

Επιπολασμός της HPV-Λοίμωξης σε Δείγμα Ελληνίδων Γυναικών Αναπαραγωγικής Ηλικίας

Prevalence of HPV Infection among Greek Women

Abstract at the end of the article

Πετρούλα Σταματάκη,¹ Αθανασία Παπαζαφειροπούλου,²
Ιωάννης Ελευσινιώτης,³ Μαργαρίτα Γιαννακοπούλου,⁴
Ηρώ Μπροκαλάκη,⁵ Γεώργιος Σαρόγλου⁶

¹Υποπλοίαρχος (ΥΝ), Νοσηλεύτρια ΠΕ, ΜSc, PhD(c), Τμήμα Νοσηλευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Νοσηλεύτρια Ελέγχου Λοιμώξεων, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Αθήνα, ²Ειδικευόμενη Παθολογίας, PhD, Γ' Παθολογικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας, Πειραιάς, ³Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Νοσηλευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, ⁴Επίκουρος Καθηγήτρια, Τμήμα Νοσηλευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, ⁵Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Νοσηλευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, ⁶Καθηγητής, Τμήμα Νοσηλευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα

Υποβλήθηκε: 19.1.2010
Επανυποβλήθηκε: 2.3.2010
Εγκρίθηκε: 5.5.2010

Υπεύθυνη αλληλογραφίας:

Πετρούλα Σταματάκη
Κασσάνδρας 14, 131 22 Ίλιον
Τηλ.: 210 26 28 920, 6974 159 344
e-mail: stamatakis@yahoo.gr

Σκοπός: Εκτίμηση του επιπολασμού της λοίμωξης των ανθρώπινων θηλωμάτων σε δείγμα Ελληνίδων γυναικών, οι οποίες παρακολουθούνταν σε τακτικά εξωτερικά ιατρεία Δημόσιου Μαιευτηρίου της Αθήνας, καθώς και η διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων με παράγοντες κινδύνου από το ατομικό ιστορικό και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ατόμων της μελέτης. **Υλικό-Μέθοδος:** Μελετήθηκαν, συνολικά, 225 γυναίκες, οι οποίες υποβλήθηκαν σε πλήρη γυναικολογική εξέταση και test Παπανικολάου κατά τη χρονική περίοδο Οκτωβρίου 2007 έως Μαΐου 2008, στα τακτικά ιατρεία Δημόσιου Μαιευτηρίου της Αττικής. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος Statistical Package for Social Sciences (SPSS) v.15.0. **Αποτελέσματα:** Λοίμωξη από τον HPV ανιχνεύτηκε στο 22,7% του πληθυσμού της μελέτης. Το ποσοστό των γυναικών που διαγνώστηκαν για πρώτη φορά με HPV-λοίμωξη ήταν 17,3%. Η HPV-λοίμωξη σχετιζόταν θετικά με την κατανάλωση οινοπνεύματος (OR: 2,19, 95% CI: 1,04–4,63, p=0,04) και τον αριθμό των ερωτικών συντρόφων (OR: 2,16, 95% CI: 1,44–3,25, p<0,001), ενώ σχετιζόταν αρνητικά με την ηλικία (OR: 0,93, 95% CI: 0,87–0,99, p=0,03) και το μηνιαίο εισόδημα (OR: 0,63, 95% CI: 0,44–0,89, p=0,01). **Συμπεράσματα:** Ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας είναι υψηλός. Ο αριθμός των ερωτικών συντρόφων και η κατανάλωση οινοπνεύματος φαίνεται να αποτελούν τους πλέον σημαντικούς παράγοντες κινδύνου της HPV-λοίμωξης, ενώ ακολουθούν η νεαρή ηλικία και το χαμηλό οικογενειακό εισόδημα.

Λέξεις ευρητηρίου: Ερωτικοί σύντροφοι, ηλικία, ιός ανθρώπινων θηλωμάτων, μηνιαίο εισόδημα

Εισαγωγή

Είναι γνωστό ότι η συχνότητα του καρκίνου του τράχηλου της μήτρας είναι ιδιαίτερα υψηλή σε γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας παγκοσμίως.¹ Μελέτες υποδεικνύουν ότι η λοίμωξη από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (human

papilloma virus, HPV) αποτελεί τον αιτιολογικό παράγοντα ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.^{2,3} Οι υπότυποι του HPV που ανήκουν στην ομάδα υψηλού κινδύνου, ανιχνεύονται στο 99% των περιπτώσεων του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, καθώς και στην πλειοψηφία των περιπτώσεων υψηλού βαθμού τραχηλικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας.⁴

Στις ΗΠΑ, πρόσφατη μελέτη σε δείγμα 1.921 γυναικών έδειξε ότι ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης ήταν 26,8%, με μεγαλύτερο ποσοστό (44,8%) στις ηλικίες 20–24 ετών.⁵ Επιδημιολογική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στη νότια Ινδία, σε αγροτική περιοχή, σε δείγμα 1.891 έγγαμων γυναικών, κατέδειξε ότι ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης ήταν 16,9%, και, συγκεκριμένα, 14,0% στις γυναίκες χωρίς παθολογικό κυτταρολογικό εύρημα και 73,9% σε αυτές με παθολογικό κυτταρολογικό εύρημα.⁶ Επίσης, σύμφωνα με τα αποτελέσματα πολυκεντρικής μελέτης 11 χωρών (Νιγηρία, Ινδία, Βιετνάμ, Ταϊλάνδη, Κορέα, Κολομβία, Αργεντινή, Χιλή, Ολλανδία, Ιταλία και Ισπανία), ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης ήταν μεγαλύτερος στη Νιγηρία (25,6%) και μικρότερος στην Ισπανία (1,4%).⁷

Στην Ελλάδα, σε μελέτη που διεξήχθη σε Ογκολογικό Νοσοκομείο Αθηνών με συμμετοχή 1.636 γυναικών ηλικίας 18–48 ετών, βρέθηκε ότι ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης ήταν 75,4% σε γυναίκες με παθολογικά κυτταρολογικά ευρήματα και 24,6% σε γυναίκες χωρίς παθολογικό κυτταρολογικό εύρημα.⁸ Τα αποτελέσματα μελέτης, σε δείγμα 1.296 γυναικών που προσήλθαν στα εξωτερικά ιατρεία έξι γυναικολογικών κλινικών στη βόρεια Ελλάδα, έδειξαν ότι ο επιπολασμός του HPV ήταν 2,5% (95% CI=1,6–3,3%).⁹

Η ανίχνευση των HPV-υποτύπων ομάδας υψηλού κινδύνου σε συνδυασμό με το test Παπανικολάου ίσως θεωρείται ο πλέον αποτελεσματικός συνδυασμός για την έγκαιρη αναγνώριση γυναικών που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για δημιουργία αλλοιώσεων και κατ'επέκταση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.^{10,11} Επιπλέον, η εφαρμογή προγραμμάτων εμβολιασμού ενδέχεται να βοηθήσει στη μείωση της νοσηρότητας και της θνητότητας από τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.¹² Ειδικά, ο εμβολιασμός μπορεί να συντελέσει στην πρόληψη περισσότερων από τα δύο τρίτα περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως.¹³ Η γνώση του επιπολασμού του ιού, τόσο από το ιατρικό όσο και από το νοσηλευτικό προσωπικό, αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση προκειμένου να εκτιμηθεί η αναγκαιότητα της εφαρμογής του εμβολιασμού έναντι του ιού, σε συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες και με στόχο το βέλτιστο δυνατό αποτέλεσμα. Ο νοσηλευτής, ως ισότιμο μέλος της υγειονομικής ομάδας

καλείται να συμμετέχει ενεργά σε προγράμματα αγωγής υγείας και προσυμπτωματικού ελέγχου των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων.

Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση του επιπολασμού του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων σε επίχρισμα τραχήλου της μήτρας, σε δείγμα Ελληνίδων γυναικών που εξετάστηκαν στα εξωτερικά γυναικολογικά ιατρεία Δημόσιου Μαιευτηρίου των Αθηνών και η διερεύνηση των σχετιζόμενων παραγόντων κινδύνου.

Υλικό και Μέθοδος

Πραγματοποιήθηκε ποσοτική μελέτη επιπολασμού και συσχέτισης, σε δείγμα 225 γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας που προσήλθαν διαδοχικά στα τακτικά γυναικολογικά ιατρεία Δημόσιου Μαιευτηρίου, για τακτικό γυναικολογικό έλεγχο μεταξύ Οκτωβρίου 2007 και Μαΐου 2008. Πέντε γυναίκες αρνήθηκαν να συμμετέχουν στη μελέτη για προσωπικούς λόγους. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, το ιστορικό υγείας, οι καπνισματικές συνήθειες, η κατανάλωση οινόπνευματος, το μηνιαίο εισόδημα, το μορφωτικό επίπεδο –ως υψηλού μορφωτικού επιπέδου θεωρήθηκαν οι γυναίκες απόφοιτοι ανώτερης και ανώτατης εκπαίδευσης, οι υπόλοιπες θεωρήθηκαν ότι ανήκουν στην κατηγορία του χαμηλού μορφωτικού επιπέδου– και η σεξουαλική συμπεριφορά καταγράφηκαν σε ειδικό έντυπο που είχε διαμορφωθεί για το σκοπό της μελέτης. Ως μη καπνίστριες θεωρήθηκαν οι γυναίκες που δεν είχαν καπνίσει ποτέ ή είχαν διακόψει το κάπνισμα για τουλάχιστον τρία συνεχόμενα έτη πριν από την εισαγωγή τους στη μελέτη. Ως σημαντική κατανάλωση οινόπνευματος ορίστηκε η κατανάλωση περισσότερων του ενός ποτών την ημέρα. Ως χαμηλό μηνιαίο εισόδημα θεωρήθηκε το ποσό των 1.000 € (πίν. 1). Η συλλογή στοιχείων βασίστηκε σε ερωτήσεις αναφορικά με τον αριθμό των ερωτικών συντρόφων κατά τη διάρκεια της ζωής τους, το ιστορικό σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων και τη χρήση μέτρων αντισύλληψης. Όλες οι γυναίκες υποβλήθηκαν σε γυναικολογική εξέταση με κολποσκόπηση και ταυτόχρονα έγινε λήψη τραχηλικού επιχρίσματος για test Παπανικολάου από έμπειρο ιατρονοσηλευτικό προσωπικό και μέλος της ερευνητικής ομάδας. Μετά από κατάλληλη προετοιμασία, τα τραχηλικά κύτταρα τοποθετούνταν σε δοκιμαστικά σωληνάκια με φυσιολογικό ορό και αποθηκεύονταν στους -20 °C. Η ανίχνευση της HPV-λοίμωξης έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο των Muñoz et al.¹⁴

Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά του υπό μελέτη δείγματος (η ηλικία παρουσιάζεται ως μέση τιμή±σταθερή απόκλιση, οι υπόλοιπες μεταβλητές παρουσιάζονται ως αριθμός [%]).

	Συνολικό δείγμα (n=225)	HPV θετικές γυναίκες (n=51)
Ηλικία (έτη)	30,7±6,8	28,5±6,7
Μηναίο εισόδημα (€)	n (%)	n (%)
≤1000	51 (22,7)	21 (41,2)
1.000–1.999	72 (32,0)	13 (25,5)
2.000–2.999	49 (21,8)	7 (13,5)
≥3.000	53 (23,5)	10 (19,8)
Μορφωτικό επίπεδο		
Χαμηλό	71 (31,6)	14 (27,5)
Υψηλό	154 (68,4)	37 (72,5)
Εθνικότητα		
Ελληνική	209 (92,8)	45 (88,2)
Άλλη	16 (7,1)	6 (11,8)
Οικογενειακή κατάσταση		
Άγαμη	118 (52,4)	37 (72,5)
Έγγαμη	104 (46,2)	11 (21,6)
Διαζευγμένη	3 (1,4)	3 (5,9)
Αριθμός ολοκληρωμένων κυήσεων		
0	148 (65,8)	39 (76,5)
1	33 (14,7)	7 (13,7)
2–4	44 (19,5)	5 (9,8)
Μέθοδοι αντισύλληψης		
Καμιά	77 (34,2)	15 (29,4)
Προφυλακτικό	132 (58,6)	31 (60,8)
Άλλη μέθοδος αντισύλληψης	16 (7,1)	5 (9,8)
Ηλικία πρώτης σεξουαλικής επαφής (έτη)		
≤15	19 (8,4)	30 (58,8)
16–19	132 (58,7)	16 (31,4)
≥20	74 (32,9)	
Συνολικός αριθμός σεξουαλικών συντρόφων		
1	53 (23,6)	2 (3,9)
2	48 (21,3)	11 (21,6)
3–5	91 (40,4)	22 (43,1)
≥6	33 (14,7)	16 (31,4)
Αριθμός σεξουαλικών συντρόφων το τελευταίο έτος		
0		
1	16 (7,1)	4 (7,8)
≥2	172 (76,4)	33 (64,7)
	37 (16,4)	14 (27,5)
Αριθμός μηνιαίων σεξουαλικών επαφών		
<2	39 (17,3)	11 (21,6)
2–4	43 (19,1)	7 (13,7)
5–8	66 (29,3)	15 (29,4)
≥9	77 (34,3)	18 (35,3)
Ιστορικό σεξουαλικώς μεταδιδόμενων νοσημάτων		
Όχι	117 (52,0)	23 (45,1)
Ναι	108 (48,0)	28 (54,9)
Ιστορικό προηγούμενης HPV-λοίμωξης		
Όχι	201 (89,4)	39 (76,5)
Ναι	24 (10,6)	12 (23,5)
Τελευταίο test PAP		
Ποτέ	18 (8,0)	7 (13,7)
≤1 έτος	149 (66,2)	30 (58,8)
>1 έτος	58 (25,8)	14 (27,5)
Κάπνισμα		
Όχι/πρώην καπνίστρια	137 (60,9)	23 (45,0)
Καπνίστρια	88 (39,1)	28 (55,0)
Κατανάλωση οινοπνεύματος		
Όχι	115 (51,2)	18 (35,2)
Ναι	110 (48,8)	33 (62,8)

Η αρχική διαδικασία περιελάμβανε την απομόνωση του DNA του ιού. Τα κύτταρα που είχαν ληφθεί από τον τράχηλο της μήτρας με ψύκτρα, αφαιρέθηκαν από τα επιχρίσματα και φυγοκεντρήθηκαν για 10 min στα 12.000 rpm προκειμένου να αποκτήσουν τη μορφή ιζήματος. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε με μια μικροπιπέτα, ενώ τα υπόλοιπα κύτταρα διαλύθηκαν σε 100 μL 1X phosphate buffer saline (PBS). Τα διαλυμένα κύτταρα μεταφέρθηκαν σε 200 μL tissue lysis buffer (TLB) και 20 μL πρωτεϊνάσης K σύμφωνα με το εγχειρίδιο οδηγιών της Clinical Array's (HPV) (Biogenomica, Spain).^{14,15} Η επώαση πραγματοποιήθηκε στους 56 °C (1–3 ώρες) σε υδατόλουτρο ή thermo-block (υπό ανάδευση) μέχρι να γίνει λύση του δείγματος. Στη συνέχεια, εκχυλίστηκε το DNA με 100 μL ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης (Biogenomica Spain, BE), που προηγουμένως είχε θερμανθεί στους 70 °C και αποθηκεύτηκε σε -20 °C. Κατόπιν, εφαρμόστηκε η διαδικασία PCR για την εκλεκτική ενίσχυση μέρους του γονιδιώματος του ιού HPV. Προστέθηκαν 5 μL απομονωμένου DNA από κάθε δείγμα στα έτοιμα προς χρήση PCR φιαλίδια, τα οποία διατηρήθηκαν σε -20 °C (Biogenomica, Spain). Τα PCR σωληνάρια τοποθετήθηκαν στο θερμικό κυκλοποιητή όταν το block είχε προθερμανθεί σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή σε θερμοκρασία >90 °C. Η διαδικασία εκλεκτικής ενίσχυσης του γενετικού υλικού του ιού HPV διήρκεσε περίπου 4 ώρες και πραγματοποιήθηκε από εξειδικευμένο εργαστήριο.

Κάθε αντίδραση PCR περιλαμβάνει δύο εσωτερικούς δείκτες ασφάλειας, προκειμένου να αποφευχθούν τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα τα οποία μπορεί να προκληθούν από τη διαδικασία εκχύλισης και από παράγοντες αναστολής της Taq πολυμεράσης του ενζύμου που χρησιμοποιείται στην PCR. Για την περαιτέρω διαδικασία των μικροσυστοιχιών απαιτείται να γίνει αρχικά αποδιάταξη των προϊόντων της εκλεκτικής ενίσχυσης της PCR στα μικροσωληνάρια, κατά την οποία χρησιμοποιήθηκε ο θερμικός κυκλοποιητής στους 95 °C για 15 min. Για να παραμείνουν αποδιαταγμένα τα PCR προϊόντα και να υβριδοποιηθούν με τα ειδικά probes, τοποθετούνται άμεσα σε παγωμένη πλάκα η οποία φυλάσσεται στους 4 °C. Για την υβριδοποίηση, προστέθηκαν 5 μL των αποδιαταγμένων προϊόντων PCR σε κάθε ArrayTube σύμφωνα με το εγχειρίδιο οδηγιών (Biogenomica, Spain) για το ATS Workstation (CLONDIAG Chip Technologies GmbH). Τα αποτελέσματα του υβριδισμού ερμηνεύτηκαν από το ειδικό για τα κλινικά arrays HPV, λογισμικό πρόγραμμα που είναι προεγκατεστημένο και έτοιμο προς χρήση στο ATS Workstation (CLONDIAG Chip Technologies GmbH).^{14,15}

Θέματα ηθικής και δεοντολογίας

Η Επιστημονική Επιτροπή του νοσοκομείου έλαβε γνώση και παρέιχε την έγκριση για τη συγκεκριμένη μελέτη. Όλες οι συμμετέχουσες έδωσαν γραπτή συγκατάθεση πριν από την ένταξή τους στη μελέτη, με τη διαδικασία της πληροφορημένης συναίνεσης. Διατηρήθηκε η ανωνυμία των γυναικών και το απόρρητο των πληροφοριών, ενώ τηρήθηκαν αυστηρά όλες οι προκαθορισμένες προδιαγραφές της Διακήρυξης του Helsinki για πειράματα σε ανθρώπους.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος Statistical Package for Social Sciences (SPSS) v.15.0 (Chicago, IL, ΗΠΑ). Όλες οι μεταβλητές εξετάστηκαν για την κανονικότητα κατανομής των τιμών τους, με τη χρήση της δοκιμασίας Kolmogorov-Smirnov. Για τη σύγκριση των ποσοτικών παραμέτρων μεταξύ των ομάδων της μελέτης χρησιμοποιήθηκε το t-test, ενώ για τη σύγκριση των ποιοτικών παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία χ^2 . Επίσης, χρησιμοποιήθηκε η λογαριθμική παλινδρόμηση για τη μελέτη της σχέσης της παρουσίας HPV-λοίμωξης και των χαρακτηριστικών των ατόμων της μελέτης. Στη συνέχεια, έγιναν πολυπαραγοντικές αναλύσεις με τη χρήση της πολλαπλής παλινδρόμησης, για την αναζήτηση ανεξάρτητων συσχετίσεων μεταξύ της HPV-λοίμωξης και των εξεταζόμενων μεταβλητών. Όλες οι ανεξάρτητες μεταβλητές στα μοντέλα πολυπαραγοντικής ανάλυσης ελέγχθηκαν για συγγραμικότητα. Τιμές $p < 0,05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές.

Αποτελέσματα

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης συνοψίζονται στον πίνακα 1. Ο πληθυσμός της μελέτης ήταν 225 γυναίκες, ηλικίας 16–45 ετών (μέση ηλικία \pm σταθερή απόκλιση: 30,7 \pm 6,8 έτη). Οι περισσότερες γυναίκες είχαν υψηλό μορφωτικό επίπεδο (πτυχιούχοι ανώτερης και ανώτατης εκπαίδευσης και κάτοχοι μεταπτυχιακών τίτλων, 68,4%) και το 45,3% του δείγματος είχε υψηλό μηνιαίο εισόδημα. Το 52,4 ήταν άγαμες και από τις έγγαμες γυναίκες το 19,5% είχε τουλάχιστον δύο τελειόμηνες κυήσεις. Το 67,1% είχε την πρώτη σεξουαλική επαφή τους πριν από την ηλικία των 20 ετών και ανέφερε ένα σεξουαλικό σύντροφο κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους (76,4%). Το 55,1% ανέφερε >3 σεξουαλικούς συντρόφους κατά τη διάρκεια της ζωής τους και το 29,3% είχε >5 μηνιαίες σεξουαλικές επαφές. Το προ-

φυλακτικό ήταν η πιο κοινά χρησιμοποιούμενη μέθοδος αντισύλληψης (58,6%). Είναι αξιοσημείωτο ότι σχεδόν το ένα τρίτο του δείγματος δε χρησιμοποιούσε κάποια μέθοδο αντισύλληψης (34,2%). Σε test Παπανικολάου είχε υποβληθεί το 66,2% των γυναικών κατά τη διάρκεια του προηγούμενου έτους, ενώ το 8% δεν είχε κάνει ποτέ test Παπανικολάου. Περισσότερες από το ένα τρίτο των γυναικών ήταν καπνίστριες (39,1%), ενώ το 48,8% ανέφερε κανονική χρήση οιοπνεύματος.

Η μέση ηλικία των HPV-θετικών γυναικών (n=51) ήταν 28,5±6,7 έτη. Σημαντικό ποσοστό των HPV-θετικών γυναικών είχε χαμηλό μηνιαίο εισόδημα (41,2%) και ήταν άγαμες (72,5%). Το 68,6% ανέφερε την πρώτη σεξουαλική επαφή πριν από την ηλικία των 20 ετών και το 64,7% ανέφερε ένα σεξουαλικό σύντροφο κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους. Το 64,7% των γυναικών είχε >5 σεξουαλικές επαφές το μήνα. Το προφυλακτικό ήταν η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος αντισύλληψης (60,8%), ενώ το 29,4% ανέφερε ότι δε χρησιμοποιεί κάποια μέθοδο. Από τις HPV-θετικές γυναίκες, το 23,5% είχε ιστορικό προηγούμενης HPV- λοίμωξης και το 54,9% ιστορικό σεξουαλικά μεταδιδόμενου νοσήματος. Το 13,7% δεν είχε υποβληθεί ποτέ σε test Παπανικολάου, ενώ το 58,8% είχε υποβληθεί στο test κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους. Το 45% των HPV-θετικών γυναικών δεν κάπνιζε και το 62,8% ανέφερε κανονική χρήση οιοπνεύματος.

Ο HPV ανιχνεύτηκε σε 51 από τις 225 γυναίκες που εξετάστηκαν (22,7%). Το ποσοστό των νέων περιπτώσεων με HPV-λοίμωξη ήταν 17,3% (39/225), ενώ το 21,8% των γυναικών είχαν ιστορικό προηγούμενης HPV-λοίμωξης. Το

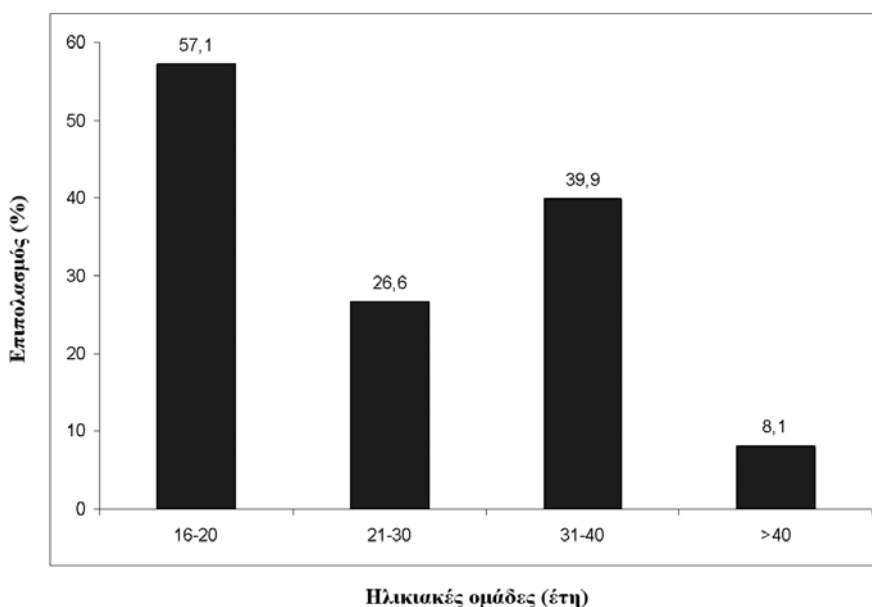
48% είχε ιστορικό σεξουαλικά μεταδιδόμενου νοσήματος. Ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης μεταξύ των γυναικών ηλικίας 21–30 ετών ήταν 26,6%, ενώ ο αντίστοιχος επιπολασμός μεταξύ των γυναικών ηλικίας 16–20 ετών ήταν 57,1%. Συγκεκριμένα, ο επιπολασμός του HPV-16 και του HPV-53 μεταξύ των γυναικών ηλικίας 21–30 ετών ήταν 5,5% και 2,8%, αντίστοιχα, ενώ ο αντίστοιχος επιπολασμός μεταξύ των γυναικών ηλικίας 16–20 ετών ήταν και στους δύο υποτύπους 14,3% (εικ. 1).

Η μονοπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της HPV-λοίμωξης και της ηλικίας (σχετικός κίνδυνος [odds ratio, OR]: 0,94, 95% διάστημα εμπιστοσύνης [95% confidence interval, CI]: 0,89–0,98, p=0,01), του μηνιαίου εισοδήματος (OR: 0,65, 95% CI: 0,48–0,89, p=0,007), της οικογενειακής κατάστασης (OR: 0,37, 95% CI: 0,18–0,73, p=0,004), του αριθμού των τελειόμηνων κυήσεων (OR: 0,58, 95% CI: 0,36–0,94, p=0,03), του αριθμού των σεξουαλικών συντρόφων (OR: 2,17, 95% CI: 1,50–3,15, p<0,001), του καπνίσματος (OR: 1,42, 95% CI: 1,08–1,85, p=0,01) και της κατανάλωσης οιοπνεύματος (OR: 2,27, 95% CI: 1,18–4,35, p=0,01). Καμιά σημαντική σχέση δε βρέθηκε μεταξύ της HPV-λοίμωξης και του μορφωτικού επιπέδου, της υπηκοότητας, των μεθόδων αντισύλληψης, της ηλικίας πρώτης σεξουαλικής επαφής και του ιστορικού της προηγούμενης HPV-λοίμωξης ή άλλων σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων (πίν. 2).

Η ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης, μετά από διόρθωση ως προς το κάπνισμα, την οικογενειακή κατάσταση και τον αριθμό των τελειόμηνων κυήσεων, έδειξε ότι η HPV-λοίμωξη σχετιζόταν θετικά με την κατανάλωση

Πίνακας 2. Μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση της συσχέτισης διαφόρων παραμέτρων με την HPV-λοίμωξη.

	Ανάλυση μιας μεταβλητής			Ανάλυση πολλαπλών μεταβλητών		
	Λόγος πιθανοτήτων	95% διαστήματα εμπιστοσύνης	Τιμή p	Λόγος πιθανοτήτων	95% διαστήματα εμπιστοσύνης	Τιμή p
Ηλικία	0,94	0,89–0,98	0,01	0,93	0,87 –0,99	0,03
Μηνιαίο εισόδημα	0,65	0,48–0,89	0,007	0,63	0,44–0,89	0,01
Οικογενειακή κατάσταση	0,37	0,18–0,73	0,004	–	–	–
Αριθμός ολοκληρωμένων κυήσεων	0,58	0,36–0,94	0,03	–	–	–
Αριθμός σεξουαλικών συντρόφων	2,17	1,50–3,15	<0,001	2,16	1,44–3,25	<0,001
Κάπνισμα	1,42	1,08–1,85	0,01	–	–	–
Κατανάλωση οιοπνεύματος	2,27	1,18–4,35	0,01	2,19	0,04–4,63	0,04



Εικόνα 1. Επιπολασμός της HPV-λοίμωξης ανά ηλικιακή ομάδα (οι τιμές εκφράζονται σε επί τοις εκατό ποσοστά [%]).

οιονπνεύματος (OR: 2,19, 95% CI: 1,04–4,63, $p=0,04$) και τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων (OR: 2,16, 95% CI: 1,44–3,25, $p<0,001$) και αρνητικά με την ηλικία (OR: 0,93, 95% CI: 0,87–0,99, $p=0,03$) και το μηνιαίο εισόδημα (OR: 0,63, 95% CI: 0,44–0,89, $p=0,01$) (πίν. 2).

Συζήτηση

Ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης σε δείγμα Ελληνίδων γυναικών ηλικίας 16–45 ετών ήταν 22,7%, με τον υψηλότερο επιπολασμό (56,9%) μεταξύ των γυναικών ηλικίας 21–30 ετών. Το ποσοστό των νέων περιπτώσεων με HPV-λοίμωξη ήταν 17,3%. Οι ογκογόνοι HPV-υπότυποι ανιχνεύτηκαν στο 14,2% των HPV-θετικών γυναικών. Ο επιπολασμός των υψηλού κινδύνου HPV-16, 53 και 18 ήταν 5,3%, 4,9% και 0,9%, αντίστοιχα. Τα συγκεκριμένα ευρήματα συμφωνούν με τα ευρήματα σχετικής μελέτης που πραγματοποιήθηκε σε μεγάλο δείγμα Αμερικανίδων γυναικών, ηλικίας 14–59 ετών, στην οποία ο επιπολασμός HPV-θετικών γυναικών επιδημιολογικής μελέτης ήταν (26,8%).⁵ Μελέτες στην Ευρώπη έχουν οδηγήσει σε παρόμοια συμπεράσματα.^{16,17}

Μια πρόσφατη μελέτη στην Ελλάδα σε γυναίκες με φυσιολογικό τραχηλικό επίχρισμα έδειξε ότι το HPV-DNA ήταν θετικό σε ποσοστό 23,6%.¹⁸ Παρόμοια ποσοστά έχουν βρεθεί σε προηγούμενες ελληνικές μελέτες.^{19,20} Ωστόσο, μια μελέτη των Agorastos et al αναφέρει έναν από τους χαμηλότερους επιπολασμούς HPV-λοίμωξης που έχουν

παρατηρηθεί διεθνώς (2,5%).⁹ Όπως δηλώνεται από τους ερευνητές, ο χαμηλός επιπολασμός της HPV-λοίμωξης μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι στη μελέτη τους συμμετείχαν γυναίκες περισσότερο συνειδητοποιημένες σε θέματα πρωτογενούς και δευτερογενούς πρόληψης. Σε μελέτες στην Ισπανία και το Βιετνάμ έχει βρεθεί επίσης χαμηλός επιπολασμός HPV-λοίμωξης, γεγονός που υποδηλώνει ειδικά για την Ισπανία ότι η οργάνωση των συστημάτων προληπτικού υγειονομικού ελέγχου και η αποδοχή των μεθόδων αντισύλληψης βρίσκεται σε αρκετά υψηλό επίπεδο.²¹

Ο HPV-16 ήταν ο συχνότερος ογκογόνος υπότυπος που απομονώθηκε, είτε μόνος του είτε σε συνδυασμό με άλλους HPV-υπότυπους. Από αντίστοιχες μελέτες σε διαφορετικούς πληθυσμούς βρέθηκε ότι ο HPV-16 ήταν επίσης ο πιο κοινός από τους HPV-υπότυπους.^{22–25} Ακόμη υψηλότερος επιπολασμός του HPV-16 έχει περιγραφεί σε μελέτες που προέρχονται από την Ασία (43,9%) και την Αφρική (72,4%), ισχυροποιώντας την άποψη της γεωγραφικής κατανομής του ιού.^{26,27} Είναι πλέον επιστημονικά τεκμηριωμένο ότι ο HPV-16 είναι ο συχνότερος υπότυπος HPV που απομονώνεται σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας παγκόσμια.²⁸

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της πολυπαραγοντικής ανάλυσης, η HPV-λοίμωξη σχετιζόταν θετικά με την κατανώση οιονπνεύματος και τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων και αρνητικά με την ηλικία και το μηνιαίο εισόδημα. Πολλές προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι ο

κυριότερος παράγοντας κινδύνου για την HPV-λοίμωξη ήταν ο αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων.^{29–31} Επίσης, η κατανάλωση οινόπνευματος ήταν ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου. Μια απλή εξήγηση είναι ότι η κατανάλωση οινόπνευματος μπορεί να οδηγήσει σε επισφαλή σεξουαλική συμπεριφορά και σε μη τήρηση μεθόδων αντισύλληψης. Εντούτοις, τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την πιθανή συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης οινόπνευματος και της HPV-λοίμωξης δεν είναι σαφή. Σε μια μελέτη βρέθηκε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης οινόπνευματος και της HPV-λοίμωξης, ενώ σε άλλη πρόσφατη μελέτη δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση.^{32,33} Στην παρούσα μελέτη, ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης μειωνόταν με την πάροδο της ηλικίας, σε αντίθεση με άλλες μελέτες οι οποίες ανέφεραν θετική συσχέτιση μεταξύ της HPV-λοίμωξης και της γήρανσης, αποδίδοντας το φαινόμενο αυτό στην απόκτηση ανοσίας έναντι της HPV-λοίμωξης που ενδεχομένως αναπτύσσεται με την πάροδο της ηλικίας.^{9,31,34,35} Η αρνητική συσχέτιση της HPV-λοίμωξης με την ηλικία στην παρούσα μελέτη μπορεί να αποδοθεί στη μείωση του αριθμού των ερωτικών συντρόφων και γενικά στη μείωση της σεξουαλικής δραστηριότητας με την πάροδο της ηλικίας.

Τέλος, το χαμηλό μηνιαίο εισόδημα ήταν ένας σημαντικός παράγοντας HPV-λοίμωξης στην παρούσα μελέτη. Δύο μελέτες στις ΗΠΑ έχουν δείξει ότι η HPV-λοίμωξη είναι συχνή στις γυναίκες με χαμηλό εισόδημα. Μια πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι η έλλειψη χρήσης μεθόδων αντισύλληψης, η υιοθέτηση ακραίων σεξουαλικών συμπεριφορών, το έλλειμμα γνώσης σε θέματα προαγωγής υγείας, καθώς και τα οικονομικά προβλήματα και η αδυναμία πρόσβασης σε υπηρεσίες υγείας.^{36,37}

Περιορισμοί της μελέτης

Η παρούσα μελέτη έχει ορισμένους περιορισμούς.

Είναι πολύ πιθανόν, οι εξεταζόμενες να μην απάντησαν σε όλες τις ερωτήσεις ειλικρινά όπως έχει δείξει προηγούμενη μελέτη.³⁸ Ο αριθμός των γυναικών και το ηλικιακό φάσμα στο δείγμα της μελέτης ήταν σχετικά περιορισμένο καθώς συμπεριελήφθησαν μόνο γυναίκες ηλικίας 16–45 ετών. Επομένως, τα αποτελέσματά της δεν μπορούν να γενικευτούν στο σύνολο του γυναικείου πληθυσμού της Ελλάδας. Εντούτοις, καθώς τα ευρήματα της παρούσας μελέτης προέρχονται από ένα κέντρο αναφοράς, παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τον επιπολασμό της HPV-λοίμωξης μεταξύ των ενηλίκων Ελληνίδων γυναικών.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, ο επιπολασμός της HPV-λοίμωξης σε δείγμα γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας είναι υψηλός. Ο αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων και η κατανάλωση οινόπνευματος ήταν οι σημαντικότεροι παράγοντες που σχετίζονταν με την HPV-λοίμωξη και ακολουθούσαν η νεαρή ηλικία και το χαμηλό μηνιαίο εισόδημα. Ωστόσο, απαιτούνται μεγαλύτερες επιδημιολογικές μελέτες προκειμένου να εκτιμηθεί ο ακριβής επιπολασμός της HPV-λοίμωξης στην Ελλάδα. Τα παραπάνω ευρήματα καθιστούν αναγκαία τη σημασία της έγκαιρης διάγνωσης, τη λήψη μέτρων και την εφαρμογή προληπτικών μεθόδων στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Ο ρόλος των νοσηλευτών στην οργάνωση και τη διεξαγωγή προγραμμάτων εκπαίδευσης με στόχο την ορθή, πλήρη και επιστημονικά τεκμηριωμένη ενημέρωση προς το γυναικείο πληθυσμό αναπαραγωγικής ηλικίας είναι επιβεβλημένος. Επομένως, η ενεργός συμμετοχή των νοσηλευτών, ως επαγγελματίες υγείας, αποτελεί το θεμέλιο λίθο για τη μεθόδευση και την υλοποίηση όλων των προγραμμάτων εκπαίδευσης που αφορούν στην πρωτογενή και τη δευτερογενή πρόληψη της HPV-λοίμωξης.

ABSTRACT

Prevalence of HPV Infection among Greek Women attending a Gynaecological Outpatient Clinic

Petroura Stamatakis,¹ Athanasia Papazafirovoulou,² Ioannis Elefsiniotis,³ Margarita Giannakopoulou,⁴ Hero Brokalaki,⁵ George Saroglou⁶

¹Lieutenant, PhD(c), MSc, RN, Faculty of Nursing, University of Athens, Head Nurse in Infection Control Department, Naval Hospital of Athens, Athens, ²Majoring in Pathology, PhD, Third Department of Internal Medicine, General Hospital of Nikaia, Piraeus, ³Associate Professor, Faculty of Nursing, University of Athens, Athens, ⁴Associate Professor, Faculty of Nursing, University of Athens, Athens, ⁵Assistant Professor, Faculty of Nursing, University of Athens, Athens, ⁶Professor, Faculty of Nursing, University of Athens, Athens, Greece

Aim: The aim of this study was to explore the prevalence and distribution of HPV in cervical smears from a sample of Greek women attending a gynaecological outpatient clinic, and to investigate possible determinants of the infection. **Method:** A total of 225

women were studied, all of whom attended for a regular gynaecological check at a gynaecological outpatient clinic during the period October 2007 to May 2008. Basic demographic information, sociodemographic characteristics and a sexual behaviour history were also recorded. Statistical analysis was performed using programmes available in the SPSS statistical package (SPSS 15.0.). **Results:** HPV infection was detected in 22.7% of the study population. The percentage of women newly diagnosed with HPV infection was 17.3%. HPV infection was correlated positively with alcohol consumption (OR: 2.19, 95% CI: 1.04–4.63, $p=0.04$) and the number of sexual partners (OR: 2.16, 95% CI: 1.44–3.25, $p<0.001$), and negatively with age (OR: 0.93, 95% CI: 0.87–0.99, $p=0.03$) and monthly income (OR: 0.63, 95% CI: 0.44–0.89, $p=0.01$). **Conclusions:** The prevalence of HPV in women attending a gynaecological outpatient clinic is high. The number of sexual partners and alcohol consumption were the most significant risk factors for HPV infection, followed by younger age and lower income. *NOSILEFTIKI* 2010, 49 (3): 255–263.

