

Carga Viral do Papilomavirus Humano na Predição da Gravidade de Lesões Cervicais em Mulheres com Atipias Celulares na Colpocitologia Oncológica

Viral Load of Human Papillomavirus as a Predictor of the Severity of Cervical Lesions in Women with Atypical Cells at Pap Smear

Luis Otávio Zanatta Sarian¹, André Luis Ferreira Santos², Sophie Françoise Mauricette Derchain¹, Priscila Garcia Figueredo¹, Sirlei Siani Morais³

RESUMO

Objetivo: avaliar o desempenho da carga viral do HPV por captura de híbridos II (CHII) na predição da gravidade das lesões cervicais.

Métodos: foram incluídas 309 mulheres admitidas por resultado anormal da colpocitologia oncológica (CO) entre agosto de 200 e novembro de 2002. Todas foram submetidas a avaliação histológica, sendo que a presença de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) grau 2 ou mais (NIC 3, carcinoma invasor) foi considerada doença grave. A CHII foi realizada para tipos de HPV de alto risco oncogênico e a carga viral medida em unidades relativas de luz (URL). O desempenho da CHII foi avaliado por curva receiver operating characteristics (ROC).

Resultados: na avaliação histológica, 140 (45,3%) mulheres apresentavam cervicite ou NIC 1 e 199 (54,7%), NIC 2/3, adenocarcinoma in situ ou câncer invasor. O melhor ponto de corte da CHII para a detecção de doença grave foi 35 URL, com sensibilidade de 69% e especificidade de 70%. O valor preditivo positivo das alterações compatíveis com lesão de alto grau na CO associado a CHII de 35 URL (unidades relativas de luz) foi de 88,2% para a detecção de NIC 2 ou mais. Já 95,7% das mulheres com lesões de baixo grau na CO e CHII menor que 1 URL não apresentaram lesões histológicas graves.

Conclusão: o melhor desempenho da CHII no diagnóstico de NIC 2 ou lesão mais grave foi encontrado com 35 URL. A associação da CO com a CHII em diferentes cargas virais mostrou valores preditivos positivos e negativos muito altos.

PALAVRAS CHAVE: Papilomavirus humano. Neoplasia intra-epitelial cervical. Citologia oncológica. Captura híbrida.

Introdução

Os tipos oncogênicos do papilomavirus humano (HPV) têm papel fundamental na etiologia do carcinoma epidermóide da cérvix e de suas lesões precursoras, as neoplasias intra-epiteliais cervicais (NIC)¹⁻³. Pode também ser imputada à ação do HPV a maioria das anormalidades citológicas encontradas nos exames de Papanicolaou. A infecção pelo HPV é comum, sobretudo em mulheres jovens, e sua prevalência é relacionada, principalmente, ao comportamento sexual^{1,2}.

As técnicas de biologia molecular para a detecção do HPV vêm demonstrando ser de grande

¹ Departamento de Tocoginecologia, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (FCM-UNICAMP)

² Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade de Taubaté

³ Área de Estatística do Departamento de Tocoginecologia da FCM-UNICAMP.

Correspondência:

Luis Otávio Zanatta Sarian
Rua Alexander Flemming, 848
13093-340 – Campinas – SP
e-mail: sarian@terra.com.br

Este estudo foi financiado por auxílio concedido pela Fundação Auxílio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP processos 99/11264-0 e 00/06394-0) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq processo 300354/01-0).

interesse para o diagnóstico da NIC e do carcinoma do colo uterino, bem como na predição da gravidade de lesões cervicais. Vários autores encontraram forte associação entre a carga viral do HPV e a gravidade das lesões escamosas da cérvix, embora os resultados, em boa parte dos trabalhos, ainda sejam discrepantes⁴⁻⁹. Alguns estudos que empregaram captura de híbridos II (CHII), método semiquantitativo, revelaram ascensão da carga viral do HPV acompanhando o tamanho da lesão cervical ao exame colposcópico e a gravidade histológica dessas alterações⁴. Outros autores, utilizando reação em cadeia da polimerase (PCR)⁷, demonstraram correlação da carga viral do HPV com a gravidade das NIC. Todavia, outros estudos já não concluíram o mesmo: Farthing et al.⁸ e Sun et al.⁹ encontram quantidades maiores do DNA-HPV com CHII, em mulheres com NIC 1 quando comparadas àquelas com NIC 2 e NIC 3.

Assim, realizamos este estudo de corte transversal para avaliar a associação da carga viral do DNA-HPV detectado por CHII com a presença de lesões histológicas consideradas graves (NIC 2 ou 3 ou câncer invasor) em mulheres com colpocitologia oncológica (CO) mostrando células escamosas atípicas. Entre os objetivos incluímos a avaliação da sensibilidade, especificidade e valores preditivos da CHII em diferentes pontos de corte de unidades relativas de luz (URL) quando empregada isoladamente ou em associação com a colpocitologia.

