

# Detección del virus del papiloma humano de alto riesgo por captura híbrida II® según hallazgos citológicos en mujeres tratadas por lesiones escamosas intraepiteliales de cuello uterino, período 2006/2010

*Detection of high risk human papillomavirus by hybrid capture II® according cytological findings in women treated for squamous intraepithelial lesions of the cervix, period 2006/2010*

**Pamela Mongelós**  
**Malvina Páez**  
**Isabel Rodríguez-Riveros**  
**Graciela Giménez**  
**Amalia Castro**  
**Laura Mendoza**

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay.

Conflicto de interés: (nada a declarar).

**Correspondencia:** Laura Mendoza. Departamento de Salud Pública y Epidemiología, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Iturbe 1184, P.O. Box 2017, Asunción, Paraguay. E-mail: lauramendoza@torres@gmail.com

## Resumen

**Objetivo:** Determinar la frecuencia del virus de papiloma humano de alto riesgo oncogénico (HR-HPV) por captura híbrida II® (CH II®) según hallazgos citológicos en mujeres tratadas por lesiones escamosas intraepiteliales (SIL) de cuello uterino. **Material y Método:** Estudio descriptivo de corte transversal de una serie de casos, en donde se incluyeron 122 mujeres tratadas, 79 (65%) por SIL de bajo grado (LSIL) y 43 (35%) por SIL de alto grado (HSIL) que concurrieron al Laboratorio de HPV del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, para realizarse un control post-tratamiento, período 2006/2010. **Resultados:** Se observó un total del 28% (34/122) de mujeres tratadas por SIL positivas para HR-HPV, detectándose infección viral en un 20% de las mujeres con ausencia de SIL (NSIL) (22/108), 83% de las mujeres con LSIL (10/12) y 100% de las mujeres con HSIL (2/2). De las 34 mujeres positivas para HR-HPV, 10 mujeres (29%) presentaron valores altos (100 pg/mL o más) de carga viral relativa, detectándose un aumento de casos positivos con la severidad de la lesión (28% NSIL, 30% LSIL, 50% HSIL). **Conclusión:** La detección de HR-HPV por CH II®, así como los valores de carga viral relativa altos, en especial en mujeres con NSIL podrían ayudar a identificar mujeres tratadas con riesgo a desarrollar recidivas, contribuyendo así a fortalecer el programa de prevención de cáncer de cuello uterino.

**Palabras claves:** HPV. Control post tratamiento. Captura Híbrida II®. Mujeres Paraguayas. Carga viral relativa. Diagnóstico citológico.

## Abstract

**Objective:** To determinate the frequency of high risk human papillomavirus (HR-HPV) by hybrid capture II® (CH II®), according cytology results in women treated for squamous intraepithelial lesions of the cervix (SIL). **Material and Methods:** A descriptive cross-sectional study of a series of cases that included 122 women treated, 79 (75%) for low grade SIL (LSIL) and 43 (35%) for high grade SIL (HSIL) attending at the HPV Laboratory at the Health Sciences Research Institute (IICS), National University of Asunción (UNA), for post-treatment control during period 2006/2010. **Results:** A total of 28% (34/122) of women treated for SIL were positive for HR-HPV, detecting viral infection in 20% of women with no SIL (NSIL) (22/108), in 83% of women with LSIL (10/12) and in 100% of women with HSIL (2/2). Of 34 women positive for HR-HPV, 10 women (29%) had high values (100 pg / mL or more) of relative viral load, detecting an increase of positive cases with severity of the lesion (28% NSIL, 30% LSIL, 50% HSIL). **Conclusion:** HR-HPV detection by CH II® and high relative viral load values especially in women with NSIL could help to identify treated women at risk of developing recurrence, thereby contributing to strengthening the cervical cancer prevention program.

**Keywords:** HPV. Post-treatment control. Hybrid Capture II®. Paraguayan women. Relative viral load. Cytological diagnosis.

