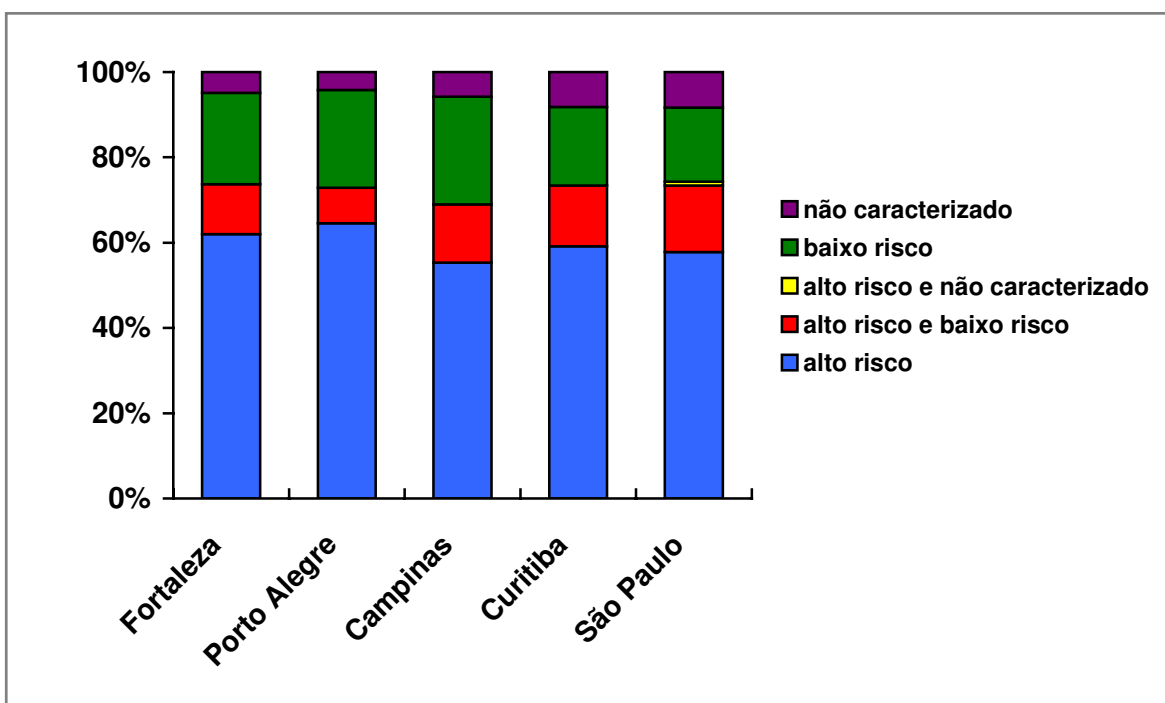


Figura 1: Prevalência das infecções isoladas e mistas entre as mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV, por local de recrutamento.

Entre as 508 mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV, 70,9% apresentavam infecção por 1 tipo apenas do vírus e 29,1% apresentavam infecção simultânea por dois ou mais tipos (infecção múltipla). Entre as 148 mulheres com infecção múltipla detectou-se em 50,0% delas apenas tipos de alto risco, em 41,9% tipos de alto e baixo risco, em 7,4% apenas tipos de baixo risco e em 0,7% tipos de alto risco e tipos não caracterizados. A Tabela 8 apresenta a prevalência geral e por local de recrutamento da infecção múltipla entre as mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV.

Tabela 8: Prevalência geral e por local de recrutamento da infecção múltipla entre as mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV

Local de recrutamento (N ¹)	Infecção múltipla	
	n	%
Fortaleza (103)	31	30,1
Porto Alegre(144)	37	25,7
Campinas(103)	30	29,1
Curitiba (49)	19	38,8
São Paulo(109)	31	28,4
Geral (508)	148	29,1

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas e positivas para o DNA do HPV

Em relação à distribuição de freqüência dos tipos de alto risco entre as 1.318 mulheres sexualmente ativas, observou-se que o HPV 16 foi o tipo mais freqüente, seguido dos tipos 52, 31 e 51 (Figura 2). O HPV 16 foi também o tipo de alto risco mais freqüente em quatro das cinco cidades estudadas (Fortaleza, Porto Alegre, Curitiba e São Paulo) e foi o segundo tipo de alto risco mais freqüente em Campinas. A Tabela 9 apresenta, por local de recrutamento, a prevalência dos tipos de alto risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas em ordem decrescente de freqüência.

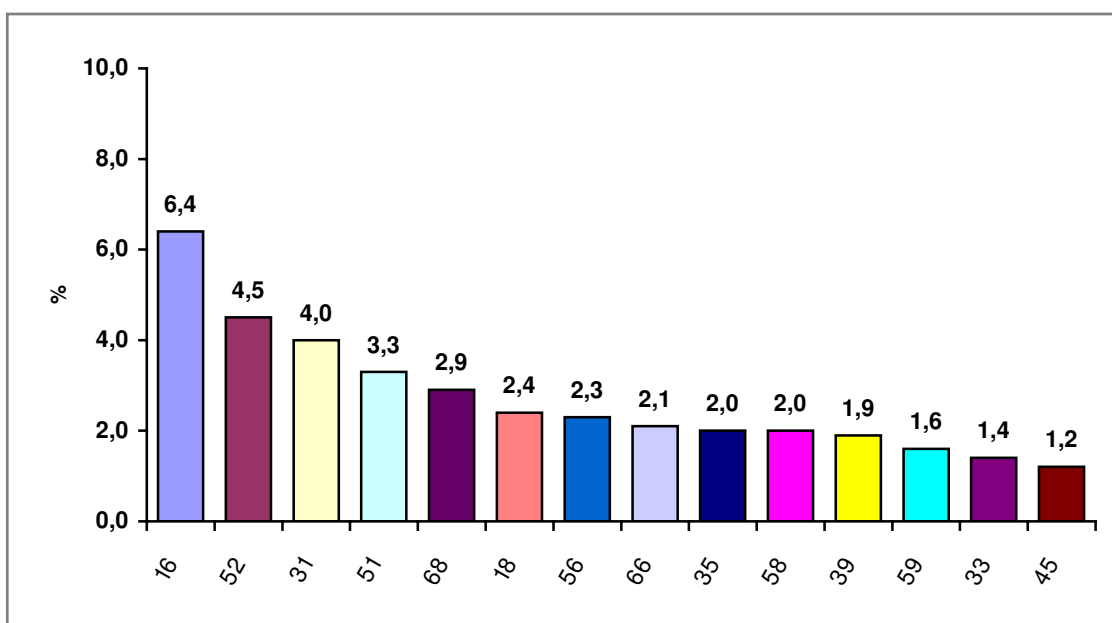


Figura 2: Prevalências dos tipos de alto risco do HPV entre as 1.318 mulheres sexualmente ativas.

Tabela 9: Prevalências dos tipos de alto risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas, por local de recrutamento e em ordem decrescente de frequência.

Ordem de frequência	Fortaleza (N ¹ =250)		Porto Alegre (N=396)		Campinas (N=272)		Curitiba (N=131)		São Paulo (N=269)	
	tipo	%	tipo	%	tipo	%	tipo	%	tipo	%
1	16	5,2	16	7,3	68	6,3	16	5,3	16	8,2
2	52	5,2	52	5,6	16	5,1	31	5,3	31	4,8
3	31	4,0	31	3,3	31	3,7	56	5,3	52	3,7
4	51	4,0	51	3,0	51	3,7	68	4,6	66	3,3
5	45	3,2	66	3,0	52	3,3	51	3,8	58	3,0
6	39	2,8	18	2,5	18	2,2	52	3,8	18	2,6
7	18	2,4	35	2,3	33	1,8	18	2,3	51	2,6
8	35	2,4	56	1,8	39	1,8	58	2,3	56	2,6
9	56	2,4	39	1,5	58	1,8	33	1,5	35	2,2
10	59	2,4	58	1,5	59	1,8	35	1,5	39	2,2
11	68	2,4	68	1,5	35	1,1	45	1,5	33	1,5
12	33	1,6	45	1,0	56	1,1	59	1,5	59	1,5
13	58	1,6	59	1,0	66	1,1	39	0,8	68	1,1
14	66	1,2	33	0,8	45	0,4	66	0,8	45	0,4

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas

Foram identificados 25 diferentes tipos de baixo risco do HPV. Em relação à distribuição de frequência dos tipos de baixo risco entre as 1.318 mulheres sexualmente ativas, observou-se que o HPV 53 foi o mais freqüente, seguido do HPV 54, HPV 44, HPV 70 e HPV 74 (Figura 3).

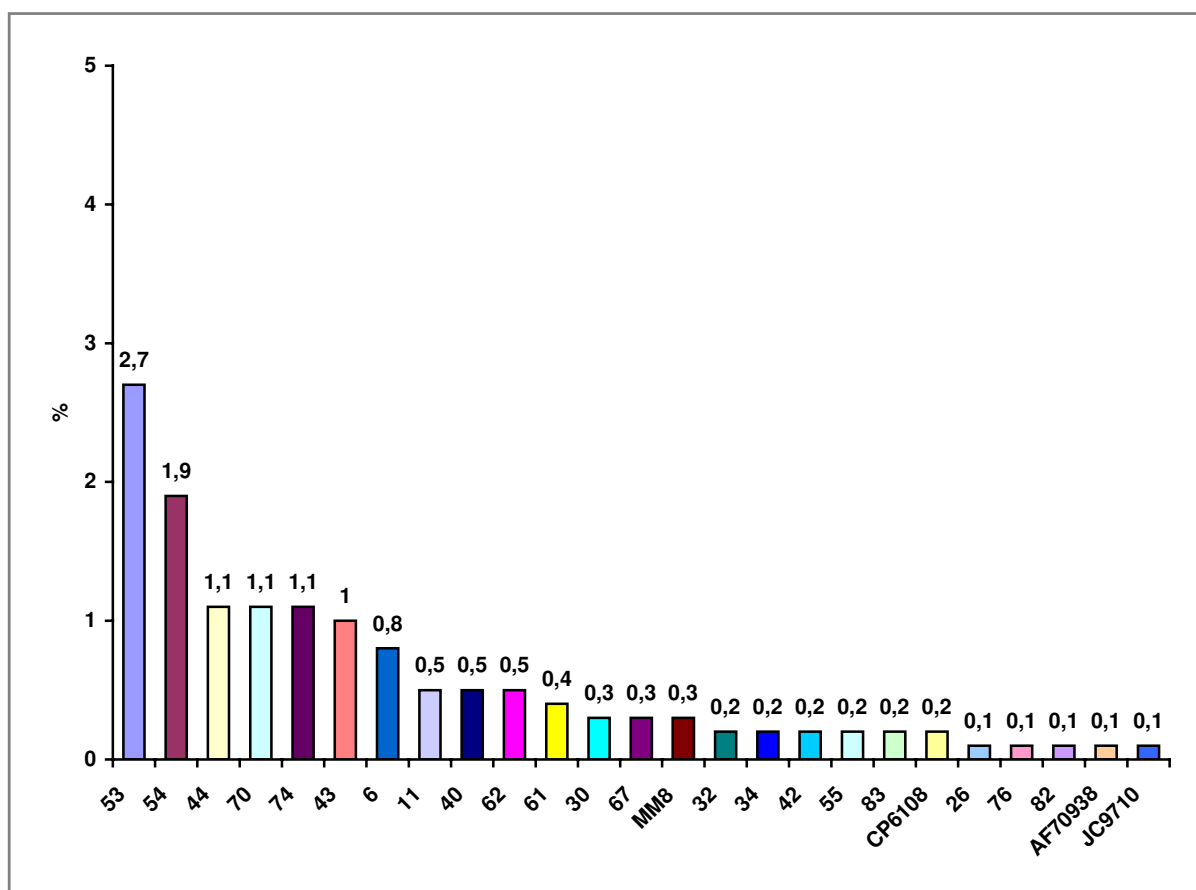


Figura 3: Prevalências dos tipos de baixo risco do HPV entre as 1.318 mulheres sexualmente ativas.

O HPV 53 foi o tipo de baixo risco com maior prevalência em quatro das cinco cidades estudadas (Fortaleza, Porto Alegre, Campinas e São Paulo). Em Curitiba, o tipo de baixo risco mais freqüente foi o HPV 74 (Tabela 10).

Tabela 10: Prevalências dos tipos de baixo risco do HPV entre as mulheres sexualmente ativas, por local de recrutamento e em ordem decrescente de freqüência.

Ordem de freqüência	Fortaleza (N ¹ =250)		Porto Alegre (N=396)		Campinas (N=272)		Curitiba (N=131)		São Paulo (N=269)	
	tipo	%	tipo	%	tipo	%	tipo	%	Tipo	%
1	53	2,8	53	3,3	53	2,9	74	3,8	53	2,2
2	54	2,8	44	1,8	54	2,6	43	2,3	6	1,9
3	43	1,2	54	1,5	70	1,5	11	1,5	54	1,5
4	40	0,8	70	1,0	44	1,1	53	1,5	70	1,5
5	44	0,8	11	0,8	62	1,1	70	1,5	43	1,1
6	62	0,8	30	0,8	74	1,1	6	0,8	44	0,7
7	74	0,8	6	0,5	6	0,7	32	0,8	61	0,7
8	MM8	0,8	34	0,5	40	0,7	40	0,8	74	0,7
9	6	0,4	43	0,5	43	0,7	44	0,8	CP6108	0,7
10	11	0,4	62	0,5	67	0,7	54	0,8	11	0,4
11	26	0,4	74	0,5	83	0,7	55	0,8	30	0,4
12	42	0,4	32	0,3	34	0,4	61	0,8	40	0,4
13	55	0,4	40	0,3	42	0,4	26	0,0	67	0,4
14	61	0,4	42	0,3	55	0,4	30	0,0	76	0,4
15	67	0,4	61	0,3	JC9710	0,4	34	0,0	83	0,4
16	70	0,4	82	0,3	MM8	0,4	42	0,0	AF70938	0,4
17	30	0,0	CP6108	0,3	11	0,0	62	0,0	MM8	0,4
18	32	0,0	26	0,0	26	0,0	67	0,0	26	0,0
19	34	0,0	55	0,0	30	0,0	76	0,0	32	0,0
20	76	0,0	67	0,0	32	0,0	82	0,0	34	0,0
21	82	0,0	76	0,0	61	0,0	83	0,0	42	0,0
22	83	0,0	83	0,0	76	0,0	AF70938	0,0	55	0,0
23	AF70938	0,0	AF70938	0,0	82	0,0	CP6108	0,0	62	0,0
24	CP6108	0,0	JC9710	0,0	AF70938	0,0	JC9710	0,0	82	0,0
25	JC9710	0,0	MM8	0,0	CP6108	0,0	MM8	0,0	JC9710	0,0

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas

Em relação à citologia cervical, três das 1.318 amostras coletadas das mulheres sexualmente ativas foram classificadas como insatisfatórias para o exame. Entre as 1.315 mulheres com amostras satisfatórias, 82,2% tiveram um resultado normal na citologia e as prevalências de ASCUS, LSIL e HSIL foram de 10,7%, 6,0% e 0,8%, respectivamente. Uma mulher (0,07%) teve diagnóstico citológico de AGUS. Na Tabela 11 são apresentadas, para cada local de recrutamento, as prevalências dos diferentes diagnósticos citológicos entre as mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para o exame.

Tabela 11: Prevalências, geral e por local de recrutamento, dos diferentes diagnósticos citológicos entre as mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para o exame.

Local de recrutamento (N ¹)	Resultado da citologia							
	ASCUS		LSIL		HSIL		AGUS	
	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%
Fortaleza (250)	10,8	7,2-15,3	4,0	1,9-7,2	0,8	0,1-2,8	0,0	-
Porto Alegre (395)	10,6	7,7-14,1	5,3	3,3-8,0	1,5	0,5-3,2	0,2	0,0-1,4
Campinas (272)	12,8	9,1-17,4	8,4	5,4-12,4	0,3	0,0-2,0	0,0	-
Curitiba (129)	9,3	4,8-15,6	5,4	2,2-10,8	0,7	0,0-4,2	0,0	-
São Paulo (269)	9,6	6,4-13,8	7,0	4,3-10,8	0,3	0,0-2,0	0,0	-
Geral (1315)	10,7	9,1-12,6	6,0	4,8-7,5	0,8	0,4-1,4	0,07	0,0-0,4

¹ N: número de mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para a colpocitologia

O DNA do HPV (qualquer tipo) foi detectado em 65,5% das mulheres com ASCUS, em 95,0% das mulheres com LSIL e em 72,7% das mulheres com HSIL na colpocitologia. Já o DNA de tipos de alto risco do HPV foi detectado em 53,5%, 81,3% e 72,7% das mulheres com ASCUS, LSIL e HSIL, respectivamente (Tabela 12).

Tabela 12: Prevalência da infecção por HPV de acordo com o resultado da colpocitologia, entre as 1.315 mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para o exame.

Resultado da citologia (n ¹)	Infecção por HPV		
	qualquer tipo ²	alto risco ³	baixo risco ⁴
	%	%	%
ASCUS (142)	65,5	53,5	16,2
LSIL (80)	95,0	81,3	31,3
HSIL (11)	72,7	72,7	0,0
AGUS (1)	0,0	0,0	0,0
Normal (1081)	30,6	20,4	11,4

¹ n= número de mulheres com o respectivo diagnóstico citológico

² qualquer tipo: quando detectados tipos de alto risco e/ou de baixo risco e/ou tipos não caracterizados

³ tipos de alto risco: detectados em infecções isoladas ou mistas

⁴ tipos de baixo risco: detectados em infecções isoladas ou mistas

A infecção por tipos de baixo risco foi identificada em 16,2% das mulheres com ASCUS e em 31,3% das mulheres com LSIL; entretanto, nestes casos foi freqüente a detecção simultânea do DNA de tipos de alto risco (Tabela 13).

Tabela 13: Prevalências das infecções por HPV isoladas e mistas de acordo com o resultado da colpocitologia, entre as 1.315 mulheres sexualmente ativas e com amostras satisfatórias para o exame.

Resultado da citologia (n ¹)	Infecção por HPV					Total (qualquer tipo)
	Apenas alto risco	Alto e baixo riscos	Apenas baixo risco	Apenas tipo não caracterizado	Alto risco e tipo não caracterizado	
	%	%	%	%	%	%
ASCUS (142)	47,9	5,6	10,6	1,4	0,0	65,5
LSIL (80)	61,3	18,8	12,5	1,2	1,2	95,0
HSIL (11)	72,7	0,0	0,0	0,0	0,0	72,7
AGUS (1)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

¹ n= número de mulheres com o respectivo diagnóstico citológico

Das 171 mulheres que não haviam iniciado a atividade sexual apenas 11 (6,4%) apresentavam infecção por HPV (qualquer tipo), sendo as prevalências

das infecções por tipos de alto risco, por tipos de baixo risco e por tipos não caracterizados do HPV de 3,5%, 1,8% e 1,8%, respectivamente. Na Tabela 14 são apresentados os tipos do HPV detectados neste grupo de mulheres.

Entre as mulheres que não haviam iniciado a atividade sexual, 8 (4,7%) tiveram diagnóstico de ASCUS e 163 (95,3%) tiveram citologia normal. Apenas uma das oito mulheres com ASCUS era positiva para o HPV e nesta detectou-se simultaneamente o DNA dos tipos 31, 35 e 70.

Tabela 14: Tipos do HPV identificados entre a mulheres que não haviam iniciado a atividade sexual.

Nº do sujeito	Tipos do HPV ¹
1	18
2	31
3	51
4	51
5	31, 35 e 70
6	16, 35, 56
7	67
8	76
9	tipos não caracterizados
10	tipos não caracterizados
11	tipos não caracterizados

¹ tipos de baixo risco do HPV em negrito

Em relação aos fatores associados à infecção por HPV entre as mulheres sexualmente ativas, as Tabelas 15, 16 e 17 apresentam, respectivamente, as razões de chances de prevalência obtidas por análise bivariada para a infecção por HPV (qualquer tipo), infecção por tipos de alto risco e infecção por tipos de baixo risco, de acordo com algumas características selecionadas. Já a Tabela 18 apresenta as

variáveis independentemente associadas à infecção por HPV (qualquer tipo), HPV de alto risco e HPV de baixo risco entre as mulheres sexualmente ativas, de acordo com o resultado final do modelo de regressão logística multivariado.

Os fatores independentemente associados à infecção por HPV (qualquer tipo) foram situação conjugal, tempo de atividade sexual, número de parceiros sexuais durante a vida e uso de anticoncepcionais orais. Mulheres solteiras, divorciadas ou viúvas, mulheres com cinco anos ou menos de atividade sexual e mulheres com um maior número de parceiros sexuais durante a vida tinham maior chance de estar infectadas por HPV. Por outro lado, mulheres que relataram o uso regular de anticoncepcionais orais tinham menor chance de estar infectadas quando comparadas às mulheres que nunca haviam utilizado este método de anticoncepção.

Uma associação estatisticamente significativa foi observada entre infecção por HPV de alto risco e situação conjugal, número de parceiros sexuais durante a vida e uso de anticoncepcionais orais. Mulheres solteiras, divorciadas ou viúvas tinham uma chance 1,88 (IC 95%: 1,38-2,58) vezes maior de estar infectadas por tipos de alto risco do HPV do que mulheres que moravam com um parceiro ou eram casadas. A chance de infecção por tipos de alto risco do HPV foi maior também para mulheres com maior número de parceiros sexuais durante a vida, e o uso regular de anticoncepcionais orais estava associado com menor chance de infecção (OR: 0,71; IC 95%: 0,51-0,98).

Os fatores independentemente associados com a infecção por tipos de baixo risco do HPV foram situação conjugal, número de parceiros sexuais durante a

vida e número de parceiros sexuais no último ano. Mulheres solteiras, divorciadas ou viúvas, mulheres com maior número de parceiros sexuais durante a vida e com maior número de parceiros sexuais no último ano tinham maior chance de estar infectadas por tipos de baixo risco do HPV.

Tabela 15: Razão de chances de prevalência para a infecção por HPV (qualquer tipo) de acordo com fatores sociodemográficos e comportamentais entre as mulheres sexualmente ativas (n=1.318). Análise bivariada.

Variável	Nº de mulheres ¹	HPV Positivas		pOR ²	IC 95% ³	p
		n	%			
Faixa Etária						
15 a 17 anos	260	99	38,1	1		
18 a 20 anos	414	168	40,6	1,11	0,80-1,52	0,517
21 a 25 anos	644	241	37,4	0,97	0,72-1,30	0,854
					P tendência 0,661	
Local de recrutamento						
Fortaleza	250	103	41,2	1		
Porto Alegre	396	144	36,4	0,81	0,58-1,12	0,218
Campinas	272	103	37,9	0,86	0,61-1,23	0,436
Curitiba	131	49	37,4	0,85	0,55-1,31	0,472
São Paulo	269	109	40,5	0,97	0,68-1,38	0,875
Escolaridade						
0 a 4 anos	66	23	34,8	1		
5 a 8 anos	324	118	36,4	1,07	0,61-1,86	0,808
9 a 11 anos	632	249	39,4	1,21	0,71-2,06	0,471
≥ 12 anos	282	115	40,8	1,28	0,73-2,25	0,375
					P tendência 0,195	
Situação Conjugal						
Morando com parceiro/casada	442	118	26,7	1		
Solteira/Divorciada/ Viúva	876	390	44,5	2,20	1,71-2,82	< 0,001
Idade de início da atividade sexual						
≤ 14 anos	245	91	37,1	1		
15 a 19 anos	940	365	38,8	1,07	0,80-1,43	0,628
≥ 20 anos	82	37	45,1	1,39	0,83-2,30	0,201
					P tendência 0,269	
Tempo de atividade sexual						
≤ 5 anos	888	361	40,7	1		
≥ 6 anos	379	132	34,8	0,78	0,60-1,00	0,051

Tabela 15: (continuação)

Variável	Nº de mulheres ¹	HPV Positivas		pOR ²	IC 95% ³	p
		n	%			
Número de parceiros sexuais durante a vida						
1	577	149	25,8	1		
2	350	156	44,6	2,30	1,74-3,06	<0,001
≥ 3	387	202	52,2	3,13	2,38-4,12	<0,001
					P tendência <0,001	
Número de parceiros sexuais no último ano						
0	107	35	32,7	1		
1	1087	404	37,2	1,21	0,79-1,85	0,362
≥ 2	111	64	57,7	2,80	1,61-4,86	<0,001
					P tendência <0,001	
Número de parceiros sexuais novos no último ano						
0	823	288	35,0	1		
1	228	110	48,2	1,73	1,28-2,32	<0,001
≥ 2	35	21	60,0	2,78	1,39-5,56	0,003
					P tendência <0,001	
Uso de anticoncepcionais orais						
Nunca	355	153	43,1	1		
Algumas vezes	148	64	43,2	1,00	0,68-1,48	0,976
Regularmente	813	289	35,5	0,72	0,56-0,93	0,014
					P tendência 0,009	
Uso de preservativo masculino/feminino						
Nunca	223	69	30,9	1		
Algumas vezes	540	203	37,6	1,34	0,96-1,87	0,081
Regularmente	552	235	42,6	1,65	1,18-2,30	0,002
					P tendência 0,002	
Número de gestações						
0	741	297	40,1	1		
1-2	517	195	37,7	0,90	0,71-1,14	0,398
≥ 3	49	15	30,6	0,65	0,35-1,23	0,191
					P tendência 0,176	
História de DST						
Não	877	348	39,7	1		
Sim	144	58	40,3	1,02	0,71-1,46	0,892
Tabagismo						
Não	956	354	37,0	1		
Sim	353	151	42,8	1,27	0,99-1,62	0,058

¹ Número total de mulheres por variável difere devido aos dados ignorados

² pOR = razão de chances de prevalência

³ IC 95% = intervalo de confiança de 95%

Tabela 16: Razão de chances de prevalência para a infecção por tipos de alto risco do HPV de acordo com fatores sociodemográficos e comportamentais entre as mulheres sexualmente ativas (n=1.116). Análise bivariada.

Variável	Nº de mulheres ¹	Alto risco Positivo		pOR ²	IC 95% ³	p
		n	%			
Faixa Etária						
15 a 17 anos	216	55	25,5	1		
18 a 20 anos	350	104	29,7	1,23	0,84-1,81	0,274
21 a 25 anos	550	147	26,7	1,06	0,74-1,53	0,720
					P tendência 0,970	
Local de recrutamento						
Fortaleza	211	64	30,3	1		
Porto Alegre	345	93	27,0	0,84	0,58-1,23	0,391
Campinas	226	57	25,2	0,77	0,50-1,17	0,233
Curitiba	111	29	26,1	0,81	0,48-1,35	0,429
São Paulo	223	63	28,3	0,90	0,59-1,36	0,634
Escolaridade						
0 a 4 anos	55	12	21,8	1		
5 a 8 anos	275	69	25,1	1,20	0,59-2,40	0,607
9 a 11 anos	537	154	28,7	1,44	0,73-2,80	0,282
≥ 12 anos	236	69	29,2	1,48	0,73-2,97	0,271
					P tendência 0,152	
Situação Conjugal						
Morando com parceiro/casada	397	73	18,4	1		
Solteira/Divorciada/Viúva	719	233	32,4	2,12	1,57-2,86	<0,001
Idade de início da atividade sexual						
≤ 14 anos	203	49	24,1	1		
15 a 19 anos	799	224	28,0	1,22	0,85-1,74	0,265
≥ 20 anos	68	23	33,8	1,60	0,88-2,91	0,119
					P tendência 0,112	
Tempo de atividade sexual						
≤ 5 anos	741	214	28,9	1		
≥ 6 anos	329	82	24,9	0,81	0,60-1,09	0,182
Número de parceiros sexuais durante a vida						
1	518	90	17,4	1		
2	284	90	31,7	2,20	1,57-3,09	<0,001
≥ 3	310	125	40,3	3,21	2,33-4,43	<0,001
					P tendência < 0,001	

Tabela 16: (continuação)

Variável	Nº de mulheres ¹	Alto risco Positivo		pOR ²	IC 95% ³	p
		n	%			
Número de parceiros sexuais no último ano						
0	93	21	22,6	1		
1	927	244	26,3	1,22	0,73-2,03	0,433
≥ 2	86	39	45,3	2,84	1,49-5,42	0,001
						P tendência <0,001
Número de parceiros sexuais novos no último ano						
0	712	177	24,9	1		
1	181	63	34,8	1,61	1,13-2,28	0,007
≥ 2	25	11	44,0	2,37	1,05-5,32	0,035
						P tendência 0,001
Uso de Anticoncepcionais Orais						
Nunca	294	92	31,3	1		
Algumas vezes	123	39	31,7	1,01	0,64-1,70	0,933
Regularmente	698	174	24,9	0,72	0,54-0,98	0,039
						P tendência 0,028
Uso de preservativo masculino/feminino						
Nunca	197	43	21,8	1		
Algumas vezes	454	117	25,8	1,24	0,83-1,85	0,283
Regularmente	463	146	31,5	1,64	1,11-2,43	0,012
						P tendência 0,006
Número de gestações						
0	620	176	28,4	1		
1-2	443	121	27,3	0,94	0,72-1,24	0,700
≥ 3	42	8	19,0	0,59	0,26-1,30	0,195
						P tendência 0,318
História de DST						
Não	742	213	28,7	1		
Sim	118	32	27,1	0,92	0,59-1,42	0,722
Tabagismo						
Não	819	217	26,5	1		
Sim	289	87	30,1	1,19	0,88-1,60	0,237

¹ Número total de mulheres por variável difere devido aos dados ignorados

² pOR = razão de chances de prevalência

³ IC 95% = intervalo de confiança de 95%

Tabela 17: Razão de chances de prevalência para a infecção por tipos de baixo risco do HPV de acordo com fatores sociodemográficos e comportamentais entre as mulheres sexualmente ativas (n=919). Análise bivariada.

Variável	Nº de mulheres ¹	Baixo risco Positivo		pOR ²	IC 95% ³	p
		n	%			
Faixa Etária						
15 a 17 anos	187	26	13,9	1		
18 a 20 anos	281	35	12,5	0,88	0,51-1,51	0,648
21 a 25 anos	451	48	10,6	0,73	0,44-1,22	0,243
					P tendência	0,225
Local de recrutamento						
Fortaleza	169	22	13,0	1		
Porto Alegre	285	33	11,6	0,87	0,49-1,55	0,649
Campinas	195	26	13,3	1,02	0,55-1,89	0,929
Curitiba	91	9	9,9	0,73	0,32-1,66	0,459
São Paulo	179	19	10,6	0,79	0,41-1,52	0,487
Escolaridade						
0 a 4 anos	51	8	15,7	1		
5 a 8 anos	228	22	9,6	0,57	0,23-1,37	0,212
9 a 11 anos	433	50	11,5	0,70	0,31-1,57	0,391
≥ 12 anos	195	28	14,4	0,90	0,38-2,11	0,811
					P tendência	0,446
Situação Conjugal						
Morando com parceiro/casada	350	26	7,4	1		
Solteira/Divorciada/Viúva	569	83	14,6	2,12	1,34-3,37	0,001
Idade de início da atividade sexual						
≤ 14 anos	179	25	14,0	1		
15 a 19 anos	647	72	11,1	0,77	0,47-1,25	0,297
≥ 20 anos	54	9	16,7	1,23	0,53-2,82	0,622
					P tendência	0,843
Tempo de atividade sexual						
≤ 5 anos	607	80	13,2	1		
≥ 6 anos	273	26	9,5	0,69	0,43-1,10	0,124
Número de parceiros sexuais durante a vida						
1	466	38	8,2	1		
2	224	30	13,4	1,74	1,04-2,89	0,032
≥ 3	226	41	18,1	2,49	1,55-4,00	<0,001
					P tendência	<0,001

Tabela 17: (continuação)

Variável	Nº de mulheres ¹	Baixo risco Positivo		pOR ²	IC 95% ³	p
		n	%			
Número de parceiros sexuais no último ano						
0	77	5	6,5	1		
1	772	89	11,5	1,87	0,73-4,76	0,186
≥ 2	61	14	23,0	4,28	1,44-12,69	0,008
					<i>P</i> tendência 0,003	
Número de parceiros sexuais novos no último ano						
0	593	58	9,8	1		
1	137	19	13,9	1,48	0,85-2,58	0,162
≥ 2	22	8	36,4	5,27	2,12-13,09	<0,001
					<i>P</i> tendência <0,001	
Uso de Anticoncepcionais Orais						
Nunca	230	28	12,2	1		
Algumas vezes	100	16	16,0	1,37	0,70-2,67	0,348
Regularmente	588	64	10,9	0,88	0,54-1,41	0,599
					<i>P</i> tendência 0,466	
Uso de preservativo masculino/feminino						
Nunca	170	16	9,4	1		
Algumas vezes	384	47	12,2	1,34	0,73-2,44	0,334
Regularmente	362	45	12,4	1,36	0,74-2,49	0,309
					<i>P</i> tendência 0,374	
Número de gestações						
0	507	63	12,4	1		
1-2	364	42	11,5	0,91	0,60-1,39	0,691
≥ 3	38	4	10,5	0,82	0,28-2,41	0,731
					<i>P</i> tendência 0,625	
História de DST						
Não	599	70	11,7	1		
Sim	98	12	12,2	1,05	0,54-2,02	0,873
Tabagismo						
Não	675	73	10,8	1		
Sim	237	35	14,8	1,42	0,92-2,20	0,106

¹ Número total de mulheres por variável difere devido aos dados ignorados

² pOR = razão de chances de prevalência

³ IC 95% = intervalo de confiança de 95%

Tabela 18: Razão de chances de prevalência para os fatores independentemente associados à infecção por HPV (qualquer tipo), HPV de alto risco e HPV de baixo risco de acordo com o resultado final do modelo de regressão logística multivariado

Variável	Infecção por HPV					
	Qualquer tipo ¹		Alto risco		Baixo risco	
	pOR ²	IC 95% ³	pOR ²	IC 95%	pOR ²	IC 95%
Situação Conjugal						
Morando com parceiro/casada	1	--	1	--	1	--
Solteira/Divorciada/Viúva	1,77	1,34-2,34	1,88	1,38-2,58	2,20	1,35-3,56
Número de parceiros sexuais durante a vida						
1	1	--	1	--	1	--
2	2,50	1,85-3,37	2,28	1,61-3,23	1,63	0,97-2,74
≥ 3	3,57	2,65-4,83	3,24	2,32-4,51	2,15	1,30-3,57
Uso de anticoncepcionais Orais						
Nunca	1	--	1	--		
Algumas vezes	0,81	0,53-1,23	0,86	0,53-1,39		
Regularmente	0,74	0,56-0,99	0,71	0,51-0,98		
Tempo de atividade sexual						
≤ 5 anos	1	--				
≥ 6 anos	0,69	0,52-0,93				
Número de parceiros sexuais no último ano						
0					1	--
1					2,49	0,97-6,43
≥ 2					3,20	1,06-9,68

¹ qualquer tipo: detecção de tipos de alto risco e/ou tipos de baixo risco e/ou tipos não caracterizados

² pOR = razão de chances de prevalência ajustada pelas variáveis significativas da coluna

³ IC 95% = intervalo de confiança de 95%

5. Discussão

Entre as mulheres jovens e sexualmente ativas encontramos uma elevada prevalência da infecção por HPV, com 38,5% delas apresentando infecção por qualquer tipo de HPV e 27,9% apresentando infecção por tipos de alto risco. A infecção por tipos de alto risco foi aproximadamente duas vezes mais freqüente do que a infecção por tipos de baixo risco. Estes resultados são compatíveis com estudos conduzidos em diferentes populações, os quais têm identificado maior prevalência da infecção por HPV em mulheres com menos de 25 anos de idade. Esta prevalência geralmente diminui com a idade, embora, em alguns países como Colômbia, México e Costa Rica tenha sido observado um novo aumento na freqüência da infecção em mulheres ao redor da menopausa (HERRERO *et al.*, 2000; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; MOLANO *et al.*, 2002; DE SANJOSE *et al.*, 2003; MATOS *et al.*, 2003; PHAM *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2003; SUKVIRACH *et al.*, 2003). Entretanto, as estimativas pontuais para a prevalência da infecção por HPV em mulheres com menos de 25 anos de idade têm variado nas diferentes populações estudadas (Apêndice 1).

Assim, em estudo longitudinal sobre a história natural da infecção por HPV e da neoplasia cervical em mulheres de 18 a 60 anos de idade (média de

33,3 anos) na cidade de São Paulo, observou-se que as mulheres apresentavam, ao ingressar no estudo, prevalências de 13,8%, 8,4%, 7,0% e 0,8%, para as infecções por HPV de qualquer tipo, por tipos de alto risco, tipos de baixo risco e tipos não caracterizados, respectivamente. Nas mulheres com menos de 26 anos de idade a média para as prevalências da infecção por qualquer tipo de HPV, observadas nas quatro primeiras visitas do estudo, foi de 20,6% (ROUSSEAU *et al.*, 2001).

Ainda na cidade de São Paulo, entre os controles hospitalares recrutados para um estudo de caso-controle sobre o câncer cervical no início da década de 90, a prevalência da infecção por qualquer tipo de HPV foi de aproximadamente 25% em mulheres com menos de 40 anos de idade e observou-se uma diminuição progressiva nesta prevalência em mulheres de maior idade (MUNOZ *et al.*, 1996).

Já em estudo realizado na cidade de Porto Alegre (RS), a prevalência da infecção por HPV, detectada através da Captura Híbrida II e/ou PCR, em mulheres com menos de 25 anos de idade e atendidas em um serviço público de rastreamento para o câncer cervical foi de 27,9% e também diminuiu progressivamente com o aumento da idade (NONNENMACHER *et al.*, 2002).

Estudos sobre a prevalência da infecção por HPV e baseados na população foram realizados, com a coordenação da IARC, em países com diferentes taxas de incidência do câncer cervical. Estes estudos sugerem que a prevalência geral da infecção por HPV está relacionada com a incidência do câncer cervical, principalmente em países que não sofreram grande influência de programas de prevenção para este câncer (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2001; BOSCH e DE SANJOSE, 2003; SHIN *et al.*, 2003). O mesmo

parece ocorrer quando se analisa a prevalência da infecção por HPV em mulheres com menos de 25 anos de idade.

Assim, na Colômbia, Concórdia (Argentina) e México, locais com taxas de incidência do câncer cervical superiores a 30/100.000 mulheres, a prevalência da infecção por qualquer HPV em mulheres com menos de 25 anos de idade variou de 16,6% a 26,1%, enquanto que as prevalências das infecções por tipos de alto risco e de baixo risco variaram de 16,3% a 20,4% e de 0,4% a 5,2%, respectivamente (LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; MOLANO *et al.*, 2002; MATOS *et al.*, 2003). Por outro lado, em locais com baixas taxas de incidência do câncer cervical observou-se uma baixa prevalência da infecção por HPV em mulheres jovens. Na Espanha, país com taxa de incidência do câncer cervical de 7,1/100.000 mulheres, a prevalência da infecção por HPV foi de aproximadamente 7% em mulheres com menos de 25 anos de idade e residentes na cidade de Barcelona (DE SANJOSE *et al.*, 2003). Também em Hanói, Vietnã, onde a taxa de incidência do câncer cervical é de 6,8/100.000 mulheres, apenas cerca de 1% das mulheres com menos de 25 anos de idade apresentavam infecção por HPV. Nesta cidade, em todo o grupo estudado, a prevalência da infecção por HPV foi de apenas 2% e mais elevada (3,3%) entre mulheres com 35 a 44 anos de idade (PHAM *et al.*, 2003).

Entretanto, em alguns países desenvolvidos e com baixas taxas de incidência do câncer cervical como os Estados Unidos, Canadá e Holanda (FERLAY *et al.*, 2001), observam-se elevadas prevalências da infecção por HPV em mulheres jovens e a menor incidência do câncer cervical, nestes países, provavelmente está relacionada à existência de programas eficazes para a sua prevenção. No

Novo México-EUA, PEYTON e colaboradores (2001) usando a PCR e classificando 18 tipos do HPV como de alto risco, encontraram, entre mulheres de 18 a 22 anos de idade e que compareceram para atendimento ginecológico de rotina, prevalências de 50,5%, 39,1% e 21,6% para as infecções por qualquer tipo do HPV, infecção por tipos de alto risco e infecção por tipos de baixo risco, respectivamente. Outros estudos realizados nos EUA também encontraram elevadas prevalências da infecção por HPV em mulheres jovens. Em Maryland-EUA, em mulheres com média para a idade de 22,5 anos e que compareceram para atendimento ginecológico de rotina em um centro médico universitário, a prevalência da infecção por qualquer tipo do HPV foi de 35% (KOTLOFF *et al.*, 1998). Em mulheres de Nova York-EUA, com menos de 25 anos de idade e recrutadas em unidades de saúde, BURK e colaboradores (1996) encontraram prevalência de 33% para a infecção por HPV, sendo que esta prevalência diminuiu com a idade. Em estudantes universitárias sexualmente ativas, com média para a idade de 22,9 anos e que procuraram atendimento ginecológico de rotina na Califórnia, detectou-se pela PCR que 33% apresentavam infecção cervical por HPV (BAUER *et al.*, 1991).

Da mesma forma, em Ontário-Canadá, em mulheres de 20 a 24 anos de idade e que compareceram para a realização da citologia cervical, encontrou-se por PCR prevalências de 23,1% e 19,4% para as infecções por qualquer tipo e por tipos de alto risco do HPV, respectivamente. Estas prevalências diminuíram progressivamente com o aumento da idade, ocorrendo, entretanto, em mulheres com mais de 44 anos, um novo aumento na frequência da infecção. Neste estudo, entre adolescentes de 15 a 19 anos, as prevalências das infecções por qualquer

tipo e por tipos de alto risco do HPV foram de 20,0% e 13,8%, respectivamente (SELLORS *et al.*, 2000). Finalmente, na Holanda, onde a taxa de incidência do câncer cervical é de 7,2/100.000 mulheres (FERLAY *et al.*, 2001), aproximadamente 20% das mulheres com menos de 25 anos de idade têm sido identificadas como infectadas por HPV (MELKERT *et al.*, 1993; JACOBS *et al.*, 2000).

Uma comparação direta entre as prevalências da infecção por HPV observadas nos diversos estudos é limitada por vários fatores, incluindo diferentes métodos utilizados para a detecção do HPV, tipos do HPV classificados como de alto ou baixo risco e diferentes características do grupo estudado. Diferenças entre os grupos estudados estão relacionadas principalmente à inclusão ou não de mulheres com citologia anormal, inclusão ou não de mulheres virgens e ao método de amostragem já que, em alguns estudos, a amostra foi obtida da população enquanto, em outros, as participantes foram selecionadas em Unidades de Saúde.

Entretanto, considerando os estudos citados anteriormente, algumas observações gerais poderiam ser feitas. Encontramos no presente estudo uma estimativa pontual para a prevalência da infecção por HPV maior do que aquelas observadas em mulheres da mesma faixa etária, em estudos baseados na população e conduzidos em locais com taxas de incidência do câncer cervical semelhantes à do Brasil, como Bogotá na Colômbia e Concórdia na Argentina (FERLAY *et al.*, 2001; MOLANO *et al.*, 2002; MATOS *et al.*, 2003). Isto talvez possa ser atribuído, entre outros fatores, ao fato de termos estudado principalmente mulheres recrutadas em Unidades de Saúde e que podem ter um comportamento sexual de maior risco para a aquisição da infecção por HPV. Por outro lado, a

prevalência da infecção por HPV no presente estudo foi bastante similar àquelas encontradas em três estudos realizados nos EUA e que incluíram mulheres jovens que compareceram em centros médicos para atendimento ginecológico de rotina (BAUER *et al.*, 1991; BURK *et al.*, 1996; KOTLOFF *et al.*, 1998).

A prevalência da infecção por HPV neste estudo foi maior do que as encontradas em outros estudos conduzidos no Brasil com mulheres jovens e recrutadas em Unidades de Saúde (ROUSSEAU *et al.*, 2001; NONNENMACHER *et al.*, 2002). Entretanto, em mulheres sexualmente ativas, as estimativas pontuais para a prevalência da infecção por HPV neste estudo foram bastante semelhantes nas cinco cidades estudadas. A prevalência da infecção por qualquer tipo de HPV variou de 36,3% a 41,2%, enquanto que as prevalências das infecções por HPV de alto risco e por HPV de baixo risco variaram de 26,1% a 30,4% e de 11,3% a 14,7%, respectivamente. Esta consistência nas estimativas para as prevalências da infecção por HPV, entre mulheres recrutadas em cinco cidades de diferentes regiões brasileiras, sugere que as estimativas do presente estudo talvez representem, de forma aproximada, o impacto da infecção por HPV em mulheres jovens que procuram atendimento em Unidades de Saúde em grandes cidades brasileiras ou, pelo menos, em cidades cujas populações apresentam características comportamentais similares.

As infecções cervicais por HPV são, na maioria das vezes, causadas por tipos de alto risco (STOLER, 2003). Isto também foi observado no presente estudo, já que detectamos, em 72,6% das mulheres infectadas, a presença do DNA de um tipo de alto risco. Da mesma forma que para as outras estimativas de prevalência da

infecção por HPV, as proporções destas infecções, causadas por tipos de alto risco, foram bastante semelhantes nas cinco cidades estudadas.

A predominância dos tipos de alto risco, entre mulheres infectadas por HPV, tem sido consistentemente observada em países de diferentes continentes e com freqüências semelhantes à observada neste estudo. Assim, na Colômbia, entre as mulheres de 13 a 24 anos de idade e positivas para o DNA do HPV, detectou-se a presença de tipos de alto risco em cerca de 80% delas e aproximadamente metade das infecções por tipos de baixo risco estavam associadas com a presença de tipos de alto risco (MOLANO *et al.*, 2002). Em Concórdia, Argentina, cerca de 68% das infecções foram causadas por tipos de alto risco (MATOS *et al.*, 2003). Também na fronteira México-EUA, cerca de 80% das mulheres positivas para o HPV tinham infecção por tipos de alto risco, enquanto 17,6% tinham infecção apenas por tipos de baixo risco (GIULIANO *et al.*, 2002b). Em mulheres holandesas, positivas para o DNA do HPV, observou-se que 72% apresentavam infecção por tipos de alto risco (JACOBS *et al.*, 2000). No estudo coordenado pela IARC na Tailândia, entre as mulheres HPV positivas, aproximadamente 70% tinham infecção por tipos de alto risco (SUKVIRACH *et al.*, 2003).

A infecção múltipla (detecção simultânea de mais de um tipo do HPV) foi relativamente freqüente no presente estudo, ocorrendo em 29,1% das mulheres infectadas. Diversos estudos têm observado também que as infecções múltiplas representam uma proporção significativa das infecções por HPV e, em alguns estudos, a infecção múltipla tem sido mais freqüentemente identificada em mulheres jovens.

Assim, em estudo sobre a história natural da infecção por HPV conduzido em São Paulo, observou-se maior prevalência da infecção múltipla em mulheres com menos de 25 anos de idade, sendo que, neste grupo, 27% das infecções por HPV, detectadas no recrutamento, eram múltiplas (ROUSSEAU *et al.*, 2001). Nesta mesma coorte, durante o seguimento, observou-se maior incidência de infecção múltipla em mulheres mais jovens. Em mulheres de 18 a 24 anos de idade cerca de 27% das infecções incidentes foram infecções múltiplas, enquanto que, entre as mulheres de 45 a 60 anos de idade, as infecções múltiplas representaram apenas 5,6% de todas as infecções incidentes (ROUSSEAU *et al.*, 2003).

Em estudo conduzido na Colômbia, em todo o grupo, 29,7% das mulheres positivas para o HPV tinham infecção múltipla e a prevalência desta infecção também foi maior em mulheres com menos de 25 anos de idade. Nesse estudo a maioria das infecções múltiplas foi causada, da mesma forma como observado por nós, por tipos de alto risco associados a tipos de baixo risco (53,7%) e por tipos de alto risco apenas (42,7%) (MOLANO *et al.*, 2002).

No Novo México-EUA, entre mulheres positivas para o HPV e com média para a idade de 28 anos, observou-se que 44,7% apresentavam infecção por mais de um tipo do HPV, sendo esta infecção múltipla mais comum em mulheres mais jovens, mulheres com mais de dois parceiros sexuais durante a vida e mulheres com mais de dois parceiros sexuais no último ano (PEYTON *et al.*, 2001). Por outro lado, JACOBS e colaboradores (2000) observaram em mulheres holandesas, positivas para o HPV e com citologia cervical normal, que 24% tinham infecção

múltipla. Entretanto, nesse grupo a prevalência dessa infecção não diminuiu com o aumento da idade.

As infecções múltiplas são freqüentes, mesmo em locais com baixa prevalência da infecção por HPV. Assim, em Barcelona-Espanha, cerca de 34% das mulheres infectadas tinham infecção múltipla (DE SANJOSE *et al.*, 2003) e, em Hanói-Vietnã, a prevalência da infecção múltipla foi de 20% entre as mulheres positivas (PHAM *et al.*, 2003). Em outros estudos coordenados pela IARC, a prevalência da infecção múltipla, entre mulheres positivas para o HPV, variou de 19% na Coréia do Sul a 45,8% em Concórdia, Argentina (LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; MATOS *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2003; SUKVIRACH *et al.*, 2003).

A probabilidade de persistência da infecção causada por um tipo específico do HPV não parece aumentar quando existe co-infecção com outros tipos (ROUSSEAU *et al.*, 2001). Segundo alguns autores (BOSCH *et al.*, 2002; MUNOZ *et al.*, 2003), as infecções múltiplas também não estariam associadas com maior risco de câncer cervical quando comparadas às infecções causadas por um tipo apenas do HPV.

Observamos pequena variação (25,7% a 30,1%) nas prevalências da infecção múltipla entre as mulheres recrutadas em quatro das cinco cidades estudadas (Fortaleza, Porto Alegre, Campinas e São Paulo). Em Curitiba a prevalência da infecção múltipla foi de 38,8% e maior do que nas outras cidades. Entretanto, em Curitiba, o número de mulheres avaliadas foi menor, o que torna a estimativa para esta prevalência menos precisa.

O HPV 16, com uma prevalência de 6,4%, foi o tipo de alto risco mais freqüente em todo o grupo, seguido dos tipos 52 , 31 , 51 , 68 e 18. O HPV 16

teve também, entre os tipos de alto risco, a maior prevalência em todas as cidades estudadas, exceto em Campinas. Nessa cidade, ele foi o segundo tipo de alto risco mais freqüente. A prevalência do HPV 16 variou de 5,1% a 8,2% nas cinco cidades. Encontramos também certa consistência na distribuição de freqüência dos tipos 31, 51 e 52, já que os mesmos estavam entre os cinco tipos de alto risco mais freqüentemente detectados em quase todas as cidades. Com relação ao HPV 18, observamos que ele foi o sexto ou sétimo tipo de alto risco mais freqüente nas cinco cidades estudadas. A sua prevalência (2,2% a 2,6%) foi aproximadamente metade a um terço da prevalência do HPV 16, em cada uma das cidades. Por outro lado, o HPV 33 e o HPV 45 foram os tipos de alto risco menos freqüentes. O tipo 45 foi pouco freqüente em todas as cidades, exceto em Fortaleza. Para os outros tipos de alto risco encontramos maior variabilidade.

Estudando 208 mulheres HIV positivas em São Paulo, com o mesmo PCR por nós utilizado para a detecção do DNA do HPV, LEVI e colaboradores (2002) encontraram uma prevalência bastante elevada da infecção por HPV (98%) e das infecções múltiplas (78,9% entre as mulheres positivas). Entretanto, observamos certa concordância na distribuição dos tipos de alto risco identificados neste e em nosso estudo. Os tipos 16, 52, 51 e 18 estavam entre os 6 tipos de alto risco mais freqüentemente detectados nos dois estudos, sendo o HPV 45 o tipo de alto risco menos freqüente.

Em estudo conduzido no final da década de 1980 em João Pessoa – Paraíba, FRANCO e colaboradores (1995), utilizando a PCR baseada nos iniciadores MY09/11, encontraram, em mulheres com média para idade de 41,2 anos, uma

prevalência da infecção por HPV de 18,3% e as seguintes prevalências para os tipos de alto risco: 16 (5,3%) , 33 (2,5%), 18 (2,1%), 58 e 66 (1,3% cada), 35 e 52 (0,8% cada), 31 e 45 (0,6% cada), 56 (0,4%) e 68 (0,2%). Os tipos 39, 51 e 59 não foram detectados. Em comparação com nossos dados observamos que o HPV 16 foi também o mais freqüente, as prevalências do HPV 16 e 18 foram similares e o HPV 45 foi também pouco freqüente. Por outro lado, o HPV 33 foi freqüente em João Pessoa e pouco freqüente no presente estudo, enquanto o inverso foi observado para os tipos 52, 31, 51 e 68.

Em estudo longitudinal sobre a história natural da infecção por HPV e da neoplasia cervical, em mulheres de 18 a 60 anos (média 33,3 anos) na cidade de São Paulo, os tipos de alto risco mais freqüentemente detectados no recrutamento foram o 16 (2,7%), 58 (1,2%), 31(1,1%), 18 (0,8%), 51(0,7%), 52 e 56 (0,6% cada), 45 (0,5%), 33 e 68 (0,4% cada), 35 (0,2%), 39 (0,1%) e 59 (0,1%). Considerando todos os tipos do HPV, as maiores taxas de incidência durante o seguimento, em mulheres com menos de 35 anos, foram observadas para os tipos 53, 51, 16, 52 e 31, nesta ordem (FRANCO *et al.*, 1999). Portanto, nesse estudo o HPV 16 foi também o tipo mais freqüente e, da mesma forma como observado no presente estudo, os tipos 16, 31, 18, 51 e 52 estavam entre os seis tipos de HPV de alto risco mais freqüentes e os tipos 33 e 45 tiveram menores prevalências.

Em estudo de metanálise realizado por CLIFFORD e colaboradores (2003) os tipos mais freqüentes de HPV, na América Central e na América do Sul, entre casos de carcinomas cervicais de células escamosas e carcinomas cervicais não especificados, foram os tipos 16 e 18, seguidos dos tipos 31, 45, 33, 52 e 58.

Em estudo conduzido em São Paulo em 1990/1991, a prevalência da infecção por HPV, entre casos de câncer cervical, foi de 84,4%. O HPV 16 foi o tipo mais freqüentemente detectado (53,8%), seguido do HPV 18 (8,6%) e HPV 31/33 (3,2%). Tipos não caracterizados ocorreram em 18,8% dos casos e o HPV 18 foi mais freqüente nos adenocarcinomas/carcinomas adenoescamosos (22%) do que nos carcinomas de células escamosas (8,4%). Nesse estudo utilizou-se a PCR baseada nos iniciadores GP5/6 e capaz de identificar os tipos 6, 11, 16, 18, 31 e 33 (ELUF-NETO *et al.*, 1994). Em Goiânia, RABELO-SANTOS e colaboradores (2003), usando os iniciadores GP5+/6+ e sondas para 15 tipos de HPV, observaram, entre 18 casos de NIC III e 56 casos de câncer cervical, que o tipo 16 foi o mais freqüente (56%), seguido do tipo 33, HPV não tipados, HPV 18 e HPV 31. Em Belém, usando os iniciadores MY09/11 e sondas para 30 tipos de HPV, NORONHA e colaboradores (1999) estudaram 106 casos de adenocarcinoma e carcinoma epidermóide invasor. O HPV 16 foi detectado em 60,4% dos casos e o HPV 18 em 11,3%. Os tipos 31, 33, 45, 52, 58, 59 e 73 foram encontrados, em conjunto, em 18,9% dos casos.

Assim, podemos observar que o HPV 16 é, consistentemente, o tipo mais freqüente do HPV detectado em mulheres com câncer cervical e em mulheres da população geral em estudos conduzidos, como este, em diferentes regiões do Brasil. Isto demonstra a importância de futuras vacinas contra o HPV, para as mulheres brasileiras, serem eficazes contra o HPV 16. Com relação ao HPV 18, observa-se que a sua prevalência tem sido menor do que a de outros tipos de alto risco do HPV em estudos realizados entre mulheres brasileiras sem câncer cervical.