Pacientes e Métodos

Foram consideradas neste estudo, no período compreendido entre agosto de 2000 e novembro de 2002, 174 mulheres encaminhadas ao serviço de Patologia do Trato Genital Inferior do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e 135 acolhidas pela Clínica de Colposcopia da Universidade de Taubaté, todas em decorrência de anormalidades escamosas detectadas na CO de rastreamento. Para este estudo, o projeto de pesquisa foi aprovado pelos Comitês de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e da Universidade de Taubaté. As mulheres convidadas a participar da pesquisa somente foram incluídas após assinarem termo de consentimento livre e esclarecido. Todas estas 309 mulheres foram submetidas à coleta de material endocervical para CHII e à colposcopia. Considerando os resultados da CO e da colposcopia, 117 (37,9%) mulheres foram subme-

tidas à biópsia cervical e, em 192 (62,1%), foi realizada excisão da zona de transformação com alça diatérmica de alta frequência.

Citologia e Colposcopia

O exame colposcópico foi realizado conforme as rotinas dos respectivos serviços e os resultados classificados de acordo com as diretrizes da Federação Internacional de Patologia Cervical e Classificação de Colposcopia¹⁰. Os resultados foram agrupados em alterações maiores, que incluem o epitélio acetobranco denso, mosaico grosseiro, pontilhado grosseiro, vasos atípicos, leucoplasia e erosão, e alterações menores, tais como epitélio acetobranco tênue, mosaico tênue ou pontilhado fino e colposcopia normal.

Todas as mulheres apresentavam atipias escamosas na avaliação da CO. Todos os esfregaços cervicais pelos quais as pacientes foram encaminhadas estavam disponíveis para revisão e os resultados desta revisão foram classificados conforme o sistema Bethesda¹¹: presença de células escamosas atípicas (ASC), sugestivo de lesão escamosa de baixo grau (LSIL) ou sugestivo de lesão escamosa de alto grau (HSIL).

Captura de híbridos II

O raspado endocervical com escova, acondicionado em tubo contendo 1,0 mL de *Specimen Transport Medium* (Digene do Brasil Ltda.), era encaminhado para o processamento laboratorial e realização do teste para DNA-HPV com CHII. O armazenamento dos espécimes e dos reagentes, bem como o processamento dos testes, foram realizados no laboratório de biologia molecular do CAISM/UNICAMP, seguindo as instruções do fabricante da CHII (Digene Diagnostics Inc., EUA). Os espécimes para CHII foram testados com sonda B (para HPV de risco oncogênico intermediário ou alto: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 e 68) e o teste foi considerado positivo quando a razão de URL do teste sobre dois controles positivos equivalia a 1pg/mL de DNA-HPV ou mais. Essas razões de URL também proveram estimativas da quantidade do DNA-HPV nos espécimes, quer seja, a carga viral da amostra.

Histologia

Todos os tecidos obtidos por biópsia cervical ou conização foram fixados em formalina tamponada com fosfato a 10%, embebidas em parafina e coradas com hematoxilina-eosina (HE). Os achados histológicos foram analisados de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde¹² e classificados como negativos, incluindo cervicites e metaplasia, NIC 1, NIC 2, NIC 3, ade-

nocarcinoma *in situ* e carcinoma invasor. Para as finalidades deste estudo, foram consideradas como sem doença ou lesão leve, as mulheres com resultado histológico compatível com metaplasia, cervicite ou NIC 1. Mulheres cujos resultados foram compatíveis com NIC 2, NIC 3, adenocarcinoma *in situ* ou câncer invasor foram agrupadas como portadoras de lesões graves.

Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada pelo programa SAS para microcomputadores (SAS Institute, Cary, NC, EUA), versão 8.0. A avaliação por meio das *receiver operating characteristics* (ROC) foi empregada para determinar o desempenho da CHII em diferentes pontos de corte. A melhor performance foi calculada por meio da relação $D = (1 - \text{sensibilidade})^2 + (1 - \text{especificidade})^2$, onde D é o quadrado da distância entre cada ponto da curva ROC à extremidade superior esquerda do gráfico. O menor valor da raiz quadrada de D indica o melhor balanço entre sensibilidade e especificidade. O desempenho da CO e da CHII na detecção das lesões consideradas graves (NIC 2, NIC 3, adenocarcinoma *in situ* ou câncer invasor) foi calculado de acordo com a sensibilidade e especificidade com intervalos de confiança de 95% (IC 95%) e os valores preditivos positivos e negativos.

Resultados

A média de idade das 309 mulheres consideradas para análise foi de 33,2 anos, com idade mínima de 16 e máxima de 40 anos. Na Tabela 1 observamos que a maioria das mulheres (65%) foi atendida por alterações citológicas sugestivas de lesões de alto grau. O DNA-HPV foi detectado com carga viral >1 URL em 225 (72,8%) mulheres. No estudo histológico, apenas 14 mulheres não apresentaram neoplasia (4,5%) e 126 (40,8%) apresentaram NIC 1, totalizando 140 casos (45,3%) sem doença ou com doença leve. Entre as 199 (54,7%) mulheres com doença mais grave, 46 (14,9%) apresentavam NIC 2, 111 (35,9%) NIC 3, 2 (0,6%) adenocarcinoma *in situ* e 10 (3,2%) carcinoma invasor de células escamosas.

Analisando o desempenho da CHII em detectar lesões tipo NIC 2 ou mais graves, a curva ROC mostrou o melhor balanço entre sensibilidade e especificidade em 35 URL. Neste ponto a CHII teve a propriedade de diagnosticar 69,8% dos casos com doença e excluir 70% dos que não estavam acometidos (Figura 1). Também na curva estão apontados pontos de corte de 1 URL, 10 URL, 100 URL e 1000 URL, distribuição logarítmica

Tabela 1 - Distribuição das mulheres segundo o resultado da citologia oncológica, a detecção de DNA-HPV pela captura de híbridos II, considerando como valor de corte 1 unidade relativa de luz (URL), e o resultado histológico.

Citologia oncológica	Número	%
ASC	14	4,7
LSIL	94	30,3
HSIL	201	65,0
Captura de híbridos II		
Negativo <1 URL	84	27,2
Positivo >1 URL	225	72,8
Resultado histológico		
Cervicite ou metaplasia	14	4,5
NIC 1	126	40,8
NIC 2	46	14,9
NIC 3	111	35,9
Adenocarcinoma <i>in situ</i>	2	0,6
Câncer invasor	10	3,2
Total	309	100

ASC: presença de células escamosas atípicas; LSIL: sugestivo de lesão escamosa de baixo grau; HSIL: sugestivo de lesão escamosa de alto grau; NIC: neoplasia intra-epitelial cervical.

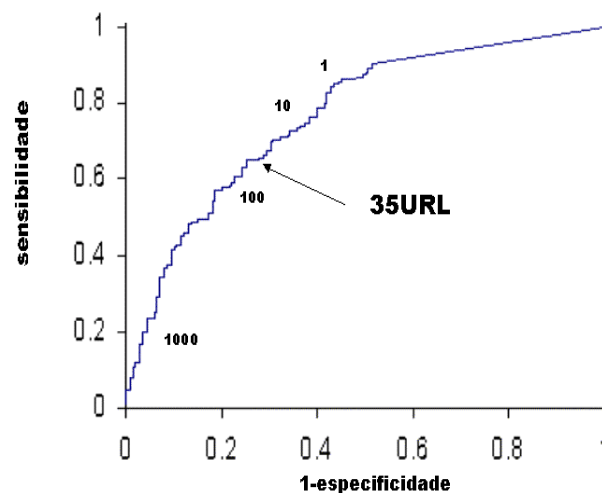


Figura 1 - Curva ROC para avaliação do desempenho da captura de híbridos II em diagnosticar lesões cervicais consideradas graves (NIC 2, NIC 3, adenocarcinoma *in situ* e câncer invasor). Na curva estão apontados o ponto de melhor desempenho e a distribuição logarítmica em unidades relativas de luz (URL).

sugerida por Lorincz et al.¹³.

Na Tabela 2, podemos averiguar o comportamento do desempenho da CHII na forma numérica e comparar esses níveis de sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos com os números apresentados pela CO. Destes dados, depreende-se que a melhor relação entre sensibilidade e especificidade foi encontrada em 35 URL, porém se deu às expensas de 20% na sensibilidade para ganho proporcional de 20% em especificidade, quando

comparados ao ponto de corte de 1 URL. A seqüência de incrementos nos valores de corte para CHII impôs grandes oscilações aos resultados da sensibilidade e especificidade que variaram, respectivamente, de 90 a 21% e de 49 a 96%. Dada a alta prevalência de lesões NIC 2 ou mais graves nesta amostra, os valores preditivos positivos e negativos foram substancialmente altos. Quando comparamos o desempenho da CHII em seus diversos pontos de corte ao desempenho isolado da colpocitologia (considerando o teste positivo quando da presença de células sugestivas de HSIL), notamos excelente sensibilidade da CO, comparável àquela da CHII em 1 URL. Já a especificidade mais se aproxima do valor de

corte para CHII entre 10 URL e 35 URL. O resultado da CO também mostrou altos valores preditivos positivos e negativos.

Quando se avalia a associação da CHII no ponto de corte de 35 URL na detecção de NIC 2 ou mais, em mulheres com resultado da CO sugestivo de HSIL (Tabela 3) o que se vê é o incremento de 17% no valor preditivo positivo, atingindo 88% de diagnóstico. Na mesma comparação, o valor preditivo negativo se eleva para 91%. Quando se avaliou esta associação da CHII no ponto de corte de 1 URL nestas mesmas mulheres, os acréscimos não foram tão substanciais. Observamos, porém, que em mulheres com resultado de CO sugestivo de ASC ou LSIL, o melhor valor preditivo negativo foi obtido associando-se a CHII num ponto de corte de 1 URL.

Tabela 2 - Desempenho da captura de híbridos II (CHII) e da citologia oncológica (CO) na detecção de lesões cervicais consideradas graves (NIC 2, NIC 3, adenocarcinoma *in situ* e câncer invasor).

	Sensibilidade % (IC 95%)	Especificidade % (IC 95%)	Valor preditivