

VILMA GUIMARÃES DE MENDONÇA¹

MARIA JOSÉ BEZERRA GUIMARÃES²

JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO³

CAROLINA GUIMARÃES DE MENDONÇA⁴

DANYELLY BRUNESKA GONDIM MARTINS⁵

SERGIO CROVELLA⁶

LUIZ CLÁUDIO ARRAES DE ALENCAR⁷

Infecção cervical por papilomavírus humano: genotipagem viral e fatores de risco para lesão intraepitelial de alto grau e câncer de colo do útero

Human papillomavirus cervical infection: viral genotyping and risk factors for high-grade squamous intraepithelial lesion and cervix cancer

Artigo original

Palavras-chave

Infecções por papilomavírus/epidemiologia
Genótipo
Esfregaço vaginal
Neoplasias uterinas
Fatores de risco
Avanço da doença

Keywords

Papillomavirus infections/epidemiology
Genotype
Vaginal smears
Uterine neoplasms
Risk factors
Disease progression

Resumo

OBJETIVO: analisar, em mulheres com HPV em colo do útero, as características da infecção viral e os fatores de risco para lesão intraepitelial de alto grau e carcinoma cervical. **MÉTODOS:** realizou-se um estudo caso-controle com mulheres com HPV em colo do útero atendidas em serviço de Ginecologia de referência vinculado ao SUS, em Recife, Nordeste do Brasil. No grupo de casos (72 mulheres com lesão intraepitelial de alto grau ou carcinoma cervical) e de controles (176 mulheres com colpocitologia normal ou com alterações benignas), foram pesquisados seis genótipos virais (HPV 16, 18, 31, 33, 6 e 11) em material da ecto- e endocérvice com primers MY09/MY11. As variáveis independentes foram hierarquizadas em três níveis de determinação: distal (sociodemográficas), intermediário (comportamentais) e proximal (realização anterior de colpocitologia). A homogeneidade das proporções foi testada (χ^2). Obtiveram-se ORs não ajustadas e, na modelagem final, realizou-se regressão logística hierarquizada com o ajuste do efeito de cada variável sobre o desfecho pelas variáveis do mesmo nível e de níveis anteriores de causalidade. **RESULTADOS:** em 76,6% das 248 mulheres participantes do estudo, o genótipo viral da infecção cervical foi identificado. Predominaram genótipos de alto risco oncogênico (83,4% nos casos e 67,1% nos controles), principalmente HPV 16 e 31. Foram identificados como fatores de risco (a) distais: residir em zona rural (OR=2,7; IC95%: 1,1-6,2), menos de três anos de estudo (OR=3,9; IC95%: 2,0-7,5) e renda familiar inferior a dois salários mínimos (OR=3,3; IC95%: 1,0-10,5); (b) intermediário: número de gestações igual ou superior a quatro (OR=2,0; IC95%: 1,0-3,7); (c) proximal: ausência de colpocitologia anterior (OR=9,7; IC95%: 2,4-38,2). **CONCLUSÕES:** em mulheres usuárias do SUS do Nordeste do Brasil predominam os genótipos virais 16 e 31 em infecções cervicais por HPV, sendo que fatores socioeconômicos, reprodutivos e relacionados à ausência de rastreamento citológico representam risco para lesão intraepitelial de alto grau e câncer cervical.

Abstract

PURPOSE: to analyze the characteristics of viral infection and the risk factors for high-grade squamous intraepithelial lesion and cervical carcinoma in women with cervical HPV infection. **METHODS:** a case-control study was conducted on women with cervical HPV at a Gynecology reference service enrolled at the Public Health System, located in Recife, Northeastern Brazil. The groups of cases (72 women with high-grade squamous intraepithelial lesion or cervical cancer) and controls (176 women with normal Pap smear or benign alterations) were investigated for six viral genotypes (HPV 16, 18, 31, 33, 6, 11) in ecto- and endocervical material using MY09/MY11 primers. The independent variables were ranked in three levels of determination: distal (sociodemographic), intermediate (behavioral) and proximal (previous Pap smear). The homogeneity of proportions was tested (χ^2), unadjusted Odds Ratios (OR) were obtained and hierarchical logistic regression was applied to the final model, with adjustment of the effect of each variable to the outcome based on the variables in the same and previous levels of causality. **RESULTS:** the viral genotype of cervical infection was identified in 76.6% of the 248 women participating in the study. High-risk HPV genotypes (83.4% of cases and 67.1% of controls) were predominant, especially HPV 16 and 31. The distal risk factors identified were: living in a rural area (OR=2.71, 95%CI: 1.18-6.23), less than three years of study (OR=3.97, 95%CI: 2.09-7.54) and family income below two minimum wages (OR=3.30, 95%CI: 1.04-10.51); intermediate: four or more pregnancies (OR=2.00, 95%CI: 1.06-3.76);

Correspondência:

Vilma Guimarães de Mendonça
Rua dos Coelhos, 300 – Boa Vista
CEP 50070-550 – Recife (PE), Brasil
E-mail: vilmagui@hotmail.com
Não há conflito de interesse.

Recebido

28/9/10

Aceito com modificações

25/10/10

Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP – Recife (PE), Brasil; Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami e Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil.

¹ Coordenadora do Centro de Atenção à Mulher do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP – Recife (PE), Brasil.

² Pesquisadora da Unidade de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz da Universidade de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil.

³ Professor Adjunto da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil.

⁴ Acadêmica de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil.

⁵ Professora Adjunta do Departamento de Bioquímica e pesquisadora do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil.

⁶ Professor Titular do Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil; Pesquisador do Genetic Service IRCCS Burlo Garofolo, Universidade de Trieste, Itália.

⁷ Coordenador do Centro de Pesquisa Clínica do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP; Professor adjunto da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil.

and proximal: absence of a previous Pap smear (OR=9.74, 95%CI: 2.48-38.28). **CONCLUSIONS:** genotypes 16 and 31 of cervical HPV infection are predominant among women assisted by the Public Health System in Northeastern Brazil. Socioeconomic and reproductive factors, as well as the absence of cytological screening, represent risk factors for the progression of infection to high-grade squamous intraepithelial lesion and cervical cancer.