Key-words: age, human papilloma virus (HPV), monthly income, sexual partners

✉ **Corresponding Author:** Petroula Stamataki, 14 Kassandras street, GR-131 22 Ilion, Greece, tel.: +30 210 26 28 920, +30 6974 159 344, e-mail: stamatakis@yahoo.gr

Βιβλιογραφία

- Pisani P, Bari F, Parkin DM. Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *Int J Cancer* 2002, 97:72–81
- Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: A worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995, 87:796–802
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999, 189:12–19
- Franco EL, Schlecht NF, Saslow D. The epidemiology of cervical cancer. *Cancer J* 2003, 9:348–359
- Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007, 297:813–819
- Franceschi S, Rajkumar R, Snijders PJ, Arslan A, Mahé C, Plummer M et al. Papillomavirus infection in rural women in southern India. *Br J Cancer* 2005, 92:601–606
- Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: A pooled analysis. *Lancet* 2005, 366:991–998
- Panotopoulou E, Tserkezoglou A, Kouvousi M, Tsiaousi I, Chatzieleftheriou G, Daskalopoulou D et al. Prevalence of human papillomavirus types 6, 11, 16, 18, 31, and 33 in a cohort of Greek women. *J Med Virol* 2007, 79:1898–1905
- Agorastos T, Dinas K, Lloveras B, Bosch FX, Kornegay JR, Bontis JN et al. Cervical human papillomavirus infection in women attending gynaecological outpatient clinics in northern Greece. *Eur J Cancer Prev* 2004, 13:145–147
- Meijer CJ, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, van der Linden JC, Voorhorst FJ, Walboomers JM. HPV typing and testing in gynaecological pathology: Has the time come? *Histopathology* 1998, 33:83–86
- Rozendaal L, Walboomers JM, Van der Linden JC, Voorhorst FJ, Kenemans P, Helmerhorst TJ et al. PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective risk assessment of women with cytomorphologically normal cervical smears. *Int J Cancer* 1996, 68:766–769
- Harro CD, Pang YY, Roden RB, Hildesheim A, Wang Z, Reynolds MJ et al. Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 virus-like particle vaccine. *J Natl Cancer Inst* 2001, 93:284–292
- Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: A meta-analysis. *Br J Cancer* 2003, 88:63–73
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003, 348:518–527
- Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells* 1989, 7:209–214
- Evander M, Edlund K, Bodén E, Gustafsson A, Jonsson M, Karlsson R et al. Comparison of a one-step and a two-step polymerase chain reaction with degenerate general primers in a population-based study of human papillomavirus infection in young Swedish women. *J Clin Microbiol* 1992, 30:987–992
- Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR, Wacholder S, Castle PE, Glass AG et al. Baseline cytology, human papillomavirus testing, and risk for cervical neoplasia: A 10-year cohort analysis. *J Natl Cancer Inst* 2003, 95:46–52
- Kroupis C, Thomopoulou G, Papatthomas TG, Vourlidis N, Lazaris AC. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Athens, Greece. *Epidemiol Infect* 2007, 135:943–950
- Labropoulou V, Diakomanolis E, Dailianas S, Kalpaktsoglou K, Balamotis A, Mavromara P. Type-specific prevalence of genital human papillomaviruses in benign, premalignant, and malignant biopsies in patients from Greece. *Sex Transm Dis* 1997, 24:469–474
- Agorastos T, Bontis J, Lambropoulos AF, Constantinidis TC,

- Nasioutziki M, Tagou C et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in Greek asymptomatic women. *Eur J Cancer Prev* 1995, 4:159–167
21. de Sanjose S, Almirall R, Lloveras B, Font R, Diaz M, Muñoz N et al. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. *Sex Transm Dis* 2003, 30:788–793
 22. Pham TH, Nguyen TH, Herrero R, Vaccarella S, Smith JS, Nguyen Thuy TT et al. Human papillomavirus infection among women in South and North Vietnam. *Int J Cancer* 2003, 104:213–220
 23. Shin HR, Lee DH, Herrero R, Smith JS, Vaccarella S, Hong SH et al. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Busan, South Korea. *Int J Cancer* 2003, 103:413–421
 24. Lazcano-Ponce E, Herrero R, Muñoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P et al. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001, 91:412–420
 25. Matos E, Loria D, Amestoy GM, Herrera L, Prince MA, Moreno J et al. Prevalence of human papillomavirus infection among women in Concordia, Argentina: A population-based study. *Sex Transm Dis* 2003, 30:593–599
 26. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006, 118:3030–3044
 27. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006, 24(Suppl 3):S3/11–S25
 28. Clifford GM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gough G, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: Comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005, 14:1157–1164
 29. Bauer HM, Hildesheim A, Schiffman MH, Glass AG, Rush BB, Scott DR et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-risk women in Portland, Oregon. *Sex Transm Dis* 1993, 20:274–278
 30. Kjaer SK, van den Brule AJ, Bock JE, Poll PA, Engholm G, Sherman ME et al. Determinants of 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* 1997, 6:799–805
 31. Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA et al. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996, 23:333–341
 32. Sikström B, Hellberg D, Nilsson S, Mårdh PA. Smoking, alcohol, sexual behaviour and drug use in women with cervical human papillomavirus infection. *Arch Gynecol Obstet* 1995, 256:131–137
 33. Tolstrup J, Munk C, Thomsen BL, Svare E, van den Brule AJ, Grønbaek M et al. The role of smoking and alcohol intake in the development of high-grade squamous intraepithelial lesions among high-risk HPV-positive women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006, 85:1114–1119
 34. Syrjänen S, Shabalova I, Petrovichev N, Kozachenko V, Zakharova T, Pajanidi J et al. Acquisition of high-risk human papillomavirus infections and pap smear abnormalities among women in the New Independent States of the Former Soviet Union. *J Clin Microbiol* 2004, 42:505–511
 35. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman M, Hutchinson M, Morales J et al. A population-based study of all grades of cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000, 92:464–473
 36. Kahn JA, Lan D, Kahn RS. Sociodemographic factors associated with high-risk human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol* 2007, 110:87–95
 37. 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 US women exposed to oncogenic types of human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004, 13:1574–1582
 38. Catania JA, Gibson DR, Chitwood DD, Coates TJ. Methodological problems in AIDS behavioural research: Influences on measurement error and participation bias in studies of sexual behaviour. *Psychol Bull* 1990, 108:339–362