



ORIGINAL

La carga viral no es un factor pronóstico en LSIL

Francesc Alameda^{a,*}, Gemma Mancebo^b, Sergi Mojal^c, Lara Pijuan^a, Belén Lloveras^a, Emilia Romero^a, Inmaculada Soler^a, Mercè Bosch^a, Amparo Quiñonero^a, Fernando Larrazabal^b, Ramón Carreras^b y Sergi Serrano^a

^a Servicio de Anatomía Patológica, Hospital del Mar, Barcelona, España

^b Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital del Mar, Barcelona, España

^c Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

Recibido el 22 de febrero de 2011; aceptado el 12 de abril de 2011

Disponible en Internet el 12 de junio de 2011

PALABRAS CLAVE

LSIL;
Persistencia;
Progresión;
Seguimiento;
Carga viral

KEYWORDS

LSIL;
Persistence;
Progression;
Follow-up;
Viral load

Resumen

Objetivo: Estudiar el valor de la carga viral para predecir la persistencia y/o la progresión en LSIL.

Diseño del estudio: Estudio prospectivo. Todos los casos diagnosticados como LSIL en el año 2006, y seguidos a los 6, 12 y 24 meses después del diagnóstico.

Método: Citología líquida (*ThinPrep*[®], Hologic, Malborough, MA, EE. UU.) para realizar el estudio citológico. Test de captura de híbridos (HCII-HR, Quiagen, Hilden, Alemania), utilizando el test para determinar la presencia de VPH de alto riesgo.

Resultados: De los 102 casos, 87 fueron HPV positivos (85,3%). La persistencia o progresión se observó en el 54% de los casos en el primer control, en el 42,4% en el segundo control y en el 33,3% en el tercer control. No se demostró lesión en el seguimiento en el 46% de los casos en el primer control, en el 57% de los casos en el segundo control y en el 66,7% de los casos en el tercer control. Diecinueve casos progresaron a HSIL: 11 detectados en el primer control, 6 en el segundo y 2 en el tercero. La sensibilidad para HSIL nunca superó el 89%, con una especificidad siempre menor del 40%.

Conclusiones: La determinación de la carga viral mediante HC2 en LSIL no es útil para predecir su comportamiento.

© 2011 SEAP y SEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Viral load is not a prognostic factor in LSIL

Abstract

Objective: To study the HPV viral load (VL) in the prediction of the persistence and/or progression in LSIL cases.

Study design: Prospective study. 102 consecutive cases diagnosed as LSIL in 2006 with follow-ups at 6, 12 and 24 months subsequent to diagnosis.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: 86780@imas.imim.es (F. Alameda).

Method: Liquid based cytology (*ThinPrep*[®], Hologic, Malborough, MA, USA), for the cytological study. Hybrid Captute II Test (HCII-HR, Quiagen, Hilden, Germany), for the determination of the presence or absence of High-Risk HPV.

Results: 87 of the 102 cases studied were HR-HPV positive (85.3%). The presence or progression was detected in 54%, 42% and 33.35% of the cases in the first, second and third controls respectively. No lesion was demonstrated in 46%, 57% and 66.7% of the cases at first, second and third controls respectively. 19 cases progressed to HSIL; 11 of which were detected on the first control, 6 on the second and 2 on the third. The sensitivity of the VL for detecting HSIL never exceeded 89%, with a specificity always inferior to 40%.

Conclusion: The VL determined by the HC2 method is not a useful indicator of prognosis in the follow-up of LSIL cases.

© 2011 SEAP y SEC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Existe una estrecha relación entre la infección por VPH y la incidencia de SIL¹. En la actualidad se acepta que la práctica del test de VPH añadido a la citología cervicovaginal podría detectar la mayor parte de displasias cervicales². En la práctica, los test de detección de VPH se dirigen a la detección de los VPH de alto riesgo. El test de captura de híbridos (HC2) es el más extendido, dadas sus ventajas^{1,3}. El test discrimina entre dos grupos de pacientes: las negativas (VPH-AR-) y las positivas (VPH-AR+).