Introdução

Existem evidências epidemiológicas consistentes de que o papilomavírus humano (HPV) é causa necessária para a ocorrência do câncer cervical. A história natural e vários estudos demonstram claramente que a infecção pelo HPV precede o desenvolvimento do câncer cervical em vários anos, e confirmam que a transmissão sexual é o modo predominante de aquisição do vírus^{1,2}. Estima-se que 70% de todos os cânceres cervicais do mundo são provocados pelos HPV 16 e 18².

A maioria das infecções por HPV é transitória, e sua evolução está intimamente relacionada com a persistência do DNA viral¹. As células infectadas podem sofrer alterações citológicas de graus variados, indo da lesão intraepitelial de baixo grau (LIEBG), passando pela lesão intraepitelial de alto grau (LIEAG) até desenvolver o câncer cervical. Também existe a via que se inicia na LIEAG, culminando em câncer. Existem evidências de que a lesão intraepitelial é uma doença dinâmica, com alguns casos de regressão espontânea ou permanência no mesmo estado por um longo tempo e outros com evolução para o câncer invasor¹. No entanto, a taxa de progressão das lesões de alto grau para câncer apresenta uma grande variação, de 35 a 74% dos casos³. O câncer e a LIEAG têm um perfil semelhante à infecção pelo HPV e os mesmos fatores de risco, sugerindo que a progressão é apenas questão de tempo e oportunidade. A mais clara diferença entre os casos de LIEAG e câncer é a idade no momento do diagnóstico³.

O genótipo viral, a variante molecular e a carga viral, além de variações interpessoais do sistema imune, interferem na persistência e progressão da infecção, provocando alterações no epitélio cervical e transformação maligna⁴. Quanto à influência de outros fatores, como características sociais e do comportamento sexual, existe uma grande diversidade de estudos com a inclusão de diferentes variáveis e resultados, por vezes, discordantes. A inconsistência dos resultados decorre, em parte, das diferenças entre as populações estudadas¹. O papel da epidemiologia recente é entender quais são os fatores que influenciam a aquisição e persistência da infecção pelo HPV ou que funcionam como mediadores para a progressão das lesões⁵.

Determinados comportamentos aumentam o risco de câncer cervical, como tabagismo, consumo de álcool, uso de contraceptivo hormonal e alimentação pobre em betacarotenos e vitaminas C e E⁴. Certas condições clínicas também podem atuar como fatores de risco, tais como uso de drogas imunossupressoras e infecções sexualmente transmitidas por *Chlamydia trachomatis*, herpes simples e

HIV⁴. Quanto aos marcadores sexuais, são considerados, entre outros, a idade da primeira relação sexual, o número e as características dos parceiros sexuais e a paridade⁶.

O câncer de colo do útero ocorre principalmente entre 35 e 50 anos, quando as mulheres estão ativamente envolvidas em suas profissões ou cuidando de suas famílias⁷. O câncer cervical é a segunda causa mais comum de morte por neoplasias no sexo feminino do mundo. Nos países menos desenvolvidos, ocorrem 80% dos casos, com maiores índices na África e América Latina⁵, atingindo mulheres de baixo nível socioeconômico e escolaridade baixa⁸. No Brasil, são esperados 18.430 casos novos de câncer cervical em 2010, com incidência estimada de 18/100.000 mulheres⁹.

Nos países desenvolvidos, tem sido observada uma redução na incidência e mortalidade por câncer de colo uterino nos últimos 50 anos, devido principalmente a programas de rastreamento sistemáticos em populações de risco⁷. A citologia cervical é uma estratégia fundamental de rastreamento, mesmo com as novas perspectivas advindas das técnicas de Biologia molecular para detecção do HPV⁷. A colpocitologia a cada três ou cinco anos pode reduzir a incidência de câncer cervical em até 80%¹⁰.

A partir de 2003, alguns países passaram a utilizar a pesquisa de genótipos oncogênicos do HPV em mulheres acima de 30 anos para o rastreamento de neoplasias cervicais, em associação ao exame citológico nos casos positivos¹¹. As duas técnicas possuem especificidade semelhante, em torno de 95%, e, quando associadas, há ganhos na sensibilidade, que se aproxima de 100%¹².

No presente estudo, levou-se em consideração que o HPV é a causa necessária do câncer de colo uterino, mas, para que se torne suficiente, existe a participação de fatores adicionais. Também foi considerado que essa neoplasia é evitável por programas de rastreamento sistemático. Dessa maneira, em mulheres HPV-positivas usuárias de um serviço do SUS do Nordeste do Brasil, foram analisadas as características da infecção viral e a influência de fatores sociodemográficos, comportamentais e do rastreamento citológico na determinação de LIEAG e carcinoma cervical.

Métodos

Desenho e população de estudo

Foi realizado um estudo tipo caso-controle com mulheres usuárias de um serviço de referência para atenção integral à saúde da mulher vinculado ao Sistema Único de Saúde (SUS), localizado na cidade do Recife, Pernambuco, Nordeste do Brasil. Todas as mulheres participantes do estudo apresentavam dez anos ou mais de idade e infecção

cervical por HPV diagnosticada por reação em cadeia de polimerase (PCR) em material coletado no colo do útero. Foram excluídas as mulheres em período grávido-puerperal, com histerectomia, conização prévia, doença imunossupressora ou HIV. A definição dos casos e dos controles baseou-se em achados colpocitológicos. Os casos foram compostos por mulheres com LIEAG ou carcinoma cervical e os controles, por mulheres com colpocitologia normal ou alterações celulares benignas.

Os controles foram selecionados no Ambulatório Geral de Ginecologia do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), a partir da demanda espontânea de mulheres que procuraram atendimento no serviço. A seleção dos casos ocorreu no ambulatório especializado em patologia do trato genital inferior do IMIP, cuja demanda é encaminhada do ambulatório geral de Ginecologia ou de outros serviços do estado de Pernambuco e, em menor frequência, de Estados vizinhos. Para a seleção das mulheres, durante o período de 12 meses, uma equipe formada por uma ginecologista, uma acadêmica de Enfermagem e duas acadêmicas de Medicina realizou atendimento ginecológico em quatro turnos semanais, de acordo com a rotina de marcação das consultas do serviço.

Inicialmente, foram selecionadas 610 mulheres dentro dos critérios de elegibilidade do estudo. Após serem informadas das características e da importância do trabalho, todas concordaram em participar e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do IMIP. Durante o primeiro atendimento ginecológico, as mulheres foram submetidas à anamnese, exame físico e coleta de material para realização do teste de DNA-HPV (PCR), sorologia para HIV (teste ELISA) e colpocitologia oncótica.