Entretanto, talvez por ter um maior potencial oncogênico, o HPV 18 tem sido um tipo relativamente freqüente entre os casos de câncer cervical no Brasil. Assim, uma futura vacina contra o HPV poderá provavelmente ter um maior impacto na incidência do câncer cervical no Brasil, sendo também eficaz contra o HPV 18.

Em relação aos tipos de baixo risco, o HPV 53 foi o mais freqüente em todo o grupo e também em quatro das cinco cidades estudadas. Para os demais tipos de baixo risco observamos maior variabilidade nas suas prevalências entre a mulheres recrutadas nas diferentes cidades.

Considerando o trabalho conduzido por LEVI e colaboradores (2002) em São Paulo, em 208 mulheres HIV positivas e com o mesmo PCR utilizado no presente estudo, observa-se também certa concordância na distribuição dos tipos de baixo risco identificados nos dois estudos. Os tipos 53, 44, 70 e 74 estavam entre os seis tipos de baixo risco mais freqüentemente detectados em ambas as pesquisas.

Em outro estudo realizado na cidade de São Paulo, o HPV 53 foi também o tipo de baixo risco mais freqüente no recrutamento e o tipo que teve maior taxa de incidência durante o seguimento (FRANCO *et al.*, 1999). Por outro lado, em João Pessoa-Paraíba, o HPV 6 e o HPV 11 foram mais freqüentes que o HPV 53, em mulheres com média para idade de 41,2 anos (FRANCO *et al.*, 1995).

A elevada prevalência do HPV 53 entre os tipos de baixo risco observada no presente estudo é relevante na medida em que este tipo foi recentemente considerado, junto com os tipos 26 e 66, como de provável alto risco, de acordo com os dados obtidos em 11 estudos caso-controle sobre o câncer cervical

coordenados pela IARC (MUNOZ *et al.*, 2003). Entretanto, esta classificação não é universalmente aceita (MEYER e STOCKFLETH, 2003).

Para alguns tipos de HPV não existe consenso na literatura quanto à sua classificação. Diferentemente da classificação recentemente proposta por MUNOZ e colaboradores (2003), e com base nos dados obtidos em estudos sobre o câncer cervical, coordenados pela IARC, incluímos, entre os tipos de alto risco, o HPV 66 e não incluímos o HPV 73 e o HPV 82. No presente estudo detectamos um caso de infecção por HPV 82, 15 casos de infecção isolada por HPV 66 e não observamos um único caso de infecção por HPV 73. Assim, se tivéssemos utilizado a classificação proposta por MUNOZ e colaboradores (2003), teríamos apenas uma pequena alteração na estimativa do presente estudo para a prevalência da infecção por tipos de alto risco do HPV, que passaria de 27,9% para 26,9% entre as mulheres sexualmente ativas.

Encontramos uma prevalência relativamente elevada de alterações citológicas no grupo estudado, com aproximadamente 18% das mulheres apresentando citologia anormal (ASCUS:10,7%, LSIL:6,0% e HSIL:0,8%). Da mesma forma que para a infecção por HPV, as estimativas pontuais para as prevalências dos diferentes diagnósticos citológicos foram semelhantes nas cinco cidades estudadas, exceto por uma maior prevalência de LSIL em Campinas.

UTAGAWA e colaboradores (1998), analisando os resultados da citologia cervical convencional (Papanicolaou) obtidos entre 1987 e 1995 pelo programa de prevenção do câncer cervical do Serviço Público de Saúde do Estado de São Paulo, encontraram um aumento na frequência de citologias anormais, durante

este período, em mulheres com menos de 22 anos de idade. De acordo com este estudo, entre as 9.681 citologias examinadas em 1995, 2,02% tiveram diagnóstico de LSIL e 0,07% tiveram diagnóstico de HSIL. LONGATTO FILHO e colaboradores (2003) também analisaram os resultados da citologia cervical convencional (Papanicolaou) realizadas pela Rede Pública de Saúde do Estado de São Paulo, porém em período posterior (1996 a 2001). Estes autores observaram, igualmente, aumento na frequência de citologias anormais em mulheres com menos de 22 anos de idade, sendo que, nesse grupo, 4,2% das citologias examinadas tiveram diagnóstico de ASCUS, NIC 1, NIC 2 ou NIC 3 em 2001.

Um outro estudo brasileiro observou, entre 120.635 mulheres que realizaram citologia cervical em Serviços Públicos de Saúde da região de Campinas-São Paulo, em 1998/1999, diminuição nas prevalências de diagnósticos citológicos de NIC 1 e NIC 2 e aumento na prevalência de diagnósticos citológicos de NIC 3, com o aumento da idade. Em mulheres com menos de 20 anos de idade e naquelas entre 20 a 24 anos de idade, as prevalências de NIC 1 foram de 0,9% e 0,6%, respectivamente. Nesses mesmos grupos etários as prevalências de NIC 2 ou 3 foram de 0,54% e 0,49%, respectivamente (D'OTTAVIANO-MORELLI *et al.*, 2004).

A prevalência de anormalidades citológicas encontrada no presente estudo foi bem superior à relatada para mulheres jovens, nos estudos conduzidos no Estado de São Paulo e citados anteriormente. Isto está relacionado, provavelmente, com a elevada prevalência da infecção por HPV detectada no presente estudo e, também, com a utilização da citologia em meio líquido. A citologia em meio líquido parece aumentar a frequência de diagnósticos citológicos de LSIL e

HSIL, em comparação com a citologia convencional, embora não altere a frequência de diagnósticos de células atípicas de significado indeterminado (BERNSTEIN *et al.*, 2001).

Por outro lado, alguns trabalhos nos EUA têm observado, como este estudo, elevada prevalência de anormalidades citológicas em mulheres jovens. Entre 10.296 exames de Papanicolaou de adolescentes com 10 a 19 anos de idade, realizados em New England-EUA, observou-se que 70,0% foram normais, 9,7% tiveram diagnóstico de ASCUS, 3,7% diagnóstico de lesão intra-epitelial escamosa (LSIL=2,4%, lesão intra-epitelial escamosa de grau incerto=0,6%, HSIL=0,6%) e 0,06% diagnóstico de AGUS. As lesões intra-epiteliais escamosas foram mais frequentes entre mulheres com 20 a 24 anos de idade e, depois, entre mulheres com 15 a 19 anos de idade (MOUNT e PAPILLO, 1999).

No Novo México-EUA, entre 3.863 mulheres com média para idade de 28 anos e que procuraram atendimento ginecológico de rotina, observou-se que 4,9% tinham ASCUS, 3% tinham LSIL e 0,4% tinham HSIL. Nesse grupo, a prevalência da infecção por HPV foi de 39,2% (PEYTON *et al.*, 2001).

Em Nova York-EUA, entre 271 mulheres de 13 a 22 anos de idade e atendidas em uma clínica de DST, a frequência de exames de Papanicolaou anormais foi de 20,7%, sendo que 12,2% tinham ASCUS, 7,7% tinham LSIL e 0,7% tinham HSIL. Os exames de Papanicolaou anormais foram mais frequentes neste grupo do que em mulheres adultas. Entre as mulheres adultas, 13,2% apresentavam alterações na citologia, sendo que 9,9% tinham ASCUS, 2,5% tinham LSIL, 0,6% tinham HSIL e 0,2% tinham carcinoma (EDELMAN *et al.*, 1999). Outro

estudo conduzido nos EUA, observou maior frequência de exames de Papanicolaou anormais entre adolescentes de 13 a 17 anos de idade do que em mulheres com 18 anos ou mais (29% *versus* 23%). Nesse estudo, entre as 528 adolescentes de 13 a 17 anos de idade, as prevalências de ASCUS, LSIL e HSIL foram de 16%, 13% e 0,2%, respectivamente. Já nas mulheres com 18 anos ou mais, as prevalências de ASCUS, LSIL, HSIL e carcinoma de células escamosas foram de 15%, 7%, 1,2% e 0,1%, respectivamente (SIMSIR *et al.*, 2002).

Em Montreal-Canadá, entre estudantes que compareceram para realizar o exame de Papanicolaou de rotina, detectou-se 22,7% de prevalência para a infecção por HPV e, em relação aos diagnósticos citológicos, 7,2% tinham ASCUS, 3,4% tinham LSIL e 0,8% tinham HSIL (RICHARDSON *et al.*, 2000).

A citologia cervical tem sido recomendada para mulheres jovens e sexualmente ativas (SASLOW *et al.*, 2002; BRASIL, 2004) e no grupo de mulheres jovens deste estudo encontramos uma frequência relativamente elevada de anormalidades citológicas. Entretanto, em adolescentes e mulheres jovens a maioria das infecções por HPV e das LSIL são transitórias e regredem espontaneamente (HO *et al.*, 1998; MOSCICKI *et al.*, 1998; MOSCICKI, 1999; SASLOW *et al.*, 2002), admitindo-se, portanto, para adolescentes com LSIL, uma abordagem mais conservadora. Para este grupo etário, a Sociedade Americana de Colposcopia e Patologia Cervical considera a repetição da citologia com seis e 12 meses ou a pesquisa do DNA do HPV após 12 meses alternativas aceitáveis para a abordagem de uma LSIL, não sendo necessária a realização imediata da colposcopia (WRIGHT *et al.*, 2002).

No presente estudo, a infecção por HPV de alto risco foi detectada em 53,5% das mulheres com ASCUS, em 81,3% daquelas com LSIL e em 72,7% das mulheres com HSIL.

Em relação à prevalência da infecção por HPV entre mulheres com diagnóstico de ASCUS, encontramos resultados bastante semelhantes àqueles obtidos no *The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study* (ALTS). Esse estudo incluiu 3.326 mulheres com média para idade de 29 anos e que tiveram diagnóstico de ASCUS em citologias realizadas por laboratórios da comunidade. Nesse grupo de mulheres, a prevalência da infecção por tipos de alto risco do HPV, detectada através da Captura Híbrida II, foi de 53,1%. Nesse estudo observou-se que a pesquisa do DNA de tipos de alto risco do HPV, por Captura Híbrida II, teria sido capaz de identificar adequadamente 92,4% das mulheres que desenvolveram NIC 3 durante o seguimento, embora referindo para colposcopia apenas 53,1% de todas as mulheres com diagnóstico inicial de ASCUS. Sugeriu-se que a estratégia mais adequada para a abordagem de mulheres com ASCUS seria a triagem para a colposcopia, baseada no teste do HPV (SOLOMON *et al.*, 2001; THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP, 2003b).

Igualmente detectamos uma prevalência da infecção por HPV de alto risco, entre as mulheres com LSIL, bastante semelhante àquela descrita no *The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study* (ALTS). Nesse estudo, entre 642 mulheres com diagnóstico de LSIL e média para a idade de 24,9 anos, a prevalência da

infecção por tipos de alto risco do HPV, determinada através da Captura Híbrida II, foi de 82,9%. Esta elevada prevalência da infecção por HPV, em mulheres com diagnóstico citológico de LSIL, levou os autores a concluírem que o teste para o DNA do HPV seria de pouca utilidade na triagem dessas lesões (THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP, 2000).

Devido à utilização de diferentes terminologias para se relatar o diagnóstico da citologia cervical e diferentes critérios morfológicos para se definir um mesmo diagnóstico, tem-se discutido a aplicabilidade dos resultados do *The Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesions Triage Study* (ALTS) em outros países (SHERMAN, 2003; SOLOMON, 2003). No presente estudo, a avaliação da citologia foi feita por laboratório de referência nos EUA utilizando-se o sistema Bethesda e, portanto, os diagnósticos citológicos são provavelmente equivalentes aos do ALTS. Encontramos também neste estudo prevalências da infecção por HPV, entre as mulheres com LSIL e ASCUS, similares às detectadas no ALTS. Em conjunto, estes dados sugerem que as conclusões do ALTS, em relação à utilidade e desempenho do teste para o DNA do HPV na triagem de mulheres com ASCUS e LSIL, talvez possam ser aplicáveis também às mulheres brasileiras, desde que se utilizem critérios semelhantes para definição e classificação das diferentes anormalidades citológicas.

No presente estudo, das 11 mulheres com HSIL detectadas pela citologia cervical, três foram negativas para o HPV, o que talvez possa ser atribuído a um resultado falso positivo na citologia ou a um resultado falso negativo na pesquisa do DNA do HPV.

Entre as 171 mulheres que não haviam iniciado a atividade sexual (negavam contato genital-genital ou intercurso sexual), a prevalência da infecção por HPV foi de 6,4% e, como esperado, bastante inferior à prevalência observada entre as mulheres sexualmente ativas. Admite-se que o intercurso sexual seja a principal forma de transmissão do HPV. Entretanto, outras formas de transmissão têm sido sugeridas, já que a infecção genital por HPV tem sido detectada também em mulheres virgens (RODEN *et al.*, 1997; SCHIFFMAN e KJAER, 2003; WINER *et al.*, 2003; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2004). Um estudo recente encontrou, em mulheres virgens, uma incidência cumulativa de 7,9% da infecção por HPV no período de 24 meses, sendo que o DNA do HPV foi detectado em 1,7% das amostras genitais (amostras vulvovaginais ou cervicais) coletadas desse grupo. Um maior risco de infecção por HPV foi observado entre as mulheres virgens que relataram algum tipo de contato sexual sem penetração (digital-vulvar, peniano-vulvar, oral-peniano), sendo sugerido que este tipo de contato sexual poderia ser um fator importante para a aquisição da infecção entre mulheres virgens (WINER *et al.*, 2003).

Outros estudos relatam também a presença do HPV em mulheres virgens. Em Concórdia, Argentina, a prevalência da infecção por HPV entre 60 mulheres virgens foi de 3% (MATOS *et al.*, 2003) e RYLANDER e colaboradores (1994) detectaram, entre 151 amostras cervicovaginais coletadas de mulheres virgens, o HPV 6 em duas amostras.

Em mulheres que fazem sexo com mulheres, o DNA do HPV tem sido detectado mesmo entre aquelas que não relatam relações sexuais anteriores com

homens, sendo sugerido que a transmissão do HPV, entre mulheres, possa ocorrer através de outras formas como o contato genital-genital, digital-vaginal, sexo oral ou através de objetos (MARRAZZO *et al.*, 2000; MARRAZZO *et al.*, 2001).

Assim, no presente estudo, a presença do DNA do HPV entre as mulheres que não haviam tido intercurso sexual e negavam o contato genital-genital talvez possa ser explicada pela aquisição do HPV através de outras formas de contato sexual ou através de vias de transmissão não sexuais. Alternativamente, devemos considerar a possibilidade dessas 11 mulheres terem omitido informações sobre o seu comportamento sexual ou a ocorrência de um resultado falso positivo na pesquisa do HPV devido à contaminação da amostra.

Em relação aos fatores associados à infecção por HPV, observamos que mulheres solteiras, divorciadas ou viúvas, mulheres com cinco anos ou menos de atividade sexual e mulheres com um maior número de parceiros sexuais durante a vida tinham maior chance de estar infectadas por HPV. Por outro lado, o uso regular de anticoncepcionais orais estava associado a uma menor chance de infecção.

O número de parceiros sexuais durante a vida tem sido consistentemente identificado como um fator de risco para a infecção por HPV (BAUER *et al.*, 1993; WHEELER *et al.*, 1993; FRANCO *et al.*, 1995; MUNOZ *et al.*, 1996; KOTLOFF *et al.*, 1998; DEACON *et al.*, 2000; GIULIANO *et al.*, 2001; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; DE SANJOSE *et al.*, 2003; MATOS *et al.*, 2003; MOLANO *et al.*, 2003), o que é compatível com a importância da via sexual na transmissão desta infecção.

No presente estudo, as mulheres solteiras, divorciadas ou viúvas tinham chance quase duas vezes maior de estar infectadas por HPV do que as mulheres casadas ou que moravam com um parceiro. Esta associação já foi também encontrada em outras populações (BURK *et al.*, 1996; GIULIANO *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; SHIN *et al.*, 2003) como, por exemplo, entre mulheres residentes na fronteira México-EUA. Nesse grupo, um estudo observou que, em relação às mulheres casadas, as mulheres solteiras tinham um risco 1,5 vezes maior de estar infectadas por HPV e que as mulheres divorciadas, separadas ou viúvas tinham um risco 3,2 vezes maior (GIULIANO *et al.*, 2001).

Algumas suposições poderiam ser feitas para explicar a associação entre situação conjugal e infecção por HPV. Talvez a situação conjugal seja um marcador de outros fatores de risco para esta infecção, como características dos parceiros sexuais. As mulheres solteiras, em comparação com as mulheres com um relacionamento estável (morando com um parceiro ou casadas), poderiam ter parceiros sexuais com maior probabilidade de estar infectados por HPV e, portanto, teriam maior chance de adquirir a infecção. Além disto, no presente estudo, é provável que as infecções adquiridas em um período recente representem grande parte das infecções que foram detectadas, já que, em mulheres jovens, a maioria das infecções é transitória e regride após alguns meses (HO *et al.*, 1998; MOSCICKI *et al.*, 1998; FRANCO *et al.*, 1999). Assim, outra justificativa para a associação entre situação conjugal e infecção por HPV observada neste estudo seria a possibilidade de as mulheres solteiras terem tido um maior número de parceiros sexuais recentes e, conseqüentemente, maior exposição recente ao HPV do que as mulheres que

eram casadas ou que moravam com um parceiro, sendo que essa exposição recente ao HPV pode não ter sido adequadamente mensurada através de informações apenas sobre o número de parceiros sexuais no último ano.

No presente estudo, as mulheres com cinco anos ou menos de atividade sexual tinham maior chance de estar infectadas por HPV do que as mulheres que haviam iniciado a vida sexual há mais tempo. Da mesma forma que para a situação conjugal, talvez o menor tempo de atividade sexual seja um marcador de maior intensidade de exposições recentes ao HPV. Além disso, mulheres com maior tempo de atividade sexual poderiam já ter adquirido imunidade para alguns tipos de HPV e, para a mesma intensidade de exposições, poderiam ter menor probabilidade de adquirir a infecção. Um estudo conduzido na Dinamarca e Groenlândia observou, também, que um menor tempo de atividade sexual estava associado com um maior risco de infecção por HPV. Nesse estudo, entre as mulheres com vários parceiros sexuais no último ano, aquelas que eram sexualmente ativas por mais tempo tinham um risco menor de apresentar a infecção. Sugeriu-se, como possível explicação para esses resultados, a aquisição de imunidade contra o HPV com o tempo (SVARE *et al.*, 1998).

O uso prolongado de anticoncepcionais orais parece aumentar o risco de progressão da infecção por HPV para o câncer cervical (CASTELLSAGUE e MUNOZ, 2003). Entretanto, nos estudos sobre os fatores determinantes da infecção por HPV, a associação entre esta infecção e o uso de anticoncepcionais orais tem sido inconsistente. Alguns estudos têm observado uma associação positiva (HILDESHEIM *et al.*, 1993; MOLANO *et al.*, 2003; PHAM *et al.*, 2003), enquanto em outros existe

ausência de associação (BAUER *et al.*, 1993; WHEELER *et al.*, 1993; FAIRLEY *et al.*, 1994; KOTLOFF *et al.*, 1998; SVARE *et al.*, 1998; DEACON *et al.*, 2000; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; DE SANJOSE *et al.*, 2003) ou uma associação negativa (MATOS *et al.*, 2003). Esta inconsistência se repete, mesmo em estudos sobre fatores de risco para as infecções incidentes por HPV (MOSCICKI *et al.*, 2001; WINER *et al.*, 2003). Em revisão sistemática da literatura, GREEN e colaboradores (2003) concluíram que não existem evidências sugerindo uma associação negativa ou positiva entre o uso de anticoncepcionais orais e as infecções prevalentes por HPV.

Dois estudos encontraram, assim como este, uma associação negativa entre a infecção por HPV e o uso de anticoncepcionais orais. Em Concórdia, Argentina, as mulheres usuárias de anticoncepcionais orais e com menos de 45 anos de idade tinham uma chance menor (OR=0,5) de estar infectadas por HPV do que as mulheres que nunca haviam usado este método de anticoncepção (MATOS *et al.*, 2003). No Canadá, estudantes universitárias que relataram o uso **ocasional** de anticoncepcionais orais no ano anterior tinham maior risco de apresentar a infecção por HPV porém, havia uma indicação de que o uso **regular** de anticoncepcionais orais no ano anterior estava associado a um menor risco de infecção (RICHARDSON *et al.*, 2000). No grupo analisado pelo presente estudo, o uso regular de anticoncepcionais orais talvez seja, também, um marcador de outro comportamento sexual, associado a um menor risco de infecção por HPV e que não foi avaliado. As mulheres usuárias regulares de anticoncepcionais orais poderiam

talvez, independentemente da sua situação conjugal, ter relacionamentos de maior duração e, conseqüentemente, menor número de parceiros sexuais recentes.

No presente estudo, idade de início da atividade sexual, uso de preservativos, tabagismo e paridade não estavam associados à detecção do DNA do HPV, de acordo com o resultado da análise multivariada. Várias pesquisas, conduzidas anteriormente sobre os fatores determinantes da infecção por HPV, também não encontraram uma associação entre esta infecção e idade de início da atividade sexual, uso de preservativos ou tabagismo (WHEELER *et al.*, 1993; KOTLOFF *et al.*, 1998; SVARE *et al.*, 1998; DEACON *et al.*, 2000; GIULIANO *et al.*, 2001; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; MATOS *et al.*, 2003; MOLANO *et al.*, 2003). Em relação aos preservativos, um estudo de metanálise não encontrou evidências consistentes de que o seu uso poderia reduzir o risco de detecção do DNA do HPV (MANHART e KOUTSKY, 2002).

Embora freqüentemente se observe, como no presente estudo, ausência de associação entre paridade e infecção por HPV (BAUER *et al.*, 1993; WHEELER *et al.*, 1993; FAIRLEY *et al.*, 1994; BURK *et al.*, 1996; MUNOZ *et al.*, 1996; KOTLOFF *et al.*, 1998; DEACON *et al.*, 2000; GIULIANO *et al.*, 2001; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; DE SANJOSE *et al.*, 2003; MATOS *et al.*, 2003; MOLANO *et al.*, 2003), alguns estudos têm encontrado uma associação negativa (SVARE *et al.*, 1998; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PHAM *et al.*, 2003) e outros uma associação positiva (HILDESHEIM *et al.*, 1993).

Também não encontramos, como outros autores (WHEELER *et al.*, 1993; KOTLOFF *et al.*, 1998; DEACON *et al.*, 2000; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001),

uma associação significativa entre história de doenças sexualmente transmissíveis e infecção por HPV. Entretanto, em alguns estudos, a infecção por HPV estava associada à infecção por *Chlamidia trachomatis* (MUNOZ *et al.*, 1996; GIULIANO *et al.*, 2001) ou à soropositividade para o vírus Herpes Simples tipo 2 (PHAM *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2003).

Alguns estudos têm identificado diferentes fatores determinantes para as infecções por tipos de alto e baixo riscos do HPV. Porém, os resultados não têm sido consistentes em relação aos fatores especificamente associados a cada uma destas infecções (FRANCO *et al.*, 1995; RICHARDSON *et al.*, 2000; ROUSSEAU *et al.*, 2000; SELLORS *et al.*, 2000; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; GIULIANO *et al.*, 2002b).

Neste estudo, situação conjugal e número de parceiros sexuais durante a vida foram fatores independentemente associados tanto às infecções por tipos de alto risco como às infecções por tipos de baixo risco do HPV. Entre 10 estudos que avaliaram separadamente os fatores determinantes destas infecções (FRANCO *et al.*, 1995; KJAER *et al.*, 1997; RICHARDSON *et al.*, 2000; ROUSSEAU *et al.*, 2000; SELLORS *et al.*, 2000; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; CHAN *et al.*, 2002a; GIULIANO *et al.*, 2002b; MOLANO *et al.*, 2003), sete observaram uma associação entre número de parceiros sexuais durante a vida e infecção por HPV de alto risco (FRANCO *et al.*, 1995; KJAER *et al.*, 1997; SELLORS *et al.*, 2000; LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; CHAN *et al.*, 2002a; GIULIANO *et al.*, 2002b) e, em quatro estudos, o número de parceiros sexuais durante a vida também estava associado às infecções por tipos de baixo

risco do HPV, em todo o grupo estudado (LAZCANO-PONCE *et al.*, 2001; PEYTON *et al.*, 2001; CHAN *et al.*, 2002a) ou em um subgrupo de mulheres (FRANCO *et al.*, 1995). Em relação à situação conjugal, outros autores também observaram que mulheres solteiras tinham maior chance de estar infectadas por tipos de alto risco do HPV (SELLORS *et al.*, 2000; PEYTON *et al.*, 2001; GIULIANO *et al.*, 2002b) ou por tipos de baixo risco (PEYTON *et al.*, 2001; GIULIANO *et al.*, 2002b).

Por outro lado, no presente estudo, o número de parceiros sexuais no último ano foi um fator associado apenas às infecções por tipos de baixo risco do HPV. Em estudos anteriores, o comportamento sexual recente foi identificado como um fator determinante das infecções por tipos de alto risco (ROUSSEAU *et al.*, 2000; SELLORS *et al.*, 2000), das infecções por tipos de baixo risco (KJAER *et al.*, 1997; GIULIANO *et al.*, 2002b) ou de ambas (PEYTON *et al.*, 2001). As infecções causadas pelos tipos de baixo risco parecem ter menor duração do que aquelas causadas por tipos de alto risco, sendo ambas geralmente transitórias em mulheres jovens (FRANCO *et al.*, 1999; GIULIANO *et al.*, 2002a). Isto talvez possa explicar a associação entre o comportamento sexual recente e a detecção do DNA de tipos de baixo risco do HPV observada neste grupo de mulheres jovens.

Este estudo possibilitou a avaliação de um número significativo de mulheres jovens, atendidas em unidades públicas de saúde, de cinco cidades de diferentes regiões brasileiras, com métodos considerados bastante sensíveis para a detecção de um amplo espectro de tipos do HPV. Além de encontrarmos uma elevada prevalência da infecção por tipos de alto risco, o que é consistente com as elevadas taxas de incidência do câncer cervical relatadas para o Brasil, identificamos também

alguns fatores associados a uma maior prevalência da infecção e observamos que o padrão da infecção por HPV era bastante similar nas cinco cidades estudadas.

Poucos estudos desse tipo foram conduzidos anteriormente no Brasil. Assim, este estudo contribui para um maior conhecimento sobre a epidemiologia da infecção por HPV entre mulheres brasileiras e pode auxiliar no planejamento de estratégias para a prevenção primária do câncer cervical. Identificamos um grupo de mulheres para as quais estas atividades de prevenção são essenciais e, nas cidades estudadas, uma futura vacinação contra o HPV deverá ser considerada para adolescentes, a fim de reduzir o impacto da infecção por HPV e suas conseqüências na população. Além disso, os resultados deste estudo podem ser utilizados em atividades de esclarecimento sobre a infecção por HPV voltadas para a população em geral. O maior conhecimento, por parte da mulher, sobre as formas de aquisição, fatores de risco e freqüência da infecção por HPV em grupos populacionais semelhantes pode, provavelmente, contribuir para que ela tenha uma maior percepção em relação ao seu risco de desenvolver lesões precursoras e, conseqüentemente, influenciar a sua adesão às atividades de prevenção do câncer cervical e/ou estimular modificações de comportamentos, que estão associados a um maior risco de aquisição da infecção.

Entretanto, devemos considerar que os critérios de inclusão e o plano de amostragem utilizados neste estudo limitam a generalização dos resultados para todo o grupo de mulheres jovens das cidades estudadas e também para mulheres residentes em outros locais. Apesar desta limitação, o fato do padrão da infecção por HPV ter sido similar nas cinco cidades estudadas e a tendência atual para a

uniformização dos comportamentos sugerem que a infecção por HPV deve ser também freqüente em outros grupos de mulheres jovens de grandes cidades brasileiras. Entretanto, estudos adicionais e preferencialmente aqueles baseados na população seriam necessários para confirmar esta suposição. O presente estudo incluiu também apenas mulheres entre 15 e 25 anos de idade e outros estudos que avaliem a infecção por HPV em diferentes faixas etárias poderão contribuir para um melhor delineamento da epidemiologia da infecção em mulheres brasileiras.

Os resultados deste estudo reforçam a importância de futuras vacinas contra o HPV serem eficazes principalmente contra o HPV 16, para a população brasileira. Entretanto, em relação à composição dessas vacinas algumas considerações poderiam ser feitas. A distribuição de freqüência dos tipos de alto risco encontrada em estudos conduzidos entre mulheres sem câncer cervical pode não representar, necessariamente, a distribuição de freqüência dos tipos do HPV entre mulheres com a doença. Alguns tipos, por terem maior potencial oncogênico, poderiam tornar-se relativamente mais freqüentes entre as mulheres com câncer. Além disso, considerando as baixas prevalências dos tipos individuais do HPV na população de mulheres em geral, seria necessário um maior tamanho amostral para a obtenção de estimativas precisas para estas prevalências. Assim, no presente estudo, outros tipos de alto risco foram mais freqüentes do que o HPV 18, mas este tem sido o segundo ou terceiro tipo mais freqüente do HPV entre mulheres brasileiras com câncer cervical.

Poucos estudos relatam as prevalências dos diferentes tipos de HPV entre mulheres com câncer de colo do útero no Brasil e, em alguns estudos,

observa-se uma frequência relativamente elevada de tipos não caracterizados e/ou de casos negativos para o vírus. Assim, com a perspectiva concreta de vacinas contra o HPV tornarem-se disponíveis no futuro, estudos adicionais sobre a distribuição de tipos do HPV na população, e principalmente em mulheres com NIC 3 e câncer cervical, poderiam contribuir para uma melhor avaliação da composição ideal da vacina e do potencial impacto que estas vacinas poderão ter na taxa de incidência do câncer cervical no Brasil.

Em relação à prevalência da infecção por HPV em mulheres com ASCUS e LSIL, novos estudos que incluíssem um maior número de mulheres com estas alterações citológicas, outras faixas etárias, avaliação histológica e utilizassem laboratórios locais, poderiam contribuir para uma melhor avaliação do desempenho e utilidade do teste para o DNA do HPV na triagem de ASCUS e LSIL em mulheres brasileiras.

Finalmente, estudos sobre a infecção por HPV em homens permitiriam delinear de forma mais ampla a epidemiologia desta infecção na população brasileira.

6. Conclusões

Observamos, em cinco cidades de diferentes regiões do Brasil, uma elevada prevalência da infecção por HPV entre mulheres jovens e sexualmente ativas, sendo esta infecção causada principalmente por tipos de alto risco. Os tipos de alto risco e de baixo risco mais freqüentes foram o HPV 16 e o HPV 53, respectivamente, e a infecção múltipla foi detectada em aproximadamente um terço das mulheres. Os diagnósticos citológicos de ASCUS e LSIL foram também relativamente freqüentes, sendo observados, respectivamente, em 10,7% e 6,0% das mulheres. Na maioria das mulheres com LSIL e em cerca de metade das mulheres com ASCUS detectou-se o DNA de tipos de alto risco do HPV. As estimativas pontuais para as prevalências da infecção por HPV e das anormalidades citológicas foram bastante similares nas cinco cidades estudadas, apesar da sua diversidade geográfica.

A infecção por qualquer tipo do HPV estava associada principalmente com fatores relacionados ao comportamento sexual da mulher, sendo a chance de infecção maior para mulheres solteiras, divorciadas ou viúvas, mulheres com um maior número de parceiros sexuais durante a vida e mulheres com um

menor tempo de atividade sexual. Mulheres que relataram o uso regular de anticoncepcionais orais tinham menor chance de infecção.

Entretanto, quando analisadas separadamente, as infecções causadas por tipos de alto ou baixo risco do HPV estavam associadas a diferentes fatores. Mulheres solteiras, divorciadas ou viúvas e mulheres com um maior número de parceiros sexuais durante a vida tinham uma chance maior de apresentar tanto a infecção por tipos de alto risco como a infecção por tipos de baixo risco do HPV. Por outro lado, o uso regular de anticoncepcionais orais estava associado negativamente com a infecção por tipos de alto risco mas não com a infecção por tipos de baixo risco, enquanto o número de parceiros sexuais no último ano foi um fator associado exclusivamente com a infecção por tipos de baixo risco do HPV.

7. Referências Bibliográficas

BAUER, H. M.; TING, Y.; GREER, C. E.; CHAMBERS, J. C.; TASHIRO, C. J.; CHIMERA, J. *et al.* Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. ***Jama***, 265(4):472-7, 1991.

BAUER, H. M.; HILDESHEIM, A.; SCHIFFMAN, M. H.; GLASS, A. G.; RUSH, B. B.; SCOTT, D. R. *et al.* Determinants of genital human papillomavirus infection in low-risk women in Portland, Oregon. ***Sex Transm Dis***, 20(5):274-8, 1993.

BERNSTEIN, S. J.; SANCHEZ-RAMOS, L.; NDUBISI, B. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: a metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. ***Am J Obstet Gynecol***, 185(2):308-17, 2001.

BOSCH, F. X.; LORINCZ, A.; MUNOZ, N.; MEIJER, C. J.; SHAH, K. V. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. ***J Clin Pathol***, 55(4):244-65, 2002.

BOSCH, F. X.; DE SANJOSE, S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality. ***J Natl Cancer Inst Monogr***, 31:3-13, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer – INCA. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2003. 92p.

BRASIL. Ministério da Saúde - Instituto Nacional de Câncer. Viva Mulher - Programa de Controle do câncer de colo de útero. Periodicidade de realização do exame preventivo do câncer do colo do útero. 2004.

BREITBURD, F.; COURSAGET, P. Human papillomavirus vaccines. **Sem Cancer Biology**, 9:431-45, 1999.

BROWN, D. R.; LEGGE, D.; QADADRI, B. Distribution of human papillomavirus types in cervicovaginal washings from women evaluated in a sexually transmitted diseases clinic. **Sex Transm Dis**, 29(12):763-8, 2002.

BURK, R. D.; KELLY, P.; FELDMAN, J.; BROMBERG, J.; VERMUND, S. H.; DEHOVITZ, J. A. *et al.* Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. **Sex Transm Dis**, 23(4):333-41, 1996.

CASTELLSAGUE, X.; BOSCH, F. X.; MUNOZ, N. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. **Virus Res**, 89(2):191-9, 2002.

CASTELLSAGUE, X.; MUNOZ, N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. **J Natl Cancer Inst Monogr**, 31:20-8, 2003.

CASTLE, P. E.; GIULIANO, A. R. Chapter 4: Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients--assessing their roles as human papillomavirus cofactors. **J Natl Cancer Inst Monogr**, 31:29-34, 2003.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Prevention of Genital Human Papillomavirus Infection. Report to Congress. U.S. Department of Health and Human Services, 2004. 35p.

CHAN, P. K.; CHANG, A. R.; CHEUNG, J. L.; CHAN, D. P.; XU, L. Y.; TANG, N. L. *et al.* Determinants of cervical human papillomavirus infection: differences between high- and low-oncogenic risk types. **J Infect Dis**, 185(1):28-35, 2002a.

CHAN, P. K.; LAM, C. W.; CHEUNG, T. H.; LI, W. W.; LO, K. W.; CHAN, M. Y. *et al.* Association of human papillomavirus type 58 variant with the risk of cervical cancer. **J Natl Cancer Inst**, 94(16):1249-53, 2002b.

CLIFFORD, G. M.; SMITH, J. S.; PLUMMER, M.; MUNOZ, N.; FRANCESCHI, S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. **Br J Cancer**, 88(1):63-73, 2003.

COX, J.T. Natural History of HSIL. In: International Papillomavirus Conference, 19th, 2001, Florianópolis. **Program and Oral Presentations. Florianópolis**, 2001. p 70-1, 2001.

DE SANJOSE, S.; ALMIRALL, R.; LLOVERAS, B.; FONT, R.; DIAZ, M.; MUNOZ, N. *et al.* Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. **Sex Transm Dis**, 30(10):788-93, 2003.

DE VILLIERS, E.M.; FAUQUET, C.; BROKER, T.R.; BERNARD, H.U.; ZUR HAUSEN, H. Classification of papillomaviruses. **Virology**, 324(1):17-27, 2004.

DEACON, J. M.; EVANS, C. D.; YULE, R.; DESAI, M.; BINNS, W.; TAYLOR, C. *et al.* Sexual behaviour and smoking as determinants of cervical HPV infection and of CIN3 among those infected: a case-control study nested within the Manchester cohort. **Br J Cancer**, 83(11):1565-72, 2000.

D'OTTAVIANO-MORELLI, M. G.; ZEFERINO, L.; CECATTI, J. G.; TERRABUIO, D. R.; MARTINEZ, E. Z. Prevalence of cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma based on cytological screening in the region of Campinas, Sao Paulo, Brazil. **Cad Saude Publica**, 20(1):153-9, 2004.

EDELMAN, M.; FOX, A. S.; ALDERMAN, E. M.; NEAL, W.; SHAPIRO, A.; SILVER, E. J. *et al.* Cervical Papanicolaou smear abnormalities in inner city Bronx adolescents: prevalence, progression, and immune modifiers. **Cancer**, 87(4):184-9, 1999.

ELUF-NETO, J.; BOOTH, M.; MUNOZ, N.; BOSCH, F. X.; MEIJER, C. J.; WALBOOMERS, J. M. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. **Br J Cancer**, 69(1):114-9, 1994.

FAIRLEY, C. K.; CHEN, S.; UGONI, A.; TABRIZI, S. N.; FORBES, A.; GARLAND, S. M. Human papillomavirus infection and its relationship to recent and distant sexual partners. **Obstet Gynecol**, 84(5):755-9, 1994.