Podemos encontrarnos con una determinación de VPH-AR negativa en el contexto de un diagnóstico citológico negativo o con lesión. Estas pacientes no desarrollan HSIL cualquiera que sea la lesión citológica inicial⁴⁻⁹.

Cuando la determinación de VPH-AR es positiva, en el contexto de una citología negativa o con lesión de bajo grado, parece conveniente repetir un control al cabo de un tiempo, dado que una sola determinación positiva no parece suficiente para evaluar el riesgo real de desarrollo de CIN, y no significa que la paciente tenga una lesión cervical subyacente en ese momento^{4-8,10}. La mayoría de recomendaciones indican una repetición a los 6 meses^{11,12}. Si en la repetición la infección se negativiza, el riesgo de desarrollar HSIL es bajo, cualquiera que sea la lesión inicial⁴. Si en la repetición se demuestra infección persistente, existe riesgo de desarrollo de HSIL, dado que la progresión de las lesiones se ha observado solamente en mujeres con infección persistente^{4,7,13,14}.

El test de HC2 da una idea de la carga viral, es decir, la cantidad aproximada de virus que contiene una muestra. La primera determinación de la carga viral puede tener su importancia en relación con la evolución de la lesión por lo que respecta tanto a cargas virales bajas y desaparición de la lesión^{4,10} como a cargas virales altas y persistencia/progresión de la lesión^{2-8,10,13,15-24}. Sin embargo, cargas virales bajas no significan necesariamente desaparición de la lesión⁴, y cargas virales altas no significan necesariamente persistencia/progresión de la lesión⁸.

Por lo tanto, la carga viral en la primera determinación, medida mediante HC2, podría considerarse un factor de riesgo para la persistencia de la infección y la progresión a lesiones de alto grado¹³, pero no es utilizable para predecir el desarrollo de HSIL^{10,25,26}.

La utilización de otros métodos parece controvertida. Algunos autores piensan que la carga viral sería altamente

predictiva para el desarrollo futuro de lesiones cervicales de alto grado^{16-18,27,28}, mientras que para otros no es así^{2,5,7,22,29,30}.

¿Qué valor tiene la persistencia de la lesión y/o de la carga viral en la segunda determinación? Parece que el incremento de la carga viral en la segunda determinación significa un factor de riesgo importante para el desarrollo de HSIL^{19,23}, y además parece existir una asociación estrecha entre el desarrollo de anomalías citológicas, persistencia de infección e incremento de carga viral²².

El test de HC2 no distingue entre los tipos de VPH de alto riesgo presentes en una muestra. Parece que el tipo de virus puede tener importancia clínica, en especial el VPH 16^{7,16,17,28,31}. Además, la persistencia de la infección se ha mostrado como un marcador pronóstico para desarrollar lesiones^{4,11,12,14,32}, particularmente cuando la infección es producida por VPH 16 y 18³².

Las pacientes con diagnóstico de LSIL constituyen una fuente de inquietud para el ginecólogo, dado que no existe ninguna prueba de fácil realización que permita establecer un pronóstico para estas pacientes. La determinación de HPV mediante HC2 no discrimina lo suficiente entre dos grupos de población, como sucede en las pacientes con diagnóstico de ASCUS^{1,18}, de modo que estas pacientes son sometidas a controles periódicos mediante citología, determinación de VPH y colposcopia^{9,25,33,34}. Ni un solo test de VPH ni la repetición de la citología son útiles para seleccionar mujeres con LSIL¹⁸. La utilidad de la carga viral en LSIL es limitada, tanto si usamos HC2 como si empleamos RT-PCR, debido a la alta prevalencia de infección por HPV de alto riesgo en LSIL. Sin embargo, la carga viral puede tener un papel en el seguimiento de estas lesiones^{21,24}. Nuestra intención en este trabajo es examinar el valor de la carga viral mediante HC2 en el momento del diagnóstico, y el valor de la carga viral y el diagnóstico citológico en el primer control en pacientes con diagnóstico de LSIL, con respecto a la aparición posterior de HSIL comprobada por biopsia.

Material y método

Pacientes

Un total de 102 pacientes HIV negativas diagnosticadas de LSIL. Todas las pacientes fueron seguidas con citología y determinación de HPV, así como biopsia en los casos clíni-

Tabla 1 LSIL. Relación entre edad y VPH

Edad (N)	VPH+ (CVM)	VPH-
< 26 (17)	16 (1045,8)	1
26-45 (68)	57 (795,9)	11
> 45 (17)	14 (627,6)	3
T: 102	87 (814,7)	15

CVM: carga viral media, medida con HC2 y expresada en unidades relativas de luz (RLU).

camente pertinentes, a los 6, 12 y 24 meses después del diagnóstico. Todos los casos diagnosticados como HSIL fueron biopsiados y, en su caso, tratados quirúrgicamente.

Citología

Citología en base líquida (*ThinPrep*[®], Hologic, Malborough, MA, EE. UU). Las muestras fueron obtenidas usando un cepillo *Cervex-brush*[®] y diluidas en *Preserv-cyt*[®]. Los viales fueron procesados automáticamente usando el T.3000 (Hologic). Las preparaciones fueron teñidas siguiendo el método de Papanicolaou y el cribado fue realizado manualmente.

Determinación de VPH

La detección de VPH se realizó en el momento del diagnóstico de LSIL usando el resto de material conservado en el frasco de *ThinPrep*[®], mediante la prueba de captura de híbridos de segunda generación (HC-II Test) (HR-HPV DNA, Qiagen, Hilden, Alemania). Previamente las muestras fueron tratadas con el kit de conversión para el test de HC-II siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Este test se basa en la hibridación de ácidos nucleicos en microplaca, obteniendo una señal detectada por quimioluminiscencia. La cantidad de luz generada por el método de HC-II es proporcional al ADN problema en el espécimen, dando una idea aproximada de la cantidad de virus que contiene la muestra. La señal se mide en unidades relativas de luz, estableciendo como corte para distinguir entre positivo y negativo la cantidad de 1 pg/ml.

Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se han descrito con mediana y percentiles 25 y 75. Las variables cualitativas se han descrito mediante frecuencia y porcentaje. Para comparar estas variables se han aplicado los test no paramétricos de Mann Whitney y el test de Wilcoxon. Una $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativa. El análisis estadístico se realizó usando *SSPS*[®] v.15 software (*SSPS Inc.* Chicago, IL).

Resultados

La edad media de las pacientes fue de 36 años (17-70 años). De las 102 pacientes, 87 fueron VPH positivas (85,3%) y 15, VPH negativas (14,7%). La mayoría de las pacientes se situaban en el grupo de 26-45 años. La media de la carga viral disminuía con la edad (tabla 1).

Tabla 2 Resultados de seguimiento

	NEG	LSIL	HSIL	Total	Perdidos
A. HPV positivos (n = 87)					
6 M	40	37	10	87	
	45,9%	42,5%	11,5%		11
12 M	38	23	6	66	
	57,6%	34,8%	7,6%		13
24 M	32	14	2	48	
	66,7%	29,2%	4,1%		
B. HPV negativos					
6 M	9	5	1	15	
	60%	33,3%	6,7%		4
12 M	8	1	1	10	
	80%	10%	10%		5
24 M	4	0	0	4	
	100%				

La tabla 2A expresa los datos del seguimiento de los casos VPH+ (n = 87) a los 6, 12 y 24 meses. Todos los casos de HSIL fueron biopsiados, tratados quirúrgicamente y excluidos del seguimiento posterior. A los 6 meses no se detectó displasia en 40 casos (45,9%), persistió en 37 casos (42,5%) y progresó (se diagnosticó HSIL) en 10 casos (11,5%). Once de las 87 pacientes no acudieron al segundo control. En el segundo control, efectuado sobre 66 casos, se detectó desaparición de la lesión en 38 casos (57,6%), persistencia en 23 (34,8%) y progresión (HSIL) en 5 (7,6%). Trece de los 76 casos no acudieron al tercer control. En este, efectuado sobre 48 casos, se detectó desaparición de la lesión en 32 (66,7%), persistencia en 14 (29,2%) y progresión (HSIL) en 2 (4,1%).

La tabla 2B expresa los datos del seguimiento de los casos VPH negativos (n = 15) a los 6, 12 y 24 meses. A los 6 meses no se detectó displasia en 9 (60%), persistió en 5 casos (33,3%) y progresó (se diagnosticó HSIL) en 1 caso (6,7%). Cuatro de las 15 pacientes no acudió al segundo control. En el segundo control, efectuado sobre 10 casos, se detectó desaparición de la lesión en 8 casos (80%), persistencia en 1 (10%) y progresión (HSIL) en 1 (10%). Seis de los 10 casos no acudieron al tercer control. En este, efectuado sobre 4 casos, se detectó desaparición de la lesión en todos ellos.

En total, pues, de los 102 casos iniciales, se diagnosticó lesión de alto grado en 19 casos (18,6%) y persistió la lesión al tercer control en 14 casos (13,7%), habiéndose negativizado en el resto; 23 casos (22,5%) se perdieron.

Tabla 3 Cargas virales y diagnósticos en el seguimiento

	6 M (n = 102)	12 M (n = 76)	24 M (n = 52)
CVM HSIL	825,3	477,9	646,4
P25	30	136,5	254,3
P75	1846	746,5	1038,6
CVM LSIL	895,9	742,7	805,1
P25	8,8	20,2	97,2
P75	1.421,5	980,2	1.357,8
CVM NEG	493,6	750,6	639,9
P25	1,9	2,37	2,3
P75	961,9	1126,4	769,9

$p > 0,05$.

Tabla 4 Carga viral y HSIL

CV	S	E	VPN	VPP
A. HSIL versus no HSIL				
10	89,5	30	88,2	32,7
100	68,4	46	79,3	32,5
696,8	36,8	70	74,5	31,8
B. HSIL + LSIL versus negativos				
10	87,9	36,1	76,4	55,8
100	69,7	52,8	65,5	57,5
742,7	39,4	75	57,4	59,1

Tabla 5 Carga viral en el primer control en relación con el diagnóstico y la carga viral al inicio

Primer control	CV BAJA	Segundo control			
		NEG	LSIL	HSIL	Perdidos
LSIL	12	7	5	0	0
Primer control	CV sube				
LSIL	10	5	2	1	2

p > 0,05.

La **tabla 3** nos muestra las medias y los percentiles 25 y 75 de los distintos casos en cada control, distribuidos por HSIL, LSIL y negativos. Solamente existen diferencias entre las cargas virales medias (CVM) de los casos HSIL y los casos negativos en el primer control, pero ninguna de ellas es estadísticamente significativa.

Hemos calculado la sensibilidad de la carga viral para la progresión (HSIL), tomando como punto de corte la carga viral media de los HSIL (696,8), así como cargas virales de 10 y 100. La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos negativo y positivo se detallan en la **tabla 4A**. Para calcular la sensibilidad para la persistencia o progresión hemos tomado la carga viral media de la suma de los HSIL y LSIL (742,7), y también 10 y 100 como puntos de corte. La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos negativo y positivo se encuentran en la **tabla 4B**.

Se determinó la carga viral en el primer control en 29 casos, comparándola con la carga viral al inicio, con objeto de evaluar el valor de una segunda determinación. La carga viral disminuyó en 16 casos (12 LSIL y 4 negativos) y aumentó en 13 casos (10 LSIL, 2 negativos y 1 HSIL). Los casos de LSIL fueron evaluados en un segundo control. Cuando la carga viral había disminuido, se negativizaron 7 casos (58,3%), persistiendo el resto como LSIL. Cuando la carga viral había aumentado, no acudieron a control 2 casos, se negativizaron 5 casos (62,5% de casos), persistieron 2 LSIL y apareció un HSIL. (**tabla 5**). Las diferencias no son estadísticamente significativas.

Discusión

De acuerdo con las guías clínicas aprobadas por la Sociedad Americana de Colposcopia y la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia^{34,35}, las pacientes con diagnóstico citológico inicial de LSIL deben ser seguidas repitiendo la citología en el periodo de 6 meses a un año después del

diagnóstico o deben ser sometidas a colposcopia. Esta recomendación se basa en el hecho de que aproximadamente entre el 15 y el 20% de las lesiones de bajo grado evolucionan a lesiones de alto grado, incluyendo carcinoma infiltrante³⁴.

No disponemos de marcadores eficientes para identificar estos casos. La carga viral podría ser un elemento de pronóstico para estos propósitos.

En estadios iniciales, el VPH permanece en situación episódica y no se introduce en el ADN. En este estadio se llama infección productiva y se relaciona con las lesiones de bajo grado y el llamado efecto citopático, o coilocitosis. La infección productiva implica división del virus, lo que incrementa el número de copias del virus en la célula. En las lesiones de bajo grado es teóricamente posible establecer una relación entre la carga viral y el número de células infectadas en la muestra testada, por lo que la carga viral en una muestra depende del número de células infectadas en la muestra. En lesiones de bajo grado, el efecto citopático se observa cuando las células infectadas tienen más de 1.000 copias virales. En los casos de HSIL las células tienen bajo número de copias, lo que es probablemente atribuible a integración.

Además, cuando el número de copias virales se incrementa en la célula, el ARN mensajero puede también incrementarse. Consecuentemente, es posible obtener una correlación entre la carga viral y las oncoproteínas, lo que incrementa la inestabilidad genética y la probabilidad de producir más mutaciones, así como mayor facilidad de integración y lesiones de alto grado.

Todos estos efectos están relacionados con la infección viral persistente. De acuerdo con la literatura, la infección persistente se relaciona con la carga viral^{8,16,23,24,27}.

Desde el punto de vista práctico, el nivel de corte de la carga viral es el punto clave para las pacientes que deben ser sometidas a colposcopia después del diagnóstico de LSIL.

La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos varían en dependencia del punto de corte que se use. De hecho, para asegurar que el tratamiento sea adecuadamente aplicado, la especificidad debe ser alta. En estas circunstancias, la sensibilidad es muy baja. Además, deben tenerse en cuenta los costes psicosociales de las pacientes con lesiones de bajo grado sometidas a controles durante dos años, que disminuirían en caso de tratamiento. Las sensibilidades, las especificidades y los valores predictivos obtenidos en esta serie hacen que la carga viral no sea aplicable para discriminar entre las pacientes que desarrollaran un HSIL y las que no, y en consecuencia esta técnica no debe aplicarse para estos propósitos.

De acuerdo con otros autores, si consideramos 10 o 100 como punto de corte, la sensibilidad y la especificidad para HSIL cambian pero la especificidad sigue siendo baja (69 pacientes con tres controles; punto de corte 10, sensibilidad 89,5%, especificidad 30%; punto de corte 100, sensibilidad 68,4%, especificidad 46%). Ello implica que la carga viral no es útil para distinguir qué mujeres podríamos tratar en función de la CV inicial^{2,5,22,30}.

Las mujeres menores de 20 años (EE. UU.) o de 25 años (España) tienen una alta prevalencia de infección por VPH y un gran número de lesiones de bajo grado o ASCUS; sin embargo, estas pacientes tienen bajo riesgo de desarrollar HSIL. La mayoría de infecciones en mujeres jóvenes regresan espontáneamente en un plazo de 2 años después de la

infección³⁴, llegando al 91% de regresión a los 36 meses de seguimiento. La prevalencia de infecciones por HPV en las mujeres jóvenes es alta, la determinación de HPV tiene poco valor clínico y no debe influir el manejo de estas pacientes³⁴. El tratamiento conservador en las pacientes jóvenes está justificado.

Conclusión

Concluimos que la carga viral al inicio no es útil para identificar las pacientes con riesgo incrementado de desarrollar lesiones de alto grado. Además, en los casos de LSIL tampoco es útil para identificar las pacientes susceptibles de ser tratadas dada la baja sensibilidad y la superposición en el rango. Por otro lado, la repetición de la carga viral en el segundo control tampoco nos añade información relevante.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Bibliografía

- Guido R, Schiffman M, Solomon D, Burke L, ASCUS-LSIL triage study (ALTS) Group. Post-colposcopy management strategies for women referred with low grade squamous intraepithelial lesions of human papillomavirus DNA positive atypical squamous cells of undetermined significance: A two-year prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188:1401–5.
- Farthing A, Masterson P, Mason WP, Vousden KH. Human Papillomavirus detection by hybrid capture and its possible clinical use. *J Clin Pathol.* 1994;47:649–52.
- Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti M, Wacholder S, et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA.* 2000;283:87–93.
- Dalstein V, Riethmuller D, Pr  et JL, Le Bail Carval K, Sauti  re 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.
- Zielinski GD, Snijders PJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, van der Linden HC, Runsik AP, et al. HPV presence precedes abnormal cytology in women developing cervical cancer and signals false negative smears. *Br J Cancer.* 2001;85:398–404.
- Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van der Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, et al. Cytological regression and clearance of high risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. *Lancet.* 2001;358:1782–3.
- Yitalo N, Sorensen P, Josefsson M, Magnusson PKE, Kragh P, Ponten J. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet.* 2000;355:2194–8.
- Moberg M, Gustavson I, Wilander E, Gyllensten U. High viral loads of human papillomavirus predict risk of invasive cervical carcinoma. *Brit J Cancer.* 2005;92:891–4.
- Arbyn M, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Dillner J. Clinical utility of HPV DNA detection: Triage of minor cervical lesions, follow-up of women treated for high-grade CIN: An update and pool evidence. *Gynecol Oncol.* 2005;99:57–11.
- Wensveen CW, Kagle MJ, Nagelkerke NJ, Veldhuizen RW, Trimbos JB. Can viral load, semi-quantitatively evaluated, of HPV predict cytological or histological outcome in women with atypical squamous or glandular cells of undetermined significance? *Eur J Gynaecol Oncol.* 2005;26:393–7.
- Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM, Rousseau MC, Desy M, et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high risk area for cervical cancer. *J Infect Dis.* 1999;180:1415–23.
- Petry KU, Bohmer G, Iftner T, Davies P, Brummer O, Kuhnle H. Factors associated with an increased risk of prevalent an incident grade III cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer among women with Papanicolaou tests classified as grades I or II cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186:28–34.
- Schlecht NF, Trevisan A, Duarte-Franco E, Rohan TE, Ferenczy A, Villa LL, et al. Viral Load as predictor of risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer.* 2003;103:519–24.
- Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, Remmink AJ, Rise RK, et al. Relation of Human Papillomavirus status and consequences for cervical cancer screening: a prospective study. *Lancet.* 1999;354:20–5.
- Flores R, Papenfuss M, Klimecki WT, Giuliano AR. Cross-sectional analysis of oncogenic HPV viral load and cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer.* 2006;18:1187–93.
- Cuzik J, Terry G, Ho L, Hollingworth T, Anderson M. Human Papillomavirus type 16 in cervical smears as predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia (corrected). *Lancet.* 1999;339:959–60.
- Bavin PJ, Giles JA, Deery A, Crow J, Griffiths PD, Emery VC, et al. Use of semi-quantitative PCR for human papillomavirus DNA type 16 to identify women with high grade cervical intraepithelial disease in a population presenting with a mildly dyskaryotic smear report. *Br J Cancer.* 1993;67:602–5.
- Sherman ME, Sciffman M, Cox JT. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance /Low grade Squamous Intraepithelial lesion triage study (ALTS). *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:102–7.
- Un CA, Lai HC, Chang CC, Neih S, Yu CP, Chu TY. The significance of human papillomavirus viral load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix. *Gynecol Oncol.* 2001;83:95–9.
- Sun XW, Ferenczy A, Johnson D, Koulos JP, Lumgu O, Richart RM, et al. Evaluation of the Hybrid Capture Human Papillomavirus DNA detection Test. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173:1432–7.
- Clavel C, Bory JP, Caudroy S, Lorenzato M, Durlach A, Graesslin O, et al. Usefulness of HPV testing in the follow-up of untreated cervical low grade lesions. *Histol Histopathol.* 2005;20:1085–91.
- Giuliano AR, Papefuss M, De Galaz EM, Feng J, Abrahamsen M, Denman C, et al. Risk factors for squamous intraepithelial lesions SIL of the cervix among women residing at the US-Mexico border. *Int J Cancer.* 2004;109:112–8.
- Ho CM, Cheng WF, Chu TY, Chen CA, Chuang MH, Chang SF, et al. Human papillomavirus load changes in low grade squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix. *Br J Cancer.* 2006;95:1384–9.
- Tena D, Garrido N, Menendez JM, Delgado JJ, Romanyk J, Gonzalez MR, et al. Usefulness of Hybrid Capture II detection