Das 610 mulheres elegíveis, 331 (54,3%) apresentaram PCR positiva para HPV em material coletado no colo uterino, das quais 12 foram excluídas, sendo 2 por apresentarem sorologia positiva para HIV e 10 por não terem realizado colpocitologia oncótica devido a sangramento no colo do útero. Entre as 319 mulheres que realizaram colpocitologia, cujos achados foram descritos segundo a classificação de Bethesda de 2001¹³, 248 participaram do estudo por apresentarem achados colpocitológicos compatíveis com o grupo de casos (50 com LIEAG e 22 com carcinoma de células escamosas) ou de controles (176 com citologia normal ou alterações benignas). Foram garantidos acompanhamento e tratamento apropriado, quando necessário, a todas as participantes do estudo.

■ Variáveis e coleta dos dados

As variáveis foram selecionadas de acordo com referenciais teóricos sobre a determinação de lesões citológicas cervicais, considerando-se a infecção pelo HPV uma causa necessária¹ e a participação de diversos fatores na progressão

das atipias citológicas para LIEAG e carcinoma⁵. Tem-se recomendado considerar a temporalidade e o sinergismo dos diversos fatores que fazem parte da cadeia de causalidade de um desfecho¹⁴. Nesse sentido, os chamados modelos hierarquizados de determinação baseiam-se na ordenação temporal, lógica ou conceitual dos fatores, o que permite evidenciar elos importantes de causalidade sem mascarar ou subestimar variáveis intervenientes ou mediadoras¹⁴.

Em relação ao HPV, as variáveis contemplaram o genótipo viral (HPV 6, 11, 16, 18, 31 e 33), o risco oncogênico (alto e baixo) e o tipo de infecção (única ou múltipla). As variáveis independentes foram hierarquizadas em três níveis de determinação: o primeiro, considerado como distal, incluiu variáveis sociodemográficas; o segundo (intermediário), variáveis comportamentais (sexuais, reprodutivas e hábito de fumar); e o terceiro (proximal), uma variável referente ao rastreamento do câncer cervical (colpocitologia). Para coleta dos dados, utilizou-se um questionário padronizado cuja primeira parte foi aplicada às 610 mulheres elegíveis por ocasião da primeira consulta ginecológica. Após o resultado do teste DNA HPV (PCR) e da colpocitologia, com a seleção dos casos e controles, os exames foram transcritos para a segunda parte do instrumento de coleta de dados.

■ Procedimentos laboratoriais

A coleta de material da ecto e endocérvice para a citologia oncótica e genotipagem viral foi realizada por meio de raspagem com cytobrush. Para citologia oncótica, o material foi fixado em lâmina com etanol a 95%, sendo, em seguida, corado pelo método de Papanicolaou. Para a genotipagem viral, o material foi armazenado em 10mM Tris-HCl e, para a extração do DNA, utilizou-se o Wizard Genomic DNA Purification kit (Promega) para pesquisa de seis genótipos, sendo dois com baixo risco oncogênico (HPV 6 e 11) e quatro com alto risco (HPV 16, 18, 31 e 33). Inicialmente, as amostras foram tratadas com RNase e levadas em banho-maria a 50°C para desnaturação da proteína, sendo mantidas à temperatura de 20°C. Para a reação de purificação, foram utilizados os primers genéricos MY09/MY11 contendo 1x de tampão de PCR, 100 µM de cada dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), 1,5mM de MgCl₂, 1 pmol/µl de cada primer específico, 0,2U de Taq DNA polimerase e 200 ng de DNA. Para essa reação, utilizou-se GoTaq Hot Start Polymerase (Promega).

Foi realizada a separação do produto da amplificação mediante eletroforese em gel de agarose 1,2% que, em seguida, foi corado com Blue Green Loading Dye (LGC) e visualizado em luz ultravioleta. O tamanho dos amplicons obtidos da PCR por meio do conjunto MY09/11 foi de aproximadamente 450pb. Para a confirmação da qualidade do DNA extraído, utilizaram-se primers de globina como controle interno¹⁵.

Análise dos dados

As variáveis foram descritas para casos e controles, testando-se a hipótese de homogeneidade de proporções, com nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$), por meio dos testes ² de Pearson ou, quando necessário, exato de Fisher. A partir de então, o valor descritivo de $p<0,20$ na etapa analítica anterior foi considerado para a inclusão das variáveis na etapa seguinte. O limiar de $p<0,20$ foi adotado porque fatores de confusão podem afetar as estimativas, mesmo quando sua importância não atinge o nível de 0,05.

Como medida de risco das variáveis de cada nível de determinação, as razões de produtos cruzados (Odds Ratio – OR) não ajustadas e seus respectivos intervalos de confiança (IC) de 95% foram obtidos. Na modelagem final, utilizou-se o método estatístico de regressão logística binomial por procedimento backward, com a escolha das variáveis realizada pelo teste de máxima verossimilhança. Nessa etapa, o efeito de cada variável sobre o desfecho foi ajustado pelas variáveis do mesmo nível e de níveis de causalidade anterior, de acordo com o modelo hierarquizado

adotado. Assim, as variáveis do primeiro nível (distal) foram ajustadas entre si. No segundo nível (intermediário), o ajuste foi realizado com as variáveis do próprio nível e com as do primeiro nível, com $p<0,20$. Esse procedimento foi repetido para o terceiro nível, no qual o efeito da variável “história anterior de colpocitologia” foi ajustado pelas variáveis dos níveis distal e intermediário. No modelo final, as OR com $p<0,05$ foram consideradas significantes.