FERLAY, J.; BRAY, F.; PISANI, P.; PARKIN, D.M. Globocan 2000: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide, Version 1.0. IARC CancerBase No. 5. Lyon, IARC Press. 2001.

FRANCO, E. L. Chapter 13: Primary screening of cervical cancer with human papillomavirus tests. **J Natl Cancer Inst Monogr**, (31):89-96, 2003.

FRANCO, E. L.; VILLA, L. L.; RUIZ, A.; COSTA, M. C. Transmission of cervical human papillomavirus infection by sexual activity: differences between low and high oncogenic risk types. **J Infect Dis**, 172(3):756-63, 1995.

FRANCO, E. L.; VILLA, L. L.; SOBRINHO, J. P.; PRADO, J. M.; ROUSSEAU, M. C.; DESY, M. *et al.* Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. **J Infect Dis**, 180(5): 1415-23, 1999.

GIULIANO, A. R.; PAPENFUSS, M.; ABRAHAMSEN, M.; DENMAN, C.; DE ZAPIEN, J. G.; HENZE, J. L. *et al.* Human papillomavirus infection at the United States-Mexico border: implications for cervical cancer prevention and control. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 10(11):1129-36, 2001.

GIULIANO, A. R.; HARRIS, R.; SEDJO, R. L.; BALDWIN, S.; ROE, D.; PAPENFUSS, M. R. *et al.* Incidence, prevalence, and clearance of type-specific human papillomavirus infections: The Young Women's Health Study. **J Infect Dis**, 186(4):462-9, 2002a.

GIULIANO, A. R.; PAPENFUSS, M.; ABRAHAMSEN, M.; INSERRA, P. Differences in factors associated with oncogenic and nononcogenic human papillomavirus infection at the United States-Mexico border. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 11(9):930-4, 2002b.

GRAVITT, P. E.; PEYTON, C. L.; APPLE, R. J.; WHEELER, C. M. Genotyping of 27 human papillomavirus types by using L1 consensus PCR products by a single-hybridization, reverse line blot detection method. **J Clin Microbiol**, 36(10):3020-7, 1998.

GRAVITT, P. E.; LACEY, J. V., JR.; BRINTON, L. A.; BARNES, W. A.; KORNEGAY, J. R.; GREENBERG, M. D. *et al.* Evaluation of self-collected cervicovaginal cell samples for human papillomavirus testing by polymerase chain reaction. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 10(2):95-100, 2001.

GREEN, J.; BERRINGTON DE GONZALEZ, A.; SMITH, J. S.; FRANCESCHI, S.; APPLEBY, P.; PLUMMER, M. *et al.* Human papillomavirus infection and use of oral contraceptives. **Br J Cancer**, 88(11):1713-20, 2003.

HERRERO, R.; HILDESHEIM, A.; BRATTI, C.; SHERMAN, M. E.; HUTCHINSON, M.; MORALES, J. *et al.* Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. **J Natl Cancer Inst**, 92(6):464-74, 2000.

HILDESHEIM, A.; GRAVITT, P.; SCHIFFMAN, M. H.; KURMAN, R. J.; BARNES, W.; JONES, S. *et al.* Determinants of genital human papillomavirus infection in low-income women in Washington, D.C. **Sex Transm Dis**, 20(5):279-85, 1993.

HILDESHEIM, A.; HERRERO, R.; CASTLE, P. E.; WACHOLDER, S.; BRATTI, M. C.; SHERMAN, M. E. *et al.* HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. **Br J Cancer**, 84(9):1219-26, 2001.

HILDESHEIM, A.; WANG, S. S. Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. **Virus Res**, 89(2):229-40, 2002.

HO, G. Y.; BURK, R. D.; KLEIN, S.; KADISH, A. S.; CHANG, C. J.; PALAN, P. *et al.* Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. **J Natl Cancer Inst**, 87(18):1365-71, 1995.

HO, G. Y.; BIERMAN, R.; BEARDSLEY, L.; CHANG, C. J.; BURK, R. D. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. **N Engl J Med**, 338(7):423-8, 1998.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: Ed. John Wiley & Sons. 1989.

HUBBARD, R. A. Human papillomavirus testing methods. **Arch Pathol Lab Med**, 127(8): 940-5, 2003.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Biennial report 2000-2001. Lyon: IARC, 2001. 163p.

JACOBS, M. V.; SNIJDERS, P. J.; VAN DEN BRULE, A. J.; HELMERHORST, T. J.; MEIJER, C. J.; WALBOOMERS, J. M. A general primer GP5+/GP6(+)-mediated PCR-enzyme immunoassay method for rapid detection of 14 high-risk and 6 low-risk human papillomavirus genotypes in cervical scrapings. **J Clin Microbiol**, 35(3):791-5, 1997.

JACOBS, M. V.; WALBOOMERS, J. M.; SNIJDERS, P. J.; VOORHORST, F. J.; VERHEIJEN, R. H.; FRANSEN-DAALMEIJER, N. *et al.* Distribution of 37 mucosotropic HPV types in women with cytologically normal cervical smears: the age-related patterns for high-risk and low-risk types. **Int J Cancer**, 87(2):221-7, 2000.

KJAER, S. K.; CHACKERIAN, B.; VAN DEN BRULE, A. J.; SVARE, E. I.; PAULL, G.; WALBOMERS, J. M. *et al.* High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 10(2):101-6, 2001.

KJAER, S. K.; VAN DEN BRULE, A. J.; BOCK, J. E.; POLL, P. A.; ENGHOLM, G.; SHERMAN, M. E. *et al.* Determinants for genital human papillomavirus (HPV) infection in 1000 randomly chosen young Danish women with normal Pap smear: are there different risk profiles for oncogenic and nononcogenic HPV types? **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 6(10):799-805, 1997.

KLETER, B.; VAN DOORN, L. J.; SCHRAUWEN, L.; MOLIJN, A.; SASTROWIJOTO, S.; TER SCHEGGET, J. *et al.* Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus. **J Clin Microbiol**, 37(8):2508-17, 1999.

KLETER, B.; VAN DOORN, L. J.; TER SCHEGGET, J.; SCHRAUWEN, L.; VAN KRIMPEN, K.; BURGER, M. *et al.* Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. ***Am J Pathol***, 153(6):1731-9, 1998.

KOTLOFF, K. L.; WASSERMAN, S. S.; RUSS, K.; SHAPIRO, S.; DANIEL, R.; BROWN, W. *et al.* Detection of genital human papillomavirus and associated cytological abnormalities among college women. ***Sex Transm Dis***, 25(5):243-50, 1998.

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

KOUTSKY, L. A.; AULT, K. A.; WHEELER, C. M.; BROWN, D. R.; BARR, E.; ALVAREZ, F. B. *et al.* A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine. ***N Engl J Med***, 347(21):1645-51, 2002.

LAZCANO-PONCE, E.; HERRERO, R.; MUNOZ, N.; CRUZ, A.; SHAH, K. V.; ALONSO, P. *et al.* Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. ***Int J Cancer***, 91(3):412-20, 2001.

LEVI, J. E.; KLETER, B.; QUINT, W. G.; FINK, M. C.; CANTO, C. L.; MATSUBARA, R. *et al.* High prevalence of human papillomavirus (HPV) infections and high frequency of multiple HPV genotypes in human immunodeficiency virus-infected women in Brazil. ***J Clin Microbiol***, 40(9):3341-5, 2002.

LONGATTO FILHO, A.; ETLINGER, D.; GOMES, N.S.; CRUZ, S.V.; CAVALIERI, M.J. Frequency of abnormal uterine cervix smears from adolescents and adult women: review of 308,630 cases. ***Rev Inst Adolfo Lutz***, 62(1):31-4, 2003.

LOWY, D. R.; FRAZER, I. H. Chapter 16: Prophylactic human papillomavirus vaccines. ***J Natl Cancer Inst Monogr***, (31):111-6, 2003.

LUFF, R. D. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: report of the 1991 Bethesda workshop. The Bethesda System Editorial Committee. ***Hum Pathol***, 23(7):719-21, 1992.

MANHART, L. E.; KOUTSKY, L. A. Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts, or cervical neoplasia? A meta-analysis. ***Sex Transm Dis***, 29(11):725-35, 2002.

MANOS, M. M.; KINNEY, W. K.; HURLEY, L. B.; SHERMAN, M. E.; SHIEH-NGAI, J.; KURMAN, R. J. *et al.* Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results. ***JAMA***, 281(17):1605-10, 1999.

MARRAZZO, J. M.; STINE, K.; KOUTSKY, L. A. Genital human papillomavirus infection in women who have sex with women: a review. ***Am J Obstet Gynecol***, 183(3):770-4, 2000.

MARRAZZO, J. M.; KOUTSKY, L. A.; KIVIAT, N. B.; KUYPERS, J. M.; STINE, K. Papanicolaou test screening and prevalence of genital human papillomavirus among women who have sex with women. ***Am J Public Health***, 91(6):947-52, 2001.

MATOS, E.; LORIA, D.; AMESTOY, G. M.; HERRERA, L.; PRINCE, M. A.; MORENO, J. *et al.* Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concordia, Argentina: a population-based study. ***Sex Transm Dis***, 30(8):593-9, 2003.

MCCRORY, D.C.; MATCHAR, D.B.; BASTIAN, L.; DATTA, S. ; HASSELBLAD, V.; HICKEY, J *et al.* Evaluation of Cervical Cytology. Evidence Report/Technology Assessment No. 5. (Prepared by Duke University under Contract No. 290-97-0014.) AHCPR Publication No. 99-E010. Rockville, MD: Agency for Health Care Policy and Research. U.S. Department of Health and Human Services., 1999.

MEIJER, C. J.; SNIJDERS, P. J.; VAN DEN BRULE, A. J. Screening for cervical cancer: should we test for infection with high-risk HPV? ***Cmaj***, 163(5):535-8, 2000.

MELKERT, P. W.; HOPMAN, E.; VAN DEN BRULE, A. J.; RISSE, E. K.; VAN DIEST, P. J.; BLEKER, O. P. *et al.* Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent. **Int J Cancer**, 53(6):919-23, 1993.

MEYER, T.; STOCKFLETH, E. Classification of human papillomavirus. **N Engl J Med**, 348(20):2040-1, 2003.

MOLANO, M.; POSSO, H.; WEIDERPASS, E.; VAN DEN BRULE, A. J.; RONDEROS, M.; FRANCESCHI, S. *et al.* Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. **Br J Cancer**, 87(3):324-33, 2002.

MOLANO, M.; VAN DEN BRULE, A.; PLUMMER, M.; WEIDERPASS, E.; POSSO, H.; ARSLAN, A. *et al.* Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. **Am J Epidemiol**, 158(5):486-94, 2003.

MORENO, V.; BOSCH, F. X.; MUNOZ, N.; MEIJER, C. J.; SHAH, K. V.; WALBOOMERS, J. M. *et al.* Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. **Lancet**, 359(9312):1085-92, 2002.

MOSCICKI, A. B.; SHIBOSKI, S.; BROERING, J.; POWELL, K.; CLAYTON, L.; JAY, N. *et al.* The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. **J Pediatr**, 132(2):277-84, 1998.

MOSCICKI, A. B. Human papillomavirus infection in adolescents. **Pediatr Clin North Am**, 46(4):783-807, 1999.

MOSCICKI, A. B.; HILLS, N.; SHIBOSKI, S.; POWELL, K.; JAY, N.; HANSON, E. *et al.* Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. **Jama**, 285(23):2995-3002, 2001.

- MOUNT, S. L.; PAPILLO, J. L. A study of 10,296 pediatric and adolescent Papanicolaou smear diagnoses in northern New England. ***Pediatrics***, 103(3):539-45, 1999.
- MUNOZ, N.; KATO, I.; BOSCH, F. X.; ELUF-NETO, J.; DE SANJOSE, S.; ASCUNCE, N. *et al.* Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. ***Sex Transm Dis***, 23(6):504-10, 1996.
- MUNOZ, N.; FRANCESCHI, S.; BOSETTI, C.; MORENO, V.; HERRERO, R.; SMITH, J. S. *et al.* Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. ***Lancet***, 359(9312):1093-101, 2002.
- MUNOZ, N.; BOSCH, F. X.; DE SANJOSE, S.; HERRERO, R.; CASTELLSAGUE, X.; SHAH, K. V. *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. ***N Engl J Med***, 348(6):518-27, 2003.
- NOBBENHUIS, M. A.; WALBOOMERS, J. M.; HELMERHORST, T. J.; ROZENDAAL, L.; REMMINK, A. J.; RISSE, E. K. *et al.* Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. ***Lancet***, 354(9172):20-5, 1999.
- NONNENMACHER, B.; BREITENBACH, V.; VILLA, L. L.; PROLLA, J. C.; BOZZETTI, M. C. Genital human papillomavirus infection identification by molecular biology among asymptomatic women. ***Rev Saude Publica***, 36(1):95-100, 2002.
- NORONHA, V.; MELLO, W.; VILLA, L.; BRITO, A.; MACEDO, R.; BISI, F. *et al.* Human papillomavirus associated with uterine cervix lesions. ***Rev Soc Bras Med Trop***, 32(3):235-40, 1999.
- PALEFSKY, J. M.; HOLLY, E. A. Chapter 6: Immunosuppression and co-infection with HIV. ***J Natl Cancer Inst Monogr***, (31):41-6, 2003.
- PAYNE, N.; CHILCOTT, J.; MCGOOGAN, E. Liquid-based cytology in cervical screening: a rapid and systematic review. ***Health Technol Assess***, 4(18):1-73, 2000.

PEYTON, C. L.; GRAVITT, P. E.; HUNT, W. C.; HUNDLEY, R. S.; ZHAO, M.; APPLE, R. J. *et al.* Determinants of genital human papillomavirus detection in a US population. ***J Infect Dis***, 183(11):1554-64, 2001.

PHAM, T. H.; NGUYEN, T. H.; HERRERO, R.; VACCARELLA, S.; SMITH, J. S.; NGUYEN THUY, T. T. *et al.* Human papillomavirus infection among women in South and North Vietnam. ***Int J Cancer***, 104(2):213-20, 2003.

PROGRAM FOR APPROPRIATE TECHNOLOGY IN HEALTH. **Planning appropriate cervical cancer prevention programs**. 2nd Edition. Seattle: PATH, 2000. 89p.

RABELO-SANTOS, S. H.; ZEFERINO, L.; VILLA, L. L.; SOBRINHO, J. P.; AMARAL, R. G.; MAGALHAES, A. V. Human papillomavirus prevalence among women with cervical intraepithelial neoplasia III and invasive cervical cancer from Goiania, Brazil. ***Mem Inst Oswaldo Cruz***, 98(2):181-4, 2003.

RATNAM, S.; FRANCO, E. L.; FERENCZY, A. Human papillomavirus testing for primary screening of cervical cancer precursors. ***Cancer Epidemiol Biomarkers Prev***, 9(9):945-51, 2000.

REICHMAN, R. C. Human papillomaviruses. In: BRAUNWALD, E. ; FAUCI, A.S. ; KASPER, D.L. ; HAUSER, S.L. ; LONGO, D.L. ; JAMESON, J.L. **Harrison's principles of internal medicine on cd-rom**. 15th Edition. McGraw-Hill, 2001.

REMMINK, A. J.; WALBOOMERS, J. M.; HELMERHORST, T. J.; VOORHORST, F. J.; ROZENDAAL, L.; RISSE, E. K. *et al.* The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. ***Int J Cancer***, 61(3):306-11, 1995.

RICHARDSON, H.; FRANCO, E.; PINTOS, J.; BERGERON, J.; ARELLA, M.; TELLIER, P. Determinants of low-risk and high-risk cervical human papillomavirus infections in Montreal University students. ***Sex Transm Dis***, 27(2):79-86, 2000.

- RODEN, R. B.; LOWY, D. R.; SCHILLER, J. T. Papillomavirus is resistant to desiccation. **J Infect Dis**, 176(4):1076-9, 1997.
- ROUSSEAU, M. C.; FRANCO, E. L.; VILLA, L. L.; SOBRINHO, J. P.; TERMINI, L.; PRADO, J. M. *et al.* A cumulative case-control study of risk factor profiles for oncogenic and nononcogenic cervical human papillomavirus infections. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, 9(5):469-76, 2000.
- ROUSSEAU, M. C.; PEREIRA, J. S.; PRADO, J. C.; VILLA, L. L.; ROHAN, T. E.; FRANCO, E. L. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. **J Infect Dis**, 184(12):1508-17, 2001.
- ROUSSEAU, M. C.; VILLA, L. L.; COSTA, M. C.; ABRAHAMOWICZ, M.; ROHAN, T. E.; FRANCO, E. Occurrence of cervical infection with multiple human papillomavirus types is associated with age and cytologic abnormalities. **Sex Transm Dis**, 30(7):581-7, 2003.
- RYLANDER, E.; RUUSUVAARA, L.; ALMSTROMER, M. W.; EVANDER, M.; WADELL, G. The absence of vaginal human papillomavirus 16 DNA in women who have not experienced sexual intercourse. **Obstet Gynecol**, 83(5 Pt 1):735-7, 1994.
- SASLOW, D.; RUNOWICZ, C. D.; SOLOMON, D.; MOSCICKI, A. B.; SMITH, R. A.; EYRE, H. J. *et al.* American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. **CA Cancer J Clin**, 52(6):342-62, 2002.
- SCHIFFMAN, M.; CASTLE, P. E. Human papillomavirus: epidemiology and public health. **Arch Pathol Lab Med**, 127(8):930-4, 2003.
- SCHIFFMAN, M.; KJAER, S. K. Chapter 2: Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia. **J Natl Cancer Inst Monogr**, (31):14-9, 2003.
- SCHLECHT, N. F.; KULAGA, S.; ROBITAILLE, J.; FERREIRA, S.; SANTOS, M.; MIYAMURA, R. A. *et al.* Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. **JAMA**, 286(24):3106-14, 2001.

SCHROEDER, B. M. ACS updates guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. American Cancer Society. **Am Fam Physician**, 67(9):2011, 5-6, 2003.

SELLORS, J. W.; MAHONY, J. B.; KACZOROWSKI, J.; LYTWYN, A.; BANGURA, H.; CHONG, S. *et al.* Prevalence and predictors of human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. Survey of HPV in Ontario Women (SHOW) Group. **Cmaj**, 163(5):503-8, 2000.

SHERMAN, M. E. Chapter 11: Future directions in cervical pathology. **J Natl Cancer Inst Monogr**, (31):72-9, 2003.

SHERMAN, M. E.; LORINCZ, A. T.; SCOTT, D. R.; WACHOLDER, S.; CASTLE, P. E.; GLASS, A. G. *et al.* Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. **J Natl Cancer Inst**, 95(1):46-52, 2003.

SHIN, H. R.; LEE, D. H.; HERRERO, R.; SMITH, J. S.; VACCARELLA, S.; HONG, S. H. *et al.* Prevalence of human papillomavirus infection in women in Busan, South Korea. **Int J Cancer**, 103(3): 413-21, 2003.