## Introducción

El cáncer de cuello uterino es el tercer cáncer más frecuente en mujeres en el mundo, con 529.828 nuevos casos y 275.128 muertes, de las cuales 31.712 se dieron en Latino América y el Caribe. El 85% de los casos nuevos ocurre en países en vías de desarrollo. La tasa de incidencia estandarizada por edad en América del Sur es de 24,1 x 100.000 mujeres. En Paraguay la tasa de incidencia y mortalidad es de 35,0 y 16,6 x 100.000 mujeres respectivamente. Esta tasa es muy superior a las registradas en otros países vecinos como Argentina, Brasil, Uruguay y Chile<sup>1</sup>.

El virus del papiloma humano (HPV) es un factor necesario para el desarrollo de cáncer de cuello uterino, existen más de 100 tipos de HPV, de ellos aproximadamente 40 infectan a la mucosa anogenital, éstos se clasifican según su potencial oncogénico en virus de alto riesgo (HR-HPV) y de bajo riesgo (LR-HPV), siendo los HR-HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, y 66) detectados en más del 95% de los casos de cáncer de cuello uterino<sup>2-5</sup>.

La citología, es un método sencillo y de bajo costo utilizado para detectar el efecto citopático producido por el virus, pero no determina el tipo viral. Debido a que el HPV no crece en cultivos celulares convencionales, en los últimos años se han utilizado métodos moleculares que pueden detectar el genotipo viral como captura híbrida II® (CH II®), que detecta 13 tipos de HR-HPV y proporciona un valor estimativo de carga viral<sup>6,7</sup>.

No existe aún tratamiento para eliminar la infección relacionada al HPV, pero si para las lesiones producidas por el virus. Las metodologías utilizadas para el tratamiento son: el procedimiento de escisión electroquirúrgica de lazo (*Loop Electrosurgical Escisión Procedure- LEEP*), crioterapia y conización. A pesar de la posibilidad de tratar las lesiones intraepiteliales producidas por el HPV existe probabilidad de recidiva o bien de desarrollar cáncer de cuello uterino. Si la lesión se extiende al

margen endocervical el riesgo de fracaso del tratamiento es mayor, inclusive mujeres que presentan márgenes libres de lesión poseen un riesgo de fracaso del tratamiento del 2-6%, independientemente del tratamiento utilizado. La razón acumulada de invasión en 8 años después del tratamiento es de 5,8 por 1000 mujeres, lo cual a su vez es 5 veces mayor que en la población general<sup>8-14</sup>.

Además de considerar los márgenes quirúrgicos comprometidos como un factor de recidiva, existen otros cofactores que favorecen la persistencia o recurrencia de lesiones escamosas intraepiteliales luego del tratamiento tales como, edad, paridad, diagnóstico citológico y grado de lesión previo al tratamiento<sup>15</sup>.

Por lo expuesto es importante un continuo y metódico seguimiento luego del tratamiento. Estudios recientes sugieren que el uso combinado de la citología junto con la CH II®, aumentan la efectividad para seleccionar mujeres tratadas con riesgo de desarrollar lesión escamosa intraepitelial (SIL) residuales o recidivas, a los seis meses del tratamiento<sup>16-19</sup>.

En Paraguay, estudios previos han observado una alta frecuencia de HR-HPV en mujeres con ausencia de lesión de cuello uterino, así como de co-factores de riesgo (elevado número de parejas sexuales, multiparidad, entre otros) asociados al desarrollo de cáncer de cuello uterino, comparable o mayor a los detectados en otros países en vías de desarrollo, lo cual podría explicar en parte la alta incidencia de este cáncer en nuestro país<sup>20-23</sup>.

En el país no existen trabajos sobre la frecuencia de HR-HPV en mujeres tratadas por SIL, por ello, considerando la conducta sexual de riesgo de las mujeres paraguayas que podría favorecer la adquisición de infección viral pos-tratamiento y aumentar el riesgo de recidiva, el objetivo del presente estudio preliminar fue determinar la frecuencia de HR-HPV por CH II® según resultados citológicos en mujeres tratadas por SIL de cuello uterino, periodo 2006-2010.

## Materiales y Métodos

### Población

Estudio descriptivo de corte transversal de una serie de casos, realizado con 122 mujeres tratadas de lesiones de cuello uterino que acudieron consecutivamente al Departamento de Salud Pública y Epidemiología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA) en el periodo 2006/2010 con indicación médica para realizarse la detección de HR-HPV por CH II®.

Las mujeres tratadas fueron derivadas al IICS, UNA, de distintos Centros de Salud Públicos y Privados del Departamento Central de Paraguay. En el presente estudio se incluyeron mujeres que contaron con un diagnóstico cito-histológico de la lesión previo al tratamiento, que fueron tratadas con una antecedencia de al menos 6 meses y que posterior al tratamiento contaron con un diagnóstico citológico actualizado al momento de realizarse la detección de HR-HPV por CH II®. Se excluyeron aquellas que acudieron al IICS, UNA, con más de 2 años de haberse realizado el tratamiento. El tratamiento aplicado dependió del criterio médico y se basó en el Manual Nacional de Normas y Procedimientos para la Prevención y el Control de Cáncer de Cuello Uterino del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social del Paraguay<sup>24</sup>.

Previo al tratamiento, de las 122 mujeres, 79 presentaron diagnóstico histológico confirmado de SIL de bajo grado (LSIL) y 43 de SIL de alto grado (HSIL). Del total de mujeres, 97 fueron tratadas con LEEP y 25 con conización.

A todas las mujeres incluidas se les realizó un cuestionario que constaba de datos demográficos, antecedentes socioeconómicos, gineco-obstétricos y de conducta sexual. Toda la información fue procesada respetando la confidencialidad de las pacientes. El trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del IICS de la Universidad Nacional de Asunción, N° M07/10.

El tamaño de muestra mínimo de 144 mujeres tratadas fue calculado utilizando la tabla del apéndice 13E para un estudio descriptivo con variable dicotómica, considerando un 30% la frecuencia esperada de HR-HPV luego del tratamiento, con una amplitud ( $\omega$ ) del 0,15 y un intervalo de confianza del 95%<sup>25</sup>.

#### *Detección de lesiones de cuello uterino en las mujeres tratadas por citología*

El estudio citológico fue realizado en los Centros de Salud participantes. La toma de muestra consistió en un cepillado de cuello uterino que fue colocado en una lámina esmerilada correctamente identificada. Brevemente, las láminas fueron sumergidas por 15 minutos en un recipiente de boca ancha con alcohol rectificado (96 %) suficiente para cubrir toda la superficie de la misma. Luego, se retiró la lámina del recipiente dejándola secar durante 10 minutos y se colocó spray fijador. Los resultados citológicos fueron clasificados según el sistema Bethesda 2001<sup>26</sup>.

#### *Detección de HR-HPV en las mujeres tratadas por CH II*

La muestra fue colectada en el IICS, UNA, utilizando un cepillo endocervical (*cytobrush*), el cual fue introducido en un tubo colector, proveído por la empresa fabricante, Qiagen (Alemania).

Las muestras fueron procesadas por el método de CH II que detecta 13 tipos de HR-HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68. Siguiendo el protocolo del fabricante, las muestras cervicales fueron tratadas con hidróxido de sodio a fin de desnaturalizar el DNA. El DNA de simple hebra se hibridizó en solución con un coctel de sondas de RNA de los 13 tipos de HR-HPV. Cada mezcla de reacción conteniendo algún híbrido RNA-DNA, fue trasferido a una microplaca de pocillos sensibilizados con anticuerpos contra híbridos, permitiendo su inmovilización. El RNA-DNA híbrido ligado al anticuerpo fue puesto en contacto con un segundo anticuerpo conjugado a una fosfatasa alcalina. El material no ligado

fue removido por sucesivos lavados, luego se agregó un reactivo quimioluminiscente (Lumi-Phos 530), como sustrato para la fosfatasa alcalina. La luminiscencia producida por la reacción fue medida por un luminómetro. La unidad de medida de luz fue expresada como unidades relativas de luz (RLUs). Los controles positivos y negativos proveídos por Qiagen fueron utilizados por triplicado.

El valor de carga viral relativa fue obtenido comparando las URL de la muestra con las del control positivo (URL/CP). Se consideró positiva la muestra con valores de URL/CP  $\geq 1,0$  pg/mL. La carga viral relativa fue dividida en cuatro categorías según sus valores de pg/mL; de 1 a menores que 10 pg/mL (carga viral relativa baja), de 10 a menores que 100 (carga viral relativa intermedia), de 100 a menores que 1000 (carga viral relativa alta), igual o mayores que 1000 (carga viral relativa muy alta)<sup>27</sup>.

Cabe destacar, que los profesionales que participaron en el procesamiento de las muestras e informe de resultados de CH II® desconocieron los resultados de citología, por tanto, existió independencia en la lectura de resultados de ambas metodologías.

#### *Análisis Estadístico*

El análisis de los datos se realizó empleando procedimientos de estadística descriptiva y el programa (CDC, Atlanta) EpiInfo versión 3.2. Para identificar la asociación entre tipo de tratamiento, tiempo transcurrido a partir del tratamiento y frecuencia de la infección por HPV se realizó el análisis de Chi cuadrado por el programa de EpiInfo versión 3,2. Para todos los análisis de datos realizados, los valores de  $p \leq 0,05$  fueron considerados estadísticamente significativos.

## **Resultados**

La edad promedio de las 122 mujeres incluidas en el estudio fue de  $34 \pm 10$  años (IC<sub>95%</sub> 17-67). Fue posible obtener información acerca de las características socioeconómicas, antecedentes obstétricos y de conducta sexual del 86% de la población en

**Tabla 1** - Características socioeconómicas, antecedentes obstétricos y conducta sexual de las mujeres tratadas por lesiones escamosas intraepiteliales de cuello uterino.

**Table 1** - Socioeconomic characteristics, obstetric history and sexual behavior among women treated for cervical squamous intraepithelial lesions.

| VARIABLES*  | n (%)   |
|---|---------|
| <b>Nivel Académico</b>                              |         |
| Primaria completa                                   | 32 (30) |
| Secundaria completa y más                           | 73 (70) |
| <b>Hábito de fumar</b>                              |         |
| Si  | 7 (7)   |
| No  | 98 (93) |
| <b>Uso de Anticonceptivo hormonal</b>               |         |
| Si  | 35(33)  |
| No  | 70(67)  |
| <b>Embarazo</b>                                     |         |
| Presencia   | 80 (76) |
| Ausencia  | 25 (24) |
| <b>Nº de embarazos</b>                              |         |
| >2  | 34 (32) |
| ≤2  | 46 (44) |
| <b>Edad en el primer embarazo</b>                   |         |
| ≤19   | 28 (27) |
| >19   | 52 (50) |
| <b>Edad de inicio de relaciones sexuales (años)</b> |         |
| <19   | 57(54)  |
| ≥19   | 48 (46) |
| <b>Nº de parejas sexuales</b>                       |         |
| >2  | 40 (38) |
| ≤2  | 65 (62) |

\*Fue posible obtener información acerca de las características socioeconómicas, antecedentes obstétricos y conducta sexual del 86% de la población en estudio (105/122 mujeres).

\* Information about socioeconomic characteristics, obstetric history and sexual behavior could be obtained from 86% of the study population (105/122 women).

estudio (105/122 mujeres) (Tabla 1).

En total se observó un 28% (34/122) de mujeres tratadas por SIL positivas para HR-HPV, detectándose infección viral en un 20% de las mujeres con ausencia de SIL (NSIL) (22/108), 83% de las mujeres con LSIL (10/12) y 100% de las mujeres con HSIL (2/2) (Tabla 2).

Cabe destacar, que no se observaron diferencias significativas entre las frecuencias de HR-HPV según tipo de tratamiento, presentando presencia de infección viral 27/97 (28%) mujeres tratadas con LEEP y 7/25 (28%) mujeres tratadas con conización (p = 0,7).

Con respecto al tiempo transcurrido a

partir del tratamiento, no se observó diferencia significativa entre las frecuencias de HR-HPV en las mujeres que asistieron para realizarse detección de infección viral hasta 1 año posterior al tratamiento (32% 25/77 mujeres), y las que asistieron luego del año (20%, 9/45 mujeres), p = 0,1.

En relación a la carga viral relativa, del total de mujeres positivas para HR-HPV se observó un 29% (10/34) con valores altos o más. Según el diagnóstico citológico, presentaron valores de carga viral relativa alta o más un 28% de mujeres con NSIL, 30% con LSIL y 50% con HSIL. Cabe destacar que en mujeres con HSIL no se observaron valores de carga viral relativa baja (Tabla 3).

**Tabla 2** - Resultado de HR-HPV por CH II® en mujeres tratadas por lesiones escamosas intraepiteliales según el diagnóstico citológico.

**Table 2** - HR-HPV results for CH II® in women treated for cervical squamous intraepithelial lesions according cytologic diagnosis.

| Diagnóstico citológico | n   | Infección por HR-HPV |                |
|------------------------|-----|----------------------|----------------|
|                        |     | Positivo n (%)       | Negativo n (%) |
| NSIL                   | 108 | 22 (20)              | 86 (80)        |
| LSIL                   | 12  | 10 (83)              | 2 (17)         |
| HSIL                   | 2   | 2 (100)              | 0 (0)          |
| Total                  | 122 | 34(28)               | 88(72)         |

HR-HPV: virus del papiloma humano de alto riesgo; NSIL: ausencia de lesión intraepitelial escamosa; LSIL: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; HSIL: lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

HR-HPV: high risk human papilloma virus; NSIL: no squamous intraepithelial lesion, LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high grade squamous intraepithelial lesion.

**Tabla 3** - Frecuencia de mujeres tratadas por lesiones escamosas intraepiteliales positivas para HR-HPV por CH II® según valores de carga viral relativa.

**Table 3** - Frequency of women treated for cervical squamous intraepithelial lesions positive for HR-HPV by CH II® according relative viral load values.

| Diagnóstico citológico | Valores de carga viral relativa (pg/mL) |                       |                        |                        | Total n |
|------------------------|---|-----------------------|------------------------|------------------------|---------|
|                        | Baja (1 <10) n (%)                      | Media (10 <100) n (%) | Alta (100 <1000) n (%) | Muy alta (≥1000) n (%) |         |
| NSIL                   | 10 (45)                                 | 6 (27)                | 4 (18)                 | 2 (10)                 | 22      |
| LSIL                   | 5 (50)                                  | 2 (20)                | 2 (20)                 | 1 (10)                 | 10      |
| HSIL                   | 0 (0)                                   | 1 (50)                | 1 (50)                 | 0 (0)                  | 2       |
| Total                  | 15 (44)                                 | 9 (26)                | 7 (21)                 | 3 (9)                  | 34      |

NSIL: ausencia de lesión intraepitelial escamosa; LSIL: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado; HSIL: lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

NSIL: no squamous intraepithelial lesion; LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion; HSIL: high grade squamous intraepithelial lesion.

## Discusión

El Paraguay, es un país con alta incidencia de lesiones pre-neoplásicas y cáncer de cuello uterino, considerándose este un problema de salud pública. El estudio realizado presenta resultados preliminares de la detección de HR-HPV por CH II® según diagnóstico citológico en mujeres tratadas por SIL.

En el presente trabajo la frecuencia de mujeres tratadas por SIL positivas para HR-HPV (28%) fue comparable o mayor a las detectadas en Brasil de 33% (22/67 mujeres) y 22% (16/74 mujeres); Corea del 18% (44/243 mujeres) y Bélgica del 29% (21/72 mujeres), presentando en estos estudios las mujeres

positivas para HR-HPV una alta frecuencia del 18 al 44% de recidivas de SIL<sup>16,28-30</sup>. Lo cual sugiere, que realizar la detección de HR-HPV post-tratamiento, podría ser una herramienta útil en el seguimiento y orientación de las mujeres tratadas.

En relación a la citología, 20% de mujeres con NSIL fueron positivas para HR-HPV. Esta falta de concordancia entre CH II® y la citología podría deberse a que la técnica de CH II® permite detectar la presencia viral aun en ausencia de lesión<sup>6,22</sup>. Estudios previos sugieren que mujeres con NSIL y positivas para HR-HPV poseen mayor riesgo de desarrollar lesiones de cuello uterino, observando Koutsky et al, que un 30% de mujeres con diagnóstico citológico normal

y positivas para HR-HPV desarrollaron lesión intraepitelial en el transcurso de 2 años. Cabe destacar, que el 80% (86/122) de mujeres con NSIL presentaron resultados negativos para HR-HPV, las cuales, considerando el alto valor predictivo negativo de CH II®, presentan un riesgo reducido de desarrollar lesiones de alto grado<sup>14,16-18,31-35</sup>.

Los resultados observados en el presente trabajo sugieren que la frecuencia de HR-HPV en las mujeres tratadas no varía en relación al tipo de tratamiento y al tiempo transcurrido para realizarse el control post tratamiento (hasta 2 años), lo cual podría deberse a que existen otros factores que podrían influir en la persistencia de infección por HR-HPV posterior al tratamiento. Estudios previos observaron que mujeres con HSIL infectadas con HPV 16, 18, 33 y 45, así como con múltiples tipos de HPV pre-LEEP o conización, poseen una frecuencia significativamente mayor de recidivas o recurrencias de la infección viral después del tratamiento<sup>15,36,37</sup>.

Con respecto a la carga viral relativa, trabajos previos sugieren que pacientes con carga viral relativa alta y persistente presentan un riesgo aumentado a desarrollar HSIL en un corto periodo de tiempo inclusive en ausencia de alteraciones citológicas detectables<sup>38,39</sup>. En concordancia a los resultados observados en este estudio, en relación al diagnóstico citológico, al aumentar la severidad de SIL se observó

una mayor frecuencia de mujeres con una carga viral alta o muy alta. Cabe destacar, que en mujeres con HSIL no se observaron valores de carga viral relativa baja, lo que indica al igual que otros trabajos que mujeres positivas para HR-HPV con carga viral relativa baja presentan menor probabilidad de desarrollar lesiones de HSIL. Por tanto, los resultados sugieren que los valores de carga viral relativa podrían contribuir a orientar el control post tratamiento de las mujeres, identificando las mujeres con mayor riesgo de volver a desarrollar lesión de cuello uterino<sup>38,39</sup>.

A pesar que el presente estudio posee algunas limitaciones, debido a que no fue posible completar el tamaño de muestra de 144 mujeres y no se contaron con los datos de carga viral relativa de las mujeres previo al tratamiento, los resultados observados sugieren que la utilización de la CH II® para detección de HR-HPV y determinación de la carga viral relativa en forma complementaria a la citología podrían contribuir a identificar mujeres tratadas por lesiones pre-neoplásicas con mayor riesgo de desarrollar recidivas. Los datos obtenidos podrían contribuir a fortalecer el Programa Nacional de Prevención, Detección y Tratamiento de Cáncer de Cuello Uterino, del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSP y BS), el cual está orientado a mejorar el servicio en las unidades de Atención Primaria de la Salud (APS).

## Referencias Bibliográficas

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-917.
2. Carestiatto FN, Silva KC, Dimetz T, Oliveira LH, Cavalcanti SM. Prevalence of human papillomavirus infection in the genital tract determined by hybrid capture assay. *Braz J Infect Dis* 2006; 10(5): 331-6.
3. zur Hausen H. Papillomavirus infections-a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1288(2): 55-78.
4. 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(1): 12-9.
5. Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, et al. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 2004; 103(2): 304-9.
6. Dôres GB, Taromaru EK, Bonomi CG, Longatto Filho A, Gilli NP, Matsubara S, et al. HPV infection detected by hybrid capture II: correlation with morphological findings. *DST - J Bras Doenças Sex Transm* 2005; 17(4): 255-8.