Resultados

Do total de 248 mulheres com presença de HPV em colo do útero (Tabela 1), 76,6% apresentavam infecção com os genótipos virais pesquisados. No Grupo Caso, formado por mulheres com LIEAG ou carcinoma cervical, a proporção de genótipos identificados (87,5%) com os primers empregados foi superior à observada no Grupo Controle (72,2%), constituído por mulheres com colpocitologia normal ou alterações benignas. Quanto à presença de um ou mais genótipos, predominaram infecções únicas no Grupo Caso (48,6%). Nos controles, a proporção de infecções únicas e múltiplas foi

Tabela 1 - Distribuição dos genótipos do HPV em infecções no colo do útero em casos e controles

Genótipos do HPV	Casos		Controles		Total		Valor de p
	n (72)	%	n (76)	%	n (248)	%	
Tipo de Infecção							
Única	35	48,6	62	35,2	97	39,1	0,03*
Múltipla	28	38,9	65	36,9	93	37,5	
Indeterminado	9	12,5	49	27,8	58	23,4	
Risco oncogênico							
Baixo	3	4,2	9	5,1	12	4,8	0,023
Alto	49	68,1	89	50,6	138	55,6	
Alto + baixo	11	15,3	29	16,5	40	16,1	
Indeterminado	9	12,5	49	27,8	58	23,4	
HPV de alto risco oncogênico							
HPV 16							
Sim	52	72,2	103	58,5	155	62,5	0,04
Não	20	27,8	73	41,5	93	37,5	
HPV 31							
Sim	17	23,6	48	27,3	65	26,2	0,5
Não	55	76,4	128	72,7	183	73,8	
HPV 33							
Sim	10	13,9	6	3,4	16	6,5	0,002
Não	62	86,1	170	96,6	232	93,5	
HPV 18							
Sim	0	0,0	2	1,1	2	0,8	**
Não	72	100,0	174	98,9	246	99,2	
HPV de baixo risco oncogênico							
HPV 6							
Sim	13	18,1	37	21,0	50	20,2	0,5
Não	59	81,9	139	79,0	198	79,8	
HPV 11							
Sim	12	16,7	34	19,3	46	18,5	0,6
Não	60	83,3	142	80,7	202	81,5	

Casos: mulheres com LIEAG ou carcinoma cervical; Controles: mulheres com colpocitologia normal ou com alterações benignas. Valor de p: teste do χ^2 ; *Teste exato de Fisher; **Teste não realizado.

semelhante. Observaram-se diferenças significativas no tipo de infecção ($p=0,037$) e no risco oncogênico dos genótipos do HPV ($p=0,023$) entre casos e controles, calculadas por meio dos testes do χ^2 ou exato de Fisher.

Houve predomínio de infecções por genótipos de alto risco oncogênico nos dois grupos, porém com frequências diferentes. Nos casos, em 83,4% das infecções identificaram-se genótipos de alto risco em associação ou não a genótipos de baixo risco, e nos controles, em 67,1%. Ressalta-se que apenas 4,8% das mulheres estudadas apresentavam exclusivamente genótipos de baixo risco. Dos HPV de alto risco oncogênico, o genótipo viral 16 foi o mais frequente (62,5% das mulheres), com

diferenças significativas ($p=0,043$) entre casos (72,2%) e controles (58,5%).

Para o segundo vírus de alto risco mais frequente, o HPV 31, a proporção nos controles (27,3%) foi superior à observada nos casos (23,6%), porém a diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,552$). Quanto ao HPV 33, terceiro genótipo de alto risco mais frequente, a proporção nos casos (13,9%) foi bem superior à encontrada nos controles (3,4%), com $p=0,002$. Identificou-se o HPV 18 em apenas duas mulheres (0,8%), que apresentavam colpocitologia normal ou com alterações benignas. Em relação aos genótipos de baixo risco oncogênico, o HPV 6 (20,2% do total de

Tabela 2 - Distribuição das variáveis dos três níveis de determinação em mulheres com infecção por HPV no colo do útero segundo grupos de casos e controles

Variáveis	Casos		Controles		Total		Valor de p
	n (72)	%	n (176)	%	n (248)	%	
Nível distal							
Faixa etária							0,9
<35 anos	70	39,8	29	40,3	99	39,9	
35 e mais	106	60,2	43	59,7	149	60,1	
Área de residência							<0,001*
Urbana	60	83,3	171	97,2	231	93,1	
Rural	12	16,7	5	2,8	17	6,9	
Escolaridade							<0,001
0 a 3 anos	37	51,4	29	16,5	66	26,6	
4 ou mais	35	48,6	147	83,5	182	73,4	
Renda familiar							<0,001
< 2 salários mínimos	64	88,9	117	66,5	181	73,0	
≥ 2 salários mínimos	8	11,1	59	33,5	67	27,0	
Raça/cor							0,4
Negra	50	69,4	131	74,4	181	73,0	
Não negra	22	30,6	45	25,6	67	27,0	
Nível intermediário							
Idade da 1ª relação sexual							0,01
< 20anos	62	86,1	125	71,0	187	75,4	
≥ 20anos	10	13,9	51	29,0	61	24,6	
Nº de parceiros sexuais							0,2
1 a 3	47	65,3	128	72,7	175	70,6	
4 ou mais	25	34,7	48	27,3	73	29,4	
Situação conjugal							0,1
Com companheiro	45	62,5	126	71,6	171	69,0	
Sem companheiro	27	37,5	50	28,4	77	31,0	
Número de gestações							<0,001
0 a 3	34	47,2	131	74,4	165	66,5	
4 ou mais	38	52,8	45	25,6	83	33,5	
História de contraceptivo hormonal							0,07
Sim	44	61,1	128	72,7	172	69,4	
Não	28	38,9	48	27,3	76	30,6	
História de tabagismo							0,003
Sim	36	50,0	53	30,1	89	35,9	
Não	36	50,0	123	69,9	159	64,1	
Nível proximal							
Colpocitologia anterior							<0,001*
Sim	59	81,9	173	98,3	232	93,5	
Não	13	18,1	3	1,7	16	6,5	

Casos: mulheres com IIEAG ou carcinoma cervical; Controles: mulheres com colpocitologia normal ou com alterações benignas. Nível distal: variáveis sociodemográficas; nível intermediário: variáveis comportamentais (sexuais, reprodutivas e hábitos); nível proximal: variável referente ao rastreamento de câncer cervical. Valor de p: teste do χ^2 *Teste exato de Fisher.

mulheres) foi mais frequente que o HPV 11 (18,5%), porém a distribuição desses genótipos não apresentou diferenças significativas entre casos e controles ($p=0,5$ e $p=0,6$, respectivamente).