- of high-risk HPV in women with abnormal pap smears of the uterine cervix. *Enf Infecc Microbiol Clin*. 2005;23:474–8.
25. Bory JP, Cucherousset J, Lorenzato M, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P, et al. Recurrent HPV infection detected with the Hybrid Capture II assay selects women with normal cervical smears at risk for developing high grade cervical lesions. A longitudinal study of 3091 women. *Int J Cancer*. 2002;102:519–25.
 26. Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, Scott DR, Glass AG, Wacolder S, et al. Viral Load of HPV and Risk of Cin3 or cervical cancer. *Lancet*. 2002;360:228–9.
 27. van Duin M, Snijders PJ, Schrijnemakers HF, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Nobbenhuis MA, et al. Human papillomavirus 16 load in normal and abnormal cervical scrapes: an indicator of CIN II/III and viral clearance. *Int J Cancer*. 2002;98:590–5.
 28. Josefsson AM, Magnusson PK, Yitalo N, Sorensen P, Qwaforth-Tubbin P, Andersen PK, et al. Viral Load of Human Papillomavirus 16 as a determinant for development of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet*. 2000;355:2189–93.
 29. Snijders PJ, Hogewoning CJ, Hesselnick AT, Berkhof J, Voorhorst FJ, Bleeker MC, et al. Determination of viral load threshold in cervical scrapings of rule out CIN3 HPV 16, 18, 31 and 33 positive woman with normal cytology. *Int J Cancer*. 2006;119:1102–7.
 30. Hesselnick AT, Berkhof J, Heideman DA, Bulkman NW, van Telling JE, Meijer CJ, et al. High-risk HPV DNA load in a population-based cervical screening cohort in relation to detection of high-grade CIN and cervical cancer. *Int J Cancer*. 2009;124:381–6.
 31. Cuzik J, Terry G, Ho L, Hollingworth T, Anderson M. Type-specific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high grade cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer*. 1994;69:167–71.
 32. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, et al. Persistent Human Papillomavirus infection as a predictor for cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA*. 2001;286:3106–14.
 33. ALTS Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188:1393–400.
 34. Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJLM, Claver C, Kolipoulos G, Dillner J. Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: A summary of meta-analyses. *Vaccine*. 2006;S3:78–89.
 35. Consenso Español. Algoritmos de prevención del cáncer cervical auspiciados por la SEGO, AEPC, SEC y SEAP. *Prog Obstet Ginecol*. 2006;49 Suppl 2:5–62.