SIGURDSSON, K. Cervical cancer, Pap smear and HPV testing: an update of the role of organized Pap smear screening and HPV testing. **Acta Obstet Gynecol Scand**, 78(6):467-77, 1999.

SIMSIR, A.; BROOKS, S.; COCHRAN, L.; BOURQUIN, P.; IOFFE, O. B. Cervicovaginal smear abnormalities in sexually active adolescents. Implications for management. **Acta Cytol**, 46(2):271-6, 2002.

SMITH, J. S.; HERRERO, R.; BOSETTI, C.; MUNOZ, N.; BOSCH, F. X.; ELUF-NETO, J. *et al.* Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. **J Natl Cancer Inst**, 94(21):1604-13, 2002a.

SMITH, J. S.; MUNOZ, N.; HERRERO, R.; ELUF-NETO, J.; NGELANGEL, C.; FRANCESCHI, S. *et al.* Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. **J Infect Dis**, 185(3):324-31, 2002b.

SOLOMON, D. Chapter 14: Role of triage testing in cervical cancer screening. **J Natl Cancer Inst Monogr**, (31):97-101, 2003.

SOLOMON, D.; SCHIFFMAN, M.; TARONE, R. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. **J Natl Cancer Inst**, 93(4):293-9, 2001.

SONNEX, C. Human papillomavirus infection with particular reference to genital disease. **J Clin Pathol**, 51(9):643-8, 1998.

STOLER, M. H. Human papillomavirus biology and cervical neoplasia: implications for diagnostic criteria and testing. **Arch Pathol Lab Med**, 127(8):935-9, 2003.

SUKVIRACH, S.; SMITH, J. S.; TUNSAKUL, S.; MUNOZ, N.; KESARARAT, V.; OPASATIAN, O. *et al.* Population-based human papillomavirus prevalence in Lampang and Songkla, Thailand. **J Infect Dis**, 187(8):1246-56, 2003.

SULIK, S. M.; KROEGER, K.; SCHULTZ, J. K.; BROWN, J. L.; BECKER, L. A.; GRANT, W. D. Are fluid-based cytologies superior to the conventional Papanicolaou test? A systematic review. **J Fam Pract**, 50(12):1040-6, 2001.

SVARE, E. I.; KJAER, S. K.; WORM, A. M.; OSTERLIND, A.; MOI, H.; CHRISTENSEN, R. B. *et al.* Risk factors for HPV infection in women from sexually transmitted disease clinics: comparison between two areas with different cervical cancer incidence. **Int J Cancer**, 75(1): 1-8, 1998.

THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP. Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. **J Natl Cancer Inst**, 92(5):397-402, 2000.

THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. **Am J Obstet Gynecol**, 188(6):1393-400, 2003a.

THE ASCUS-LSIL TRIAGE STUDY GROUP. Results of a randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance. **Am J Obstet Gynecol**, 188(6):1383-92, 2003b.

TORTOLERO-LUNA, G. Epidemiology of genital human papillomavirus. **Hematol Oncol Clin North Am**, 13(1):245-57, 1999.

UTAGAWA, M. L.; PEREIRA, S. M.; CAVALIERE, M. J.; MAEDA, M. Y.; SHIH, L. W.; SHIRATA, N. K. Cervical intraepithelial neoplasia in adolescents: study of cytological findings between 1987 and 1995 in Sao Paulo State-Brazil. **Arch Gynecol Obstet**, 262(1-2):59-64, 1998.

VAN DEN BRULE, A. J.; POL, R.; FRANSEN-DAALMEIJER, N.; SCHOULS, L. M.; MEIJER, C. J.; SNIJDERS, P. J. GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes. **J Clin Microbiol**, 40(3):779-87, 2002.

VAN DOORN, L. J.; KLETER, B.; QUINT, W. G. Molecular detection and genotyping of human papillomavirus. **Expert Rev Mol Diagn**, 1(4):394-402, 2001.

VILLA, L. L.; SICHERO, L.; RAHAL, P.; CABALLERO, O.; FERENCZY, A.; ROHAN, T. *et al.* Molecular variants of human papillomavirus types 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. **J Gen Virol**, 81(Pt 12):2959-68, 2000.

WALBOOMERS, J. M.; JACOBS, M. V.; MANOS, M. M.; BOSCH, F. X.; KUMMER, J. A.; SHAH, K. V. *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. **J Pathol**, 189(1):12-9, 1999.

WANG, S. S.; HILDESHEIM, A. Chapter 5: Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. **J Natl Cancer Inst Monogr**, (31):35-40, 2003.

WHEELER, C. M.; PARMENTER, C. A.; HUNT, W. C.; BECKER, T. M.; GREER, C. E.; HILDESHEIM, A. *et al.* Determinants of genital human papillomavirus infection among cytologically normal women attending the University of New Mexico student health center. **Sex Transm Dis**, 20(5):286-9, 1993.

WINER, R. L.; LEE, S. K.; HUGHES, J. P.; ADAM, D. E.; KIVIAT, N. B.; KOUTSKY, L. A. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. **Am J Epidemiol**, 157(3):218-26, 2003.

WOODMAN, C. B.; COLLINS, S.; WINTER, H.; BAILEY, A.; ELLIS, J.; PRIOR, P. *et al.* Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. **Lancet**, 357(9271):1831-6, 2001.

WRIGHT, T. C., JR.; COX, J. T.; MASSAD, L. S.; TWIGGS, L. B.; WILKINSON, E. J. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. **Jama**, 287(16):2120-9, 2002.

WRIGHT, T. C., JR.; COX, J. T.; MASSAD, L. S.; CARLSON, J.; TWIGGS, L. B.; WILKINSON, E. J. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. **Am J Obstet Gynecol**, 189(1):295-304, 2003.

8. Bibliografia de Normatizações

FRANÇA, J.L.; BORGES, S.M.; VASCONCELLOS, A.C.; MAGALHÃES, M.H.A.
– **Manual para normatização de publicações técnico-científicas**. 4^a ed.,
Editora UFMG, Belo Horizonte, 1998. 213p.

Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses. Faculdade de Ciências Médicas, Unicamp. Ed. SAD – Deliberação CCPG-001/98 (alterada 2002).

9. Anexos

9.1. Anexo 1- Questionário

Data : _____

PARTICIPANTE Nº: _____

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO SOBRE O PAPILOMAVÍRUS HUMANO QUESTIONÁRIO

INSTRUÇÕES PARA O QUESTIONÁRIO

Este questionário está composto pelas seguintes seções:

- Informação geral
- História sexual
- História anticoncepcional
- História reprodutiva
- Outras histórias ginecológicas

Para responder a maior parte das perguntas você simplesmente deverá fazer um “X” no quadrado ☐ que corresponder à sua resposta. Outras perguntas pedem uma resposta específica como idade, data ou outros números. Em algumas perguntas, dependendo da sua resposta, lhe será indicado que pule a pergunta seguinte e vá para outra parte do questionário. Isto é para não perder o seu tempo respondendo perguntas que não se aplicam a você.

Não há respostas certas ou erradas. Muitas perguntas pedem que você se lembre de fatos passados, especialmente do último ano. Por favor pense bem antes de responder. Você se surpreenderá como, ao ser “forçada” a lembrar de informações específicas de um determinado tipo, algumas respostas para outras perguntas surgirão naturalmente depois. No caso de não se lembrar alguma resposta, pule a pergunta mas nós pediríamos que você tentasse responder todas as perguntas.

APRECIAMOS A SUA COLABORAÇÃO NO ESTUDO

Questionário preenchido por: ☐ participante ☐ Entrevistador

INFORMAÇÃO GERAL

Esta parte do questionário se refere a informações gerais sobre você e o lugar onde mora.

1. Qual é a data do seu nascimento? _____ / _____ / _____ (muito importante)
Dia Mês Ano
2. Em que país você nasceu? _____
└─▶ Favor indicar o Estado: _____
3. Qual é o seu grupo étnico? (marcar apenas uma opção):
☐ Branco ☐ Negro
☐ Asiático ☐ mulato ☐ Outro
4. Aonde você mora atualmente? (município ou cidade): _____
5. Qual é o seu estado civil atual? (Marcar todas as opções que correspondam)
☐ Solteira
☐ Casada
☐ Viúva
☐ Divorciada/separada
☐ Vivendo com um companheiro
6. Atualmente você está matriculada em uma escola do 1º grau, escola do 2º grau ou universidade?
☐ Sim ☐ Não
7. Incluindo a escola do 1º grau, a escola do 2º grau e a universidade, quantos anos de estudo você completou? _____ anos
8. Alguma vez você fumou cigarros regularmente, isto é, um ou mais cigarros por dia durante um ou mais anos?
☐ Sim ☐ Não
9. Você fumou um total de pelo menos 100 cigarros em toda a sua vida?
☐ Sim ☐ Não
└─▶ Se **Não**, ir para a pergunta 13
10. Com que idade você começou a fumar? _____ anos
11. Você ainda fuma?
☐ Sim ☐ Não
└─▶ Se **Não**, com que idade você parou? _____ anos
12. Em média, quantos cigarros você fuma/fumava por dia/semana?
_____ cigarros por dia **OU** _____ cigarros por semana

HISTÓRIA SEXUAL

As próximas perguntas são sobre a sua vida sexual. Compreendemos que este é um assunto pessoal, mas é muito importante para o estudo. Utilize todo o tempo que necessitar para lembrar-se destas informações da forma mais precisa possível. Observe que algumas perguntas desta seção se referem à sua vida inteira enquanto que outras se referem apenas a suas experiências recentes.

Queremos recordar-lhe que todas as informações que você nos fornecer serão mantidas em total confidencialidade.

13. Qual é a sua orientação sexual atual?

- ☐ Heterossexual ☐ Lésbica
☐ Bissexual ☐ Não sei

14. Alguma vez teve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?

☐ Sim

☐ Não

→ **Se Não**, ir para a pergunta 25

→ **Se Sim**, Que idade você tinha quando teve a sua primeira relação sexual ou contato sexual de genital com genital ? _____ anos

15. Em toda a sua vida, qual é o número de parceiros com quem você teve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital ?

Número _____ (aproximadamente)

16. Com quantos desses parceiros você manteve um relacionamento sexual regular durante **três meses ou mais**?

Número _____ ☐ Nenhum

17. EM RELAÇÃO À MAIOR PARTE DA SUA VIDA SEXUALMENTE ATIVA, com que frequência **em média** você manteve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital ?

Favor responder em número de vezes por semana , por mês ou por ano, o que lhe parecer mais fácil:

Número de vezes por semana _____ OU

Número de vezes por mês _____ OU

Número de vezes por ano _____ OU

Menos de uma vez por ano ☐

18. Somente **NO ÚLTIMO ANO**, com que frequência **em média** você manteve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?

Favor responder em número de vezes por semana , por mês ou por ano, o que lhe parecer mais fácil:

Número de vezes por semana _____ OU

Número de vezes por mês _____ OU

Número de vezes por ano _____ OU

Nenhuma vez no último ano ☐

19. Durante **O ÚLTIMO ANO SOMENTE**, com quantos parceiros você manteve relações sexuais ou contato sexual de genital com genital?

Número _____

→ Quantos desses parceiros eram **NOVOS** parceiros? _____ Número

("Novos" significa relação sexual ou contato sexual de genital com genital pela PRIMEIRA VEZ com esse parceiro)

HISTÓRIA ANTICONCEPCIONAL

Aqui, gostaríamos de saber sobre os métodos de controle da gravidez ou de planejamento familiar que você e seu(s) parceiro(s) usaram. Favor indicar todos os métodos que vocês utilizaram desde que você passou a ser sexualmente ativa.

Se a resposta da pergunta 14 foi "Não" você pode pular esta seção inteira e ir para a pergunta 25

20.A seguir estão listados os métodos comuns de controle da gravidez.

Leia toda a lista e marque se você e seu(s) parceiro(s) sexual (ais) **alguma vez usaram algum** deles **(marcar todos os que corresponderem)** seja ocasionalmente ou com regularidade.

CONSIDERAMOS “REGULARMENTE” COMO UM MÍNIMO DE TRÊS MESES SEGUIDOS

- | | | | |
|---|---------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| a) pílula anticoncepcional | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| b) preservativo (camisinha) | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| c) espuma, gel, creme | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| d) DIU | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| e) diafragma com espermicida | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| f) diafragma <u>sem</u> espermicida | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| g) <i>cap cervical</i> | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| h) esponja | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| i) ducha vaginal | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| j) ritmo, calendário, ou método natural | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| k) retirada/coito interrompido | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| l) Norplant | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| m) Depo-Provera | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |

21. Você foi submetida a cirurgia para esterilização (ligadura de trompas)?

☐ Sim

Se Sim, informe o mês e o ano da cirurgia _____ / _____
mês ano

22. Se você utilizou anticoncepcionais orais ou pílulas para o controle da gravidez, favor indicar que idade você tinha quando os tomou pela primeira vez

idade: anos

☐ Nunca usei anticoncepcionais

Se nunca, ir para a pergunta 25

23. Considerando somente os períodos em que você esteve tomando a pílula ou outras formas hormonais de controle da gravidez (e.g. Norplant ou Depo-Provera), durante quanto tempo você confiou nesse método de controle da gravidez (some todos os períodos durante os quais você tomou qualquer tipo de anticoncepcional oral)?

meses OU anos OU

☐ todos os períodos somados foram menos que 3 meses

24. Agora, considerando SOMENTE O ÚLTIMO ANO, em média, qual dos seguintes métodos de controle da natalidade você e seu(s) parceiro(s) sexual(is) utilizaram? (marcar todos os que corresponderem)

CONSIDERAMOS “REGULARMENTE” COMO UM MÍNIMO DE TRÊS MESES SEGUIDOS

- | | | | |
|---|---------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| a) pílula anticoncepcional | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| b) preservativo (camisinha) | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| c) espuma, gel, creme | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| d) DIU | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| e) diafragma com espermicida | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| f) diafragma <u>sem</u> espermicida | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| g) <i>cap cervical</i> | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| h) esponja | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| i) ducha vaginal | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| j) ritmo, calendário, ou método natural | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| k) retirada/coito interrompido | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| l) Norplant | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |
| m) Depo-Provera | ☐ Regularmente | ☐ As vezes | ☐ Nunca |

HISTÓRIA REPRODUTIVA

Nesta seção do questionário gostaríamos de saber sobre a sua saúde reprodutiva, inclusive todas as suas gestações, abortos espontâneos e abortos provocados

25. Com que idade você teve o seu primeiro período menstrual? _____ anos

26. Quando foi o seu período menstrual mais recente? _____ / _____ / _____
(Tente responder mesmo se já não menstrua mais) dia mês ano (data aproximada)

27. Pelo que você sabe, você está grávida?
☐ Sim ☐ Não ☐ Não sei

28. Alguma vez esteve grávida antes?
☐ Sim ☐ Não

→ **Se Não**, ir para a pergunta 29

→ **Se Sim**, quantas vezes? _____ vezes

↓

Quantos nasceram vivos? _____ nasceram vivos

OUTRAS HISTÓRIAS GINECOLÓGICAS

As próximas perguntas são sobre a frequência de exames de Papanicolaou realizados e possíveis problemas médicos, inclusive doenças transmitidas sexualmente. Compreendemos que este é um assunto delicado mas, insistimos, é muito importante para a nossa pesquisa. Apreciamos a sua honestidade e gostaríamos de recordar-lhe que todas as informações que você nos fornecer serão mantidas em total confidencialidade.

29. Em toda a sua vida, quantos exames de Papanicolaou você realizou?

Escolha uma das categorias abaixo:

- | | |
|--|---|
| ☐ este é meu primeiro teste de Papanicolaou | ☐ 6-10 vezes |
| ☐ 2-3 vezes | ☐ mais de 10 vezes |
| ☐ 4-5 vezes | |

Se este for o seu primeiro exame de Papanicolaou, vá para a pergunta no. 31

30. Quando foi o último exame de Papanicolaou que você realizou? ____ / ____
Mês Ano

31. Alguma vez um médico lhe informou que você tinha alguma das seguintes doenças?

Marque todas as que corresponderem, se estiver em dúvida marque a coluna "não sei".

- | | | | |
|---|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| a) Infecções vaginais por Candida: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| b) Infecções vaginais com Tricomonas: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| c) verrugas venéreas, condilomas ou infecção pelo papilomavírus | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| d) Clamídia: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| e) Herpes Genital: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| f) Sífilis: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| g) Gonorréia: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| h) Úlceras ou feridas genitais: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |
| i) Vaginose bacteriana: | ☐ Sim | ☐ Não | ☐ Não sei |

32. Pensando em toda a sua vida sexual ativa, alguma vez você apresentou outros problemas genitais como, por exemplo, corrimento vaginal anormal, coceira excessiva ou irritação?

- ☐ Nunca
☐ Menos de uma vez por ano
☐ Mais de uma vez por ano

33. Agora, somente no último ano, você apresentou outros problemas genitais como, por exemplo, corrimento vaginal anormal, coceira excessiva ou irritação?

- ☐ Não
☐ **Sim**, quantos episódios? _____

34. Algumas vezes os médicos receitam hormônios femininos para suas pacientes por motivos outros que a anticoncepção tais como: aliviar a acne, regular ou eliminar períodos dolorosos, sintomas da menopausa, reduzir o desconforto durante o coito devido à secura vaginal, prevenir abortos espontâneos, entre outros.

Faça um esforço de memória e responda: alguma vez o seu médico lhe receitou hormônios femininos?

☐ Sim

☐ Não

└─▶ **Se Sim**, em que mês e ano você começou a toma-los e em que mês e ano você os tomou pela última vez?

Início: ____ / ____
 mês ano

Final: ____ / ____
 mês ano

35. Entre as duas datas acima, durante quanto tempo (número de meses) você tomou o hormônio feminino de forma contínua, no total?

_____ meses

36. O hormônio feminino que você tomou foi sob a forma de (marcar todas as que correspondam):

☐ pílulas

☐ injeções

☐ cremes ou supositórios

Este é o final do questionário. Gostaríamos que você tomasse alguns segundos para revisar as suas respostas em todas as seções do questionário.

AGRADECEMOS MUITO POR SUA COLABORAÇÃO

9.2. Anexo 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do Estudo: Estudo epidemiológico prospectivo, multicêntrico para avaliar a prevalência das infecções por Papilomavírus humano (HPV) em mulheres adolescentes e adultas na América do Norte e no Brasil

Este documento deverá ser apresentado em sua totalidade ao indivíduo/paciente; nenhuma página ou seção deverá ser omitida. O conteúdo do documento deverá ser explicado verbalmente à participante.

Introdução

Este documento lhe dará [e a seus pais]* as informações necessárias para ajudá-la a decidir se você deseja participar ou não deste estudo. Ele permitirá uma compreensão completa, mas simples, acerca das razões científicas deste estudo, bem como sobre seus direitos e responsabilidades no caso de decidir participar do mesmo.