A maioria das variáveis estudadas associou-se aos achados da colpocitologia oncótica (Tabela 2). No modelo de determinação adotado, apenas raça/cor e faixa etária (do nível distal) e número de parceiros sexuais, situação conjugal e história de contracepção hormonal (do nível intermediário) não apresentaram diferenças entre casos e controles ($p \geq 0,05$). Para o total de mulheres estudadas, a média de idade foi de 39,5 anos (DP=12,2 anos, amplitude de 19 a 78 anos). Em relação à área de residência, a frequência de mulheres da zona rural (16,7%) entre os casos foi superior à observada entre os controles (2,8%). Quanto à escolaridade, entre os casos, a frequência de mulheres com menos de três anos de estudo foi de 51,4%, ao passo que nos controles foi de 16,5%. Em relação à renda familiar inferior a dois salários mínimos, essa condição foi observada em 88,9% das mulheres com LIEAG/carcinoma, e em 66,5% daquelas que apresentavam colpocitologia normal/alterações benignas.

Quanto às variáveis comportamentais do nível intermediário de determinação (Tabela 2), a frequência de mulheres com primeira relação sexual antes dos 20 anos foi maior nas portadoras de LIEAG/carcinoma (86,1%) do que nas que apresentavam colpocitologia normal/alterações benignas (71,0%). Salienta-se a proporção mais elevada de mulheres com passado de quatro ou mais gestações entre os casos (52,8%) em relação aos controles (25,6%). Nas mulheres HPV-positivas com LIEAG/carcinoma, 50,0% tinham história de tabagismo, enquanto nos controles essa frequência foi de 30,1%. No nível distal, relativo ao rastreamento, 18,1% dos casos e 1,7% dos controles relataram nunca terem se submetido à colpocitologia oncótica.

No nível distal (Tabela 3), ainda sem o ajuste do efeito das variáveis sobre o desfecho, a chance de mulheres com infecção cervical por HPV desenvolverem LIEAG ou carcinoma mostrou-se maior para as residentes na zona rural (OR=6,8; IC95%: 2,3-20,2), com menos de três anos de escolaridade (OR=5,3; IC95%: 2,9-9,8) e com renda familiar inferior a dois salários mínimos (OR=4,0; IC95%: 1,8-8,9). No nível intermediário, de acordo com as OR não ajustadas, evidenciou-se maior risco de LIEAG/carcinoma em mulheres com primeira relação sexual abaixo dos 20 anos (OR=2,5; IC95%: 1,2-5,3), com quatro ou mais gestações (OR=3,25; IC95%: 1,85-5,77) e com história de tabagismo (OR=2,3; IC95%: 1,3-4,0). No nível proximal, ausência de colpocitologia anterior apresentou OR não ajustado de 12,7 (IC95%: 3,5-46,1).

Dos sete fatores de risco evidenciados pelas OR não ajustadas, após a regressão logística hierarquizada (Tabela 4) que promoveu o ajuste do efeito das variáveis sobre o desfecho, cinco condições foram identificadas como fatores de risco para lesão intraepitelial de alto grau e câncer do colo uterino. No nível distal, permaneceram: residir em zona rural (OR=2,7; IC95%: 1,1-6,2), menos de três anos de escolaridade (OR=3,9; IC95%: 2,0-7,5) e renda familiar inferior a dois salários mínimos (OR=3,3; IC95%: 1,0-10,5). No nível intermediário, apenas o número de gestações igual ou superior a quatro manteve-se como fator de risco

Tabela 3 - Fatores de risco (OR não ajustada) para lesões intraepiteliais de alto grau e câncer cervical em mulheres com infecção por HPV no colo do útero

Variáveis	OR não ajustada	IC95%	Valor de p
Nível distal			
Área de residência			
Rural	6,8	2,3-20,2	0,001
Urbana	1,0		
Escolaridade			
0 a 3 anos	5,4	2,9-9,9	<0,001
4 anos ou mais	1,0		
Renda familiar			
<2 salários mínimos	4,0	1,8-9,0	0,001
≥2 salários mínimos	1,0		
Nível intermediário			
Idade da 1ª relação sexual			
<20 anos	2,5	1,2-5,3	0,01
≥20 anos	1,0		
Situação conjugal			
Com companheiro	1,0		
Sem companheiro	1,5	0,9-2,7	0,1
Número de gestações			
0 a 3	1,0		
4 ou mais	3,3	1,8-5,8	<0,001
História de contraceptivo hormonal			
Sim	0,6	0,3-1,1	0,07
Não	1,0		
História de tabagismo			
Sim	2,3	1,3-4,1	0,003
Não	1,0		
Nível proximal			
Colpocitologia anterior			
Sim	1,0		
Não	12,7	3,5-46,1	<0,001

Nível distal: variáveis sociodemográficas; nível intermediário: variáveis comportamentais (sexuais, reprodutivas e hábitos); nível proximal: variável referente ao rastreamento de câncer cervical.

Tabela 4 - Fatores de risco para lesões intraepiteliais de alto grau e câncer cervical em mulheres com infecção por HPV no colo do útero de acordo com regressão logística hierarquizada

Variáveis	OR ajustada	IC95%	Valor de p
Nível distal*			
Escolaridade			
0 a 3 anos	4,0	2,1 - 7,5	<0,001
4 anos ou mais	1,0		
Renda familiar			
<2 salários mínimos	3,3	1,1 - 10,5	0,043
≥2 salários mínimos	1,0		
Área de residência			
Rural	2,7	1,2 - 6,2	0,019
Urbana	1,0		
Nível intermediário**			
Número de gestações			
0 a 3	1,0		
4 ou mais	2,0	1,1 - 3,8	0,033
Nível proximal***			
Colpocitologia anterior			
Sim	1,0		
Não	9,7	2,5 - 38,3	0,001

*Nível distal (variáveis sociodemográficas): OR ajustado por três variáveis desse nível (escolaridade, renda familiar e área de residência). **Nível intermediário (variáveis comportamentais: sexuais, reprodutivas e hábitos): OR ajustado por cinco variáveis desse nível (idade da primeira relação sexual, situação conjugal, número de gestações, história de contraceptivo hormonal e história de tabagismo) e por três variáveis do nível distal (escolaridade, renda familiar e área de residência). ***Nível proximal (referente ao rastreamento de câncer cervical): OR ajustado por duas variáveis do nível intermediário (idade da primeira relação sexual e número de gestações) e por três variáveis do nível distal (escolaridade, renda familiar e área de residência). Nota: As variáveis que não apresentaram OR estatisticamente significante ($p < 0,05$) não foram mostradas na tabela.

(OR = 2,0; IC95%: 1,0-3,7). As mulheres sem colpocitologia oncótica anterior apresentaram um risco de 9,7 vezes maior (IC95%: 2,4-38,2) de desenvolverem LIEAG e câncer do colo uterino em relação às que já tinham se submetido ao exame.

Discussão

Em mulheres com HPV em colo do útero usuárias do SUS, identificou-se a predominância de infecções cervicais por genótipos de alto risco oncogênico, principalmente HPV 16 e 31, independentemente da presença de atipias citológicas cervicais. A alta frequência de HPV de alto risco oncogênico tem consequências práticas, particularmente nas mulheres sem alterações colpocitológicas, que compuseram o Grupo Controle deste estudo. O achado de elevada prevalência de HPV de alto risco em mulheres com colpocitologia normal também foi observado nas cidades de São Paulo e Campinas¹⁶. Essas mulheres devem ser acompanhadas com maior rigor, pois a infecção pelo HPV poderá progredir para alterações citológicas de graus variados que podem culminar em câncer cervical. A regressão da infecção pelo HPV é menos frequente após os 30 anos⁵ e, na persistência viral e progressão

das atipias citológicas, há a influência de fatores sociais, comportamentais e ligados à atenção à saúde, além das características genéticas e imunológicas das mulheres⁴.

Estima-se que pelo menos 50% da população sexualmente ativa, em idade reprodutiva, estejam com algum tipo de HPV⁴ em infecções únicas ou com múltiplos genótipos virais. Neste estudo, a frequência de infecções únicas foi maior entre os casos. Porém, a influência do número de genótipos nas infecções por HPV na determinação de lesões pré-cancerosas ou câncer cervical invasivo é controversa. Alguns estudos^{1,17} demonstram que não existem diferenças entre infecções múltiplas e únicas no risco de lesões cervicais graves. No entanto, a possibilidade de alguns tipos de HPV, quando associados, agirem sinergicamente no desenvolvimento de neoplasias foi sugerida por um estudo de coorte com mulheres de São Paulo que demonstrou maior risco de carcinoma cervical em infecções múltiplas¹⁸.

Neste estudo, o HPV 16 foi predominante, o que está de acordo com o observado em todo o mundo^{19,2}, inclusive nas diversas regiões brasileiras²⁰⁻²⁵. Todavia, há variações em relação aos outros tipos virais. O genótipo 18 é o segundo mais prevalente nas regiões Norte²², Sul²³ e Sudeste²⁵. Porém, recente estudo apontou o HPV 31 na segunda posição na região Sudeste²⁴, à semelhança do que ocorre nas regiões Centro-Oeste²¹ e Nordeste²⁰. Neste estudo, o HPV 31 também foi identificado como o segundo mais frequente nos casos e nos controles, entre os vírus de alto risco oncogênico.

Apesar de a ligação entre a infecção pelo HPV e o câncer ser bem estabelecida, existe clara discrepância entre a frequência de mulheres infectadas e as que desenvolvem lesões epiteliais. Entre as razões para essa variação, mesmo considerando-se que a maioria das infecções é transitória, admite-se que outros fatores desempenham papel relevante na promoção do processo de carcinogênese¹. No presente estudo, fatores de várias dimensões – socioeconômicos, demográficos, sexual-reprodutivos, hábitos e ações preventivas – apresentaram-se associados à ocorrência de LIEAG e carcinoma cervical. Para análise desses fatores, as 12 variáveis selecionadas constituíram um modelo hierarquizado de determinação do câncer cervical, no qual a mesma variável poderia atuar como fator de confusão para variáveis proximais e como mediadora para variáveis distais. Essa estratégia permite a análise de um grande número de fatores conceitualmente relacionados, assim como a demonstração de fatores causais que seriam mascarados ou subestimados¹⁴.

Muitas associações observadas na fase inicial da análise não foram mantidas após a regressão logística hierarquizada. Se o tamanho da amostra fosse maior, provavelmente algumas permaneceriam no modelo final. Mesmo com essa limitação, que também interferiu em

intervalos de confiança mais largos, foram demonstrados cinco fatores de risco na etapa final da análise, sendo três no nível distal de determinação (residir em zona rural, menos de três anos de escolaridade e renda familiar inferior a dois salários mínimos), um no nível intermediário (quatro ou mais gestações) e um no nível proximal (ausência de colpocitologia). A presença do HPV não fez parte do modelo de regressão logística por não se tratar de fator de risco e sim condição necessária para ocorrência do desfecho.

Como toda a amostra foi proveniente de uma população usuária do SUS, com menores variações nas características socioeconômicas e comportamentais, os fatores de risco demonstrados poderiam ter maior magnitude se o grupo controle incluísse mulheres com melhores condições sociais. Porém, na população assistida pelo SUS, também existe heterogeneidade interna, embora em menor dimensão do que na população geral. Assim, demonstrou-se que existe risco diferenciado para ocorrência de LIEAG e câncer cervical entre usuárias do SUS, o que implica estratégias específicas para não excluir mulheres com maior risco das ações de controle do câncer de colo do útero, especialmente do rastreamento citológico.

Não há consenso na literatura científica a respeito dos fatores de risco, pois a sua demonstração depende do tipo de estudo, da amostra estudada e das características regionais e individuais^{1,4}. Neste estudo, a influência observada da renda e da escolaridade na determinação de alterações colpocitológicas, com risco superior a três vezes nas mulheres com menor escolaridade (até três anos de estudo) e baixa renda familiar (inferior a dois salários mínimos), está em consonância com vários estudos que demonstraram a importância dessas variáveis no risco de câncer cervical^{6,26,8} e na falta de acesso à citologia oncótica²⁷⁻²⁹. A educação e a renda seriam mediadoras do acesso ao diagnóstico e tratamento das lesões pré-malignas antes da sua progressão para o câncer cervical³⁰.

A associação do local de residência com as alterações citológicas possivelmente reflete o menor acesso aos serviços de saúde e o maior índice de analfabetismo de mulheres provenientes de zona rural³¹, o que resulta no diagnóstico de lesões mais avançadas por ocasião do rastreamento citológico. Neste estudo, provavelmente as mulheres com piores condições de renda e escolaridade e residentes na zona rural tinham menor conhecimento sobre o rastreamento cervical e menor acesso ao sistema de saúde e, conseqüentemente, à colpocitologia. Mesmo assim, as variáveis “renda”, “escolaridade” e “área de residência” ajustadas entre si na regressão logística apresentaram efeito independente no desfecho, e o mesmo aconteceu com o número de gestações e com a colpocitologia quando ajustadas pelas variáveis dos níveis hierárquicos anteriores do modelo de determinação.

A ausência de associação entre raça/cor e a ocorrência de LIEAG/carcinoma certamente reflete a grande miscigenação racial que existe no país, especialmente no Nordeste e na população coberta pela SUS. Em relação ao número de parceiros sexuais, situação conjugal e história de contraceptivos hormonais, variáveis para as quais também não se encontrou associação, vários estudos relatam sua importância na determinação do câncer de colo uterino^{1,3,4}. Como já relatado anteriormente, provavelmente o tamanho da amostra não foi suficiente para demonstrar o efeito dessas variáveis. Porém, alguns estudos também não demonstram associação entre o uso de contraceptivo hormonal e o risco de câncer cervical^{32,6}, a não ser quando se considera o tempo de uso³³. Mulheres com maior número de parceiros sexuais apresentam risco mais elevado de câncer cervical invasivo³⁴; porém, o comportamento sexual do parceiro (relações sexuais extraconjugais, número elevado de parceiras e relações sexuais com profissionais do sexo) pode interferir na demonstração dessa associação³⁵.

O tabagismo e a idade da primeira relação sexual apresentaram-se como fatores de risco para atipias colpocitológicas mais severas; porém, após o ajuste pelas demais variáveis do nível intermediário e distal, perderam o efeito sobre o desfecho, provavelmente devido à influência do tamanho amostral. Existem consistentes demonstrações do papel do fumo como fator de risco para câncer cervical³⁶, inclusive, a recente tendência de aumento do tabagismo em mulheres jovens no mundo tem sido motivo de preocupação devido ao possível impacto sobre a incidência dessa neoplasia nos próximos anos³⁶. A iniciação sexual precoce pode aumentar o risco de infecção por HPV³⁴ por ser um marcador de outros comportamentos sexuais, como maior número de parceiros ou mudança frequente de parceiro⁴, e por estar associada com menor escolaridade³⁷.

No presente estudo, as mulheres com quatro ou mais gestações apresentaram cerca de duas vezes mais risco para LIEAG e carcinoma, estando de acordo com estudos que demonstram a multiparidade como fator de risco para câncer cervical^{1,34}. Estudo multicêntrico de caso-controle sobre carcinoma cervical com mulheres HPV-positivas de quatro continentes evidenciou que histórico de sete ou mais gestações a termo representa um risco 3,8 vezes maior (IC95%: 2,7-5,5) para câncer de células escamosas, em comparação com nenhuma gestação, e 2,3 vezes (IC95%: 1,6-3,2) em relação a uma ou duas gestações a termo³⁸. O declínio geral na paridade pode explicar parcialmente a redução do câncer cervical ocorrido na maioria dos países³⁸.

A ausência de colpocitologia anterior representou o maior fator de risco identificado (OR=9,74) para LIEAG e carcinoma cervical após ter seu efeito ajustado por variáveis socioeconômicas e comportamentais. No

Brasil, baixo nível socioeconômico, de escolaridade e de renda familiar e o fato de pertencer às faixas etárias mais jovens são os principais fatores determinantes da baixa cobertura da colpocitologia no país²⁷. A cobertura da citologia oncótica no país passou de 79,0% da população feminina com 25 anos ou mais, em 2003, para 84,5% em 2008³⁹. Embora acima do patamar de 80%, capaz de reduzir 90% da mortalidade¹⁰, existe grande heterogeneidade geográfica na realização desse exame no país. Em Pernambuco, por exemplo, a cobertura da colpocitologia foi de 66,2% na faixa etária de 25 a 59 anos em 2006²⁸.

O presente estudo identificou os HPV de alto risco oncogênico 16 e 31 como os principais genótipos em infecções cervicais tanto em mulheres sem atipias citológicas no colo do útero, como nas portadoras de lesões precursoras e carcinoma cervical. Além disso, demonstrou o papel da residência em áreas rurais, da baixa renda e menor escolaridade como fatores que se encontram na base da determinação de LIEAG e carcinoma cervical. A esses fatores adiciona-se a influência, na progressão das alterações citológicas HPV induzidas, do alto número de gestações e da ausência da colpocitologia oncótica. Esses achados contribuem com a discussão sobre estratégias de implantação de uma futura vacina contra o HPV e, principalmente, com a identificação de grupos de risco para instituição de vigilância sobre o rastreamento citológico, com o desafio de alcançar coberturas altas e homogêneas

que impactem não só na mortalidade, mas também na incidência do câncer de colo uterino no país.

Agradecimentos

Ao Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira (IMIP), ao Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e ao Departamento de Genética, Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental, da Universidade Federal de Pernambuco. O estudo teve o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE).

Participação dos autores

Vilma Guimarães de Mendonça participou da concepção e planejamento do estudo, atendimento ginecológico, coleta e análise dos dados, interpretação dos resultados e redação do artigo. Maria José Bezerra Guimarães participou da concepção do estudo, análise dos dados, interpretação dos resultados e redação do artigo. Carolina Guimarães de Mendonça auxiliou o atendimento ginecológico e participou da coleta de dados, elaboração do banco de dados e redação do artigo. José Luiz de Lima Filho, Danyelly Bruneka Gondim Martins, Sergio Crovella e Luiz Cláudio Arraes de Alencar participaram da concepção do estudo, realização dos testes de genotipagem e revisão crítica do texto.

Referências

1. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2002;55(4):244-65.
2. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJ, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*. Ahead of print 2010.
3. Moreno V, Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Gonzalez LC, Tafur L, et al. Risk factors for progression of cervical intraepithelial neoplasm grade III to invasive cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1995;4(5):459-67.
4. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006;24 Suppl 1:S1-15.
5. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2008;110(3 Suppl 2):S4-7.
6. Shields TS, Brinton LA, Burk RD, Wang SS, Weinstein SJ, Ziegler RG, et al. A case-control study of risk factors for invasive cervical cancer among U.S. women exposed to oncogenic types of human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13(10):1574-82.
7. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, et al. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second edition-summary document. *Ann Oncol*. 2010;21(3):448-58.
8. Franceschi S, Plummer M, Clifford G, de Sanjosé S, Bosch X, Herrero R, et al. Differences in the risk of cervical cancer and human papillomavirus infection by education level. *Br J Cancer*. 2009;101(5):865-70.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer [Internet]. Estimativa 2010: incidência do câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2009 [citado 2010 Jul]. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/estimativa20091201.pdf>>
10. Walboomers JM, de Roda Husman AM, Snijders PJ, Stel HV, Risse EK, Helmerhorst TJ, et al. Human papillomavirus in false negative archival cervical smears: implications for screening for cervical cancer. *J Clin Pathol*. 1995;48(8):728-32.
11. Baseman JG, Kulasingam SL, Harris TG, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, et al. Evaluation of primary cervical cancer screening with an oncogenic human papillomavirus DNA test and cervical cytologic findings among women who attended family planning clinics in the United States. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199(1):26.e1-8.

12. Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al. Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(16):1579-88.
13. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002;287(16):2114-9.
14. Lima S, Carvalho ML, Vasconcelos AGG. Proposta de modelo hierarquizado aplicado à investigação de fatores de risco de óbito infantil neonatal. *Cad Saúde Pública*. 2008;24(8):1910-6.
15. Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. In: Furth M, Greaves M, editors. *Molecular diagnosis of human cancer [Cancer Cells, 7]*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory; 1989. p. 209-14.
16. Rama C, Roteli-Martins C, Derchain S, Longatto-Filho A, Gontijo R, Sarian L, et al. Rastreamento anterior para câncer de colo uterino em mulheres com alterações citológicas ou histológicas. *Rev Saúde Pública*. 2008;42(3):411-9.
17. Levi JE, Fernandes S, Tatenno AF, Motta E, Lima LP, Eluf-Neto J, et al. Presence of multiple human papillomavirus types in cervical samples from HIV-infected women. *Gynecol Oncol*. 2004;92(1):225-31.
18. Trottier H, Mahmud S, Costa MC, Sobrinho JP, Duarte-Franco E, Rohan TE, et al. Human papillomavirus infections with multiple types and risk of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(7):1274-80.
19. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(7):453-9.
20. Lorenzato F, Ho L, Terry G, Singer A, Santos LC, De Lucena Batista R, et al. The use of human papillomavirus typing in detection of cervical neoplasia in Recife (Brazil). *Int J Gynecol Cancer*. 2000;10(2):143-50.
21. Camara GNL, Cerqueira DM, Oliveira APG, Silva EO, Carvalho LGS, Martins CRF. Prevalence of human papillomavirus types in women with pre-neoplastic and neoplastic cervical lesions in the Federal District of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(7):879-83.
22. Noronha V, Mello W, Villa L, Brito A, Macêdo R, Bisi F, et al. Papilomavirus humano associado a lesões de cérvix uterina. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999;32(3):235-40.
23. Entiauspe LG, Teixeira LO, Mendoza-Sassi RA, Gonçalves CV, Gonçalves P, Martinez AMB. Papilomavirus humano: prevalência e genótipos encontrados em mulheres HIV positivas e negativas, em um centro de referência no extremo Sul do Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(3):260-3.
24. Oliveira LHS, Ferreira MDPL, Augusto EF, Melgaço FG, Santos LS, Cavalcanti SMB, et al. Human papillomavirus genotypes in asymptomatic young women from public schools in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(1):4-8.
25. Lippman SA, Sucupira MC, Jones HE, Luppi CG, Palefsky J, van de Wijgert JH, et al. Prevalence, distribution and correlates of endocervical human papillomavirus types in Brazilian women. *Int J STD AIDS*. 2010;21(2):105-9.
26. de Sanjosé S, Bosch FX, Muñoz N, Shah K. Social differences in sexual behaviour and cervical cancer. *IARC Sci Publ*. 1997;(138):309-17.
27. Martins LFL, Thuler LCS, Valente JG. Cobertura do exame de Papanicolaou no Brasil e seus fatores determinantes: uma revisão sistemática da literatura. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2005;27(8):485-92.
28. Albuquerque KM, Frias PG, Andrade CLT, Aquino EML, Menezes G, Szwarcwald CL. Cobertura do teste de Papanicolaou e fatores associados à não-realização: um olhar sobre o Programa de Prevenção do Câncer do Colo do Útero em Pernambuco, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2009;25 Supl 2:S301-9.
29. Ortiz AP, Hebl S, Serrano R, Fernandez ME, Suárez E, Tortolero-Luna G. Factors associated with cervical cancer screening in Puerto Rico. *Prev Chronic Dis*. 2010;7(3):A58
30. Oliveira LH, Rosa ML, Pereira CR, Vasconcelos GA, Silva RA, Barrese TZ, et al. Human papillomavirus status and cervical abnormalities in women from public and private health care in Rio de Janeiro State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2006;48(5):279-85.
31. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) [Internet]. Síntese de indicadores sociais 2003; Rio de Janeiro: IBGE; 2004 [citado 2010 Jul]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/pdf/13042004_sintese2003.pdf>
32. Silva TT, Guimarães ML, Barbosa MIC, Pinheiro MFG, Maia AF. Identificação de tipos de papilomavirus e de outros fatores de risco para neoplasia intra-epitelial cervical. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2006;28(5):285-91.
33. Smith JS, Green J, Berrington de Gonzalez A, Appleby P, Peto J, Plummer M, et al. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. *Lancet*. 2003;361(9364):1159-67.
34. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Comparison of risk factors for invasive squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix: collaborative reanalysis of individual data on 8,097 women with squamous cell carcinoma and 1,374 women with adenocarcinoma from 12 epidemiological studies. *Int J Cancer*. 2007;120(4):885-91.
35. Vaccarella S, Franceschi S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Clifford GM, et al. Sexual behavior, condom use, and human papillomavirus: pooled analysis of the IARC human papillomavirus prevalence surveys. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(2):326-33.
36. Plummer M, Herrero R, Franceschi S, Meijer CJ, Snijders P, Bosch FX, et al. Smoking and cervical cancer: pooled analysis of the IARC multi-centric case-control study. *Cancer Causes Control*. 2003;14(9):805-14.
37. Cooper D, Hoffman M, Carrara H, Rosenberg L, Kelly J, Stander I, et al. Determinants of sexual activity and its relation to cervical cancer risk among South African women. *BMC Public Health*. 2007;7:341.
38. Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002;359(9312):1093-101.
39. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) [Internet]. Pesquisa nacional por amostra de domicílios 2008: um panorama da saúde no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2010 [citado 2010 Jul]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1580&id_pagina=1>