7. Carvalho MOO, Almeida RW, Leite FMS. Detection of Human Papillomavirus DNA by the Hybrid Capture Assay. *Braz J Infect Dis* 2003; 7(2): 121-5.
8. Kucera E, Sliutz G, Czerwenka K, Breitenecker G, Leodolter S, Reinthaller A. Is high-risk human papillomavirus infection associated with cervical intraepithelial neoplasia eliminated after conization by large-loop excision of the transformation zone? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 100: 72-6.
9. Nagai Y, Maehama T, Asato T, Kanazawa K. Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol Oncol* 2000; 79: 294-9.
10. Bollen LJM, Tjong-A-Hung SP, van der Velden J, Mol BW, ten Kate FW, ter Schegget J et al. Prediction of recurrent and residual cervical dysplasia by human papillomavirus detection among patients with abnormal cytology. *Gynecol Oncol* 1999; 72: 924-9.
11. Flannelly G, Laughan H, Jandial L, Mann E, Campbell M, Kirtchener H. A study of treatment failures following large loop excision of the transformation zone for the treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104: 718-22.
12. Gardeil F, Barry-Walsh C, Prendiville W, Clinch J, Turner M. Persistent intraepithelial neoplasia after excision for cervical intraepithelial neoplasia grade III. *Obstet Gynecol* 1997; 89: 419-22.
13. Mohamed-Noor K, Quinn MA, Tan J. Outcomes after surgical cold knife conization with complete and incomplete excision of abnormal epithelium: a review of 699 cases. *Gynecol Oncol* 1997; 67: 34-8.
14. Soutter WP, de Barros Lopes A, Fletcher A, Monaghan JM, Duncan ID, Paraskevaidis E et al. Invasive cervical cancer after conservative therapy for cervical intraepithelial neoplasia. *Lancet* 1997; 349: 978-80.
15. Nam K, Chung S, Kim J, Jeon S, Bae D. Factors associated with HPV persistence after conization in patients with negative margins. *J Gynecol Oncol* 2009; 20(2): 91-5.
16. Park JY, Bae J, Lim MC, Lim SY, Lee DO, Kang S et al. Role of high risk-human papilloma virus test in the follow-up of patients who underwent conization of the cervix for cervical intraepithelial neoplasia. *J Gynecol Oncol* 2009; 20(2): 86-90.
17. Jeong NH, Lee NW, Kim HJ, Kim T, Lee KW. High-risk human papillomavirus testing for monitoring patients treated for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Obstet Gynaecol Res* 2009; 35(4): 706-11.
18. Ribaldone R, Boldorini R, Capuano A, Arrigoni S, Di Oto A, Surico N. Role of HPV testing in the follow-up of women treated for cervical dysplasia. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 282(2): 193-7.
19. Aerssens A, Claeys P, Beerens E, Garcia A, Weyers S, Van Renterghem L, et al. Prediction of recurrent disease by cytology and HPV testing after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Cytopathology* 2009; 20(1): 27-35.
20. Rolón PA, Smith JS, Muñoz N, Klug SJ, Herrero R, Bosch X et al. Human papillomavirus infection and invasive cervical cancer in Paraguay. *Int J Cancer* 2000; 85(4): 486-91.
21. Ruoti de García de Zúñiga M, Arram de Fresco CH, Ruoti Cosp M, Orué E. Conocimientos, actitudes y prácticas sobre el test de Papanicolau (PAP) en mujeres embarazadas consultantes de hospitales públicos del Departamento de Alto Paraná, *Paraguay Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2008; 6(2): 48-58.
22. Mendoza L, Páez M, Insaurralde A, Rodríguez MI, Castro A, Kasamatsu E. Detection of High Risk Human Papillomavirus Cervical Infections by the Hybrid Capture in Asunción, Paraguay. *Braz J Infect Dis* 2009; 13(3): 207-10
23. WHO/ICO. Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). *Human Papillomavirus and Related Cancers in Paraguay. Summary Report 2010*. Available at: [www.who.int/hpvcentre](http://www.who.int/hpvcentre). [Accessed March 2011]
24. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. *Manual Nacional de Normas y Procedimientos para la Prevención y el Control del Cáncer de Cuello Uterino*. Asunción: OPS; 2010.
25. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M et al. For the Forum Group Members and the Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System. Terminology for Reporting Results of Cervical Cytology. *JAMA* 2002; 287: 2114-9.
26. Browner WS, Black D, Newman TB, Hulley SB. Estimación del tamaño de muestra y de la potencia. En: Hulley SB Cumming SR. *Diseño de la investigación clínica. Un enfoque epidemiológico*. Barcelona: Ediciones Doyma S.A.; 1993. pp. 153-65.
27. Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, Scott DR, Glass AG, Wacholder S. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN 3 or cervical cancer. *Lancet* 2002; 360(9328): 228-9.
28. Verguts J, Bronselaer B, Donders G, Arbyn M, Van Eldere J, Drijkoningen M et al. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus testing and age at conisation. *BJOG* 2006; 113(11): 1303-7.
29. Sarian LO, Derchain SF, Pittal Dda R, Andrade LA, Morais SS, Figueiredo PG. Human papillomavirus detection by hybrid capture II and residual or recurrent high-grade squamous cervical intraepithelial neoplasia after large loop excision of the transformation zone (LLETZ). *Tumori* 2005; 91(2): 188-92.
30. Figueirêdo PG, Derchain SF, Sarian LO, Gontijo RC, Andrade LA, Campos EA et al. Detecção do DNA do Papilomavírus Humano após Excisão da Zona de Transformação com Alça Diatérmica para Tratamento de Neoplasia Intra-epitelial Cervical. *RBGO* 2003; 25(1): 9-15.

31. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; 119(5): 1095-101.
32. Castle PE, Wacholder S, Sherman ME, Lorincz AT, Glass AG, Scott DR et al.. Absolute risk of a subsequent abnormal pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women. *Cancer* 2002; 95(10): 2145-51.
33. Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckmann AM et al. A cohort study of the risk of cervical neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992; 327: 1272-8.
34. Mergui JL, Levêque J. What kind of follow-up after surgical treatment for high-grade cervix lesion? *Gynecol Obstet Fertil* 2008; 36(4): 441-7.
35. Riethmuller D, Gabelle C, Ramanah R, Sautière JL, Prétet JL, Schaal JP, et al. Importance of human papillomavirus (HPV) screening in the follow-up after CIN2-3 treatment. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2008; 37(4): 329-37.
36. Cecchini S, Carozzi F, Confortini M, Zappa M, Ciatto S. Persistent human papilloma virus infection as an indicator of risk of recurrence of high-grade cervical .intraepithelial neoplasia treated by the loop electrosurgical excision procedure. *Tumori* 2004; 90(2): 225-8.
37. Wu D, Zheng Y, Chen W, Guo C, Yu J, Chen G, Huang Y. Prediction of residual/recurrent disease by HPV genotype after loop excision procedure for high-grade cervical intraepithelial neoplasia with negative margins. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2011; 51(2): 114-8.
38. Dalstein V, Riethmuller D, Prétet JL, Le Bail Carval K, Sautière JL, Carbillet JP et al. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study. *Int J Cancer* 2003; 106: 396-403.
39. Jeong NH, Lee NW, Kim HJ, Kim T, Lee KW. High-risk human papillomavirus testing for monitoring patients treated for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Obstet Gynaecol Res* 2009; 35(4): 706-11.

Recebido em: 26/07/12  
 Versão final apresentada em: 22/10/12  
 Aprovado em: 31/10/12