Objetivo do Estudo

O câncer do colo do útero (a parte do útero que avança sobre o espaço da vagina) é a terceira doença maligna mais freqüente entre as mulheres do mundo inteiro. São comunicados cerca de 21.000 novos casos deste tipo de câncer a cada ano no Brasil e cerca de 15.000 na América do Norte. Não existem vacinas disponíveis para a prevenção ou tratamento do câncer de colo do útero.

Muitos estudos científicos demonstraram uma forte correlação entre as infecções genitais causadas por determinados grupos de vírus e o desenvolvimento de câncer de colo do útero anos mais tarde. Esses vírus, do grupo do Papilomavírus humano (HPV), são adquiridos geralmente durante as relações sexuais. Alguns desses vírus podem causar câncer do colo do útero. Na realidade o HPV é detectado em praticamente todos os casos de câncer de colo do útero. Uma vacina que possa prevenir as infecções com os HPV de alto risco também poderia proteger contra o aparecimento posterior do câncer de colo do útero, embora ainda não esteja certo.

Os tipos mais comuns de HPV encontrados nos cânceres de colo do útero são conhecidos como HPV-16 e HPV-18. A SmithKline Beecham Biologicals, Rixensart, Bélgica e a MedImmune Inc, Gaithersburg, Maryland, EUA, estão trabalhando juntas para desenvolver vacinas que protejam contra a infecção com estes tipos de HPV (HPV-16 e HPV-18) ou que impeçam que esses vírus contribuam para o desenvolvimento de câncer de colo do útero numa etapa posterior da vida. A vacina experimental será testada na América do Norte e no Brasil.

Para poder planejar um estudo sobre quão bem funciona a vacina, primeiro precisamos obter informação precisa a respeito da freqüência com que ocorrem infecções com HPV-16, HPV-18 e outros tipos similares de HPV em mulheres. Este estudo reunirá este tipo de informação através do preenchimento de um questionário sobre a saúde das participantes, coleta de amostra de sangue e exame de colo do útero a procura de uma eventual infecção com HPV.

Projeto do estudo

Este estudo será realizado na América do Norte e no Brasil, com 1500 participantes em cada região. Você fará uma visita ao local do estudo. Durante a visita você responderá um questionário, será submetida a um exame médico geral que inclui um exame pélvico realizado pelo médico responsável pelo estudo e será colhida uma amostra do seu sangue.

Aprovação

O protocolo deste estudo foi revisto e aprovado por um comitê de ética independente/conselho de revisão institucional (***nome do comitê***)

Participação no Estudo

Se você decidir participar neste estudo, o primeiro passo será uma entrevista privada com um profissional da saúde que lhe explicará [e para seu pai/mãe/responsável] o estudo detalhadamente. Você deverá [você e seu pai/mãe/responsável deverão] antes consentir com a sua participação no estudo.

Pediremos que você responda um questionário contendo perguntas sobre dados pessoais tais como: escolaridade, saúde reprodutiva, história sexual e práticas sexuais.

Pediremos que você preencha o questionário sozinha. No entanto se você necessitar orientação de um profissional da saúde [ou do seu pai/mãe/responsável], ela lhe será dada. Uma cópia desse questionário está anexada a esta folha de informação. **Suas respostas não serão reveladas a ninguém [nem mesmo a seus pais]**

Também durante a visita ao local do estudo serão realizados os seguintes procedimentos:

- Uma entrevista médica e um exame físico limitado que o médico realizará para verificar se você se encontra saudável
- Um exame pélvico interno no qual:
 - O médico verificará se seu colo do útero apresenta alguma anormalidade.
 - Uma escovinha plástica será utilizada para retirar algumas células do seu colo do útero para um exame de citologia cervical (Papanicolaou) e um exame de DNA de HPV (se você não tiver nenhuma experiência a respeito desse exame informe o médico para que ele lhe explique).
- Será colhida uma amostra de sangue equivalente a duas colheres de chá (10 mililitros) de uma veia do seu braço, para verificar se você alguma vez já teve contato com alguns tipos de Papilomavírus humano.
- Será realizado um exame de urina para verificar se você está grávida.

Se você já começou a ter relações sexuais ou têm a intenção de começar, é imprescindível que você utilize um método de contracepção aceitável para participar do estudo. Você tem o direito de recusar participar do estudo caso não deseje utilizar um método de anticoncepção. Se você teve relações sexuais com mais de 4 parceiros durante sua vida sexual você não poderá participar do estudo.

Critérios de exclusão

Os seguintes critérios serão verificados por ocasião da inclusão no estudo. Se algum deles estiver presente você não será incluída no estudo:

- Se você estiver tomando algum remédio que o médico determina estar afetando seu sistema imunitário.
- Se você estiver usando ou for usar durante o período do estudo algum remédio experimental que ainda não está autorizado para o uso público.
- Se você tiver um corrimento vaginal anormal (depois de haver recebido tratamento para eliminar o corrimento você poderá participar do estudo).
- Se você estiver fazendo ou for fazer tratamento contra verrugas genitais.
- Se você tiver uma história de exame de Papanicolaou anormal de um determinado tipo.
- Se você tiver sido tratada de uma doença do colo de útero.
- Se você tiver uma suspeita ou confirmação de uma doença que possa afetar o seu sistema imunológico, inclusive infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV/AIDS).
- Se você tiver uma história familiar de doença imunológica congênita ou hereditária.
- Se você apresentar algum defeito congênito importante ou uma doença crônica grave.
- Se você tiver uma história de qualquer doença que afete o seu sistema neurológico.
- Se você tiver qualquer doença do coração, pulmão, fígado ou rim determinada pelo médico.
- Se você Se você tiver uma história de consumo crônico de álcool e/ou abuso de outras drogas.estiver com febre.
- Se você estiver grávida ou amamentando.

Baseado no julgamento do médico você saberá se pode fazer parte do estudo.

A amostra colhida durante o exame pélvico, será testada e analisada por técnicos em um laboratório autorizado. O médico lhe informará o resultado da citologia dentro das duas semanas após ter recebido o resultado. Parte desta amostra para citologia cervical será arquivada e poderá ser utilizada para avaliar ou validar uma metodologia alternativa de PCR para o HPV.

Se o resultado do exame citológico indicar alguma anormalidade, o médico lhe explicará a importância de tal resultado e você será encaminhada para um ginecologista para acompanhamento.

É importante notar que você não deverá ter relações sexuais nas 24 horas prévias ao exame pélvico e ao exame de citologia cervical (Papanicolaou). Se você estiver menstruada ou usando algum tipo de medicamento intravaginal no período planejado para a visita, solicitaremos que remarque o exame pélvico e o teste de Papanicolaou para 1 a 3 dias depois.

Depois que este estudo houver terminado, planejamos iniciar um estudo para testar a vacina experimental contra infecções pelo HPV. Planejamos usar o local onde você se inscreveu como um dos centros de estudo. Se você se inscreveu neste estudo, você será convidada a saber sobre suas possibilidades de participar do estudo da vacina experimental.

Riscos associados com o estudo

Este estudo não implica na aplicação de nenhuma vacina ou remédio. A colheita de sangue pode produzir um desconforto passageiro e um pequeno hematoma. A amostra de sangue será colhida por uma enfermeira com prática. A quantidade de sangue a ser retirada não deverá produzir sintomas ou anemia.

Os procedimentos usados para a colheita de amostras durante o exame pélvico são os procedimentos padrão normalmente realizados em mulheres [mulheres adolescentes ou adultas].

Você será informada de qualquer nova descoberta que houver durante o período desta pesquisa.

Participação voluntária

A sua participação é voluntária. Negar-se a tomar parte ou continuar o estudo não implica nenhuma penalidade ou perda de benefícios ou de atenção que lhe sejam devidos por seu prestador de saúde. Você tem direito a receber uma cópia assinada deste formulário

Medidas alternativas de prevenção

Atualmente não existem vacinas licenciadas para a prevenção de infecção e doença causada pelo HPV. A abstinência sexual e o uso de métodos anticoncepcionais por barreira, como é o caso dos preservativos, são, por enquanto, os únicos meios que podem reduzir o risco de transmissão do HPV.

Confidencialidade e acesso aos dados

Esta seção garante que você tem os benefícios de proteção e os direitos afiançados pela Diretiva de Proteção de Dados da União Européia e outras leis nacionais de proteção dos dados pessoais.

Você compreende e está de acordo com o seguinte:

- I. Seus dados pessoais, inclusive os dados relacionados com a sua saúde, serão registrados e processados com o propósito de avaliar o resultado do estudo. O processamento dos dados será realizado pela SmithKline Beecham Biologicals ("SB Bio") ou uma terceira parte poderá ser contratada sob regras de absoluta confidencialidade. Os seus dados também poderão ser processados para o registro do produto e para a notificação de organizações que controlam a segurança e a efetividade dos remédios. Os seus dados também poderão ser processados com o propósito de aumentar o conhecimento científico;
- II. Sua participação no estudo será tratada com absoluto sigilo. Seu nome não será mencionado nos informes do estudo e a sua identidade não será revelada a nenhuma pessoa exceto no caso em que isso for necessário para confirmar que os dados estão corretos ou completos, ou para fornecer tal informação a agências de controle responsáveis pelo registro e segurança dos remédios;
- III. Seus dados médicos ou amostras do estudo (ex. sangue) poderão ser enviados e processados por qualquer filial da SB Bio em qualquer país dentro ou fora da Comunidade Européia, sempre respeitando as exigências da Diretiva de Proteção de Dados da União Européia (95/46/EC) e/ou a lei equivalente aplicável;
- IV. Você pode ter acesso a seus dados pessoais e exigir que sejam feitas as correções necessárias. Se você desejar fazê-lo, deverá solicitá-lo ao médico responsável pela condução do estudo. Você concorda em adiar o acesso a seus dados médicos até o estudo estar

terminado, inclusive a análise e o relato dos dados, caso seja considerado adequado pelo médico responsável pela condução do estudo para salvaguardar o objetivo e a condução do estudo;

- V. Seus registros médicos podem ser acessados por representantes da SB Bio ou pelos órgãos reguladores de medicamentos.

Direito a fazer perguntas e/ou retirar-se do estudo

Você pode fazer perguntas sobre o estudo. Apesar de apreciarmos o seu apoio contínuo, você tem direito de retirar-se do estudo quando quiser e não estará obrigada a outras colheitas de amostras de sangue ou a ser submetida a exame do colo de útero com colheita de amostras. Se você tiver alguma pergunta, por favor entre em contato com: **(nome do investigador)**

Benefícios do estudo

Você fará um exame de citologia cervical (Papanicolaou) e um exame para detectar infecção pelo HPV. Você também receberá orientação a respeito de quaisquer anormalidades que possam vir a ser reveladas pelos resultados dos exames e, se for preciso, você receberá as informações de contato necessárias para tratamento adicional.

Ressarcimento

Para reembolso de despesas com alimentação e transporte, cada participante [e também seu responsável] receberá o equivalente a R\$ 15,00 (quinze reais).

Se você adoecer ou sofrer lesão devido ao fato de tomar parte neste estudo clínico, receberá tratamento médico de acordo com a boa prática médica e os custos de tal tratamento serão pagos pela SmithKline Beechams Biologicals. Todas as participantes do estudo estão cobertas pela apólice de seguro global contratada pela SmithKline Beechams Biologicals. Se você tiver alguma pergunta sobre a disponibilidade de tratamento médico ou se você achar que está com uma doença ou lesão relacionada com a pesquisa, por favor entre em contato com: **(nome do investigador)**

Consentimento Livre e Esclarecido (Adultos)

Os objetivos e procedimentos deste estudo epidemiológico foram explicados de forma clara e eu li e compreendi a informação fornecida. Concordo em fazer parte do estudo. Entendo que tenho o direito a não tomar parte no estudo e que posso retirar-me dele quando quiser e por qualquer motivo, sem que por isso haja consequências na atenção a minha saúde, presente ou futura, e o atendimento que recebo de meu prestador de saúde. Fui informada sobre meu direito de acessar e pedir que meus dados pessoais sejam corrigidos. Informo que recebi uma cópia deste formulário para futura referência.

Eu, (Nome e sobrenome da pessoa) _____,
por este meio e de livre e espontânea vontade, dou o meu consentimento para participar deste estudo epidemiológico

Assinatura da participante: _____

Endereço da participante: _____

Telefone da participante: _____

Data: _____ Hora: _____

Declaração do Médico, Enfermeira ou Assistente de Projeto que conduziu a discussão sobre o consentimento informado

Expliquei cuidadosamente a natureza, as exigências e os riscos e benefícios previsíveis do estudo, à pessoa acima mencionada e testemunhei o preenchimento do formulário de consentimento escrito

Nome: _____

Assinatura: _____

Designação: _____

Data: _____ Hora: _____

Consentimento Livre e Esclarecido (Adolescente)

O estudo epidemiológico foi-me explicado de forma clara e eu li e compreendi a informação fornecida. Eu concordo em ser incluída no estudo. Entendo que tenho o direito a não tomar parte no estudo e que posso retirar-me dele quando quiser e por qualquer motivo, sem que por isso haja consequências para a atenção a minha saúde presente ou futura e para o atendimento que recebo de meu prestador de saúde. Fui informada sobre meu direito de acessar e pedir que meus dados pessoais sejam corrigidos. Informo que recebi uma cópia deste formulário para futura referência.

Eu, (Nome e sobrenome da pessoa) _____, por este meio e de livre e espontânea vontade, dou o meu consentimento para participar deste estudo epidemiológico.

Nome do Participante: _____

Assinatura da participante (quando for aplicável): _____

Consentimento dos responsáveis

O estudo epidemiológico foi-me explicado de forma clara e eu li e compreendi a informação fornecida. Concordo que a minha filha/tutelada faça parte do estudo. Entendo que minha filha tem o direito de não tomar parte no estudo e de retirar-se dele quando quiser e por qualquer motivo, sem que por isso haja consequências para a atenção a sua saúde, presente ou futura, e para o atendimento que ela recebe de seu prestador de saúde. Fui informado sobre seu direito de acessar e pedir que seus dados pessoais sejam corrigidos. Informo que recebi uma cópia deste formulário para futura referência.

Eu, (nome e sobrenome do pai/mãe/responsável) _____, por este meio e de livre e espontânea vontade, dou o meu consentimento para que minha filha, (nome da filha/tutelada) _____ participe deste estudo epidemiológico.

Nome do pai/mãe/responsável: _____

Assinatura do pai/mãe/responsável: _____

Grau de relação/parentesco com a participante: _____

Endereço da participante: _____

Telefone da participante: _____

Data: _____ Hora: _____

Declaração do Médico Enfermeira ou Assistente de Projeto que conduziu a discussão sobre o consentimento informado

Expliquei cuidadosamente a natureza, as exigências e os riscos e benefícios previsíveis do estudo à pessoa acima mencionada e testemunhei o preenchimento do formulário de consentimento escrito

Nome: _____

Assinatura: _____

Designação: _____

Data: _____ Hora: _____

* texto entre colchetes incluído no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para adolescentes.

10. Apêndice

10.1. Apêndice 1: Prevalência da infecção por HPV observada em estudos conduzidos em diferentes grupos populacionais

Referência	Método	Nº ¹	Características da amostra ²	Incidência do câncer cervical ³	Idade (anos)	Prevalência da Infecção por HPV (%)		
						geral	alto risco	baixo risco
(ROUSSEAU <i>et al.</i> , 2001)	PCR (MY09/11)	12	L:(São Paulo - Brasil) H	31,2	< 25	20,6		
(MUNOZ <i>et al.</i> , 1996)	PCR (GP5/6)		L:(São Paulo – Brasil) H	31,2	≤ 29 30 a 39	25,0 26,3		
(NONNENMACHER <i>et al.</i> , 2002)	PCR (MY09/11) e/ou CH II		L:(Porto Alegre – Brasil)	31,2	≤ 24	27,9		
(LAZCANO-PONCE <i>et al.</i> , 2001)	PCR (MY09/11)	17	L:(Morelos - México) PB CN	40,4	< 25	16,7	16,3	0,4
(SHIN <i>et al.</i> , 2003)	PCR (GP5+/6+)	14	L:(Busan-Coréia do Sul) PB CQ	20,8	< 25	28,6		

Apêndice 1 (continuação)

Referência	Método	Nº ¹	Características da amostra ²	Incidência do câncer cervical ³	Idade (anos)	Prevalência da Infecção por HPV (%)		
						geral	alto risco	baixo risco
(SUKVIRACH <i>et al.</i> , 2003)	PCR (GP5+/6+)	14	L:(Lampang e Songkla – Tailândia) PB CQ	23,1/15,8	< 25	10,6	5,6	5,1
(PHAM <i>et al.</i> , 2003)	PCR (GP5+/6+)		L:(Ho Chi Min – Vietnã)	26	< 25	22,3		
(PHAM <i>et al.</i> , 2003)	PCR (GP5+/6+)		L:(Hanói – Vietnã)	6,8	< 25	± 1%		
(DE SANJOSE <i>et al.</i> , 2003)	PCR (GP5+/6+)		L:(Barcelona – Espanha) PB CQ	7,1	< 25	± 7%		
(BROWN <i>et al.</i> , 2002)	PCR (PGMY)	18	L:(EUA) Clínica de DST	7,8	28,1 (média)	49,2	42,4	19,8
(PEYTON <i>et al.</i> , 2001)	PCR (MY 09/11)	18	L:(EUA) H CQ	7,8	18 a 22 23 a 27	50,5 44,8	39,1 31,6	21,6 18,0
(KOTLOFF <i>et al.</i> , 1998)	PCR (MY09/11)		L:(EUA) H CQ	7,8	22,5 (média)	35		
(BAUER <i>et al.</i> , 1991)	PCR (MY09/11)		L:(EUA) H CQ	7,8	22,9 (média)	33		

Apêndice 1 (continuação)

Referência	Método	Nº ¹	Características da amostra ²	Incidência do câncer cervical ³	Idade (anos)	Prevalência da Infecção por HPV (%)		
						geral	alto risco	baixo risco
(BURK <i>et al.</i> , 1996)	Southern blot		L:(EUA) H CQ	7,8	< 25	33,6		
(JACOBS <i>et al.</i> , 2000)	PCR (GP5+/6+)	19	L:(Amsterdam-Holanda) CN	7,2	20 a 24	± 17	99±12	
(MELKERT <i>et al.</i> , 1993)	PCR (GP5/6)		L:(Amsterdam-Holanda) H CN	7,2	20 a 24	20,8		
(SELLORS <i>et al.</i> , 2000)	PCR (L1 primer)	13	L:(Ontario –Canadá) H CQ	8,2	15 a 19 20 a 24	20,0 23,1	13,8 19,4	

¹ número de tipos de HPV classificados como de alto risco

² L:() = cidade ou país de recrutamento ; H = amostra recrutada em unidades de saúde ; PB = estudo baseado na população ; CN = inclui apenas mulheres com citologia normal; CQ = inclui mulheres com citologia normal ou anormal

³ taxa de incidência do câncer cervical (por 100.000) para o país de acordo com Globocan 2000 ou quando em negrito, taxa informada pelo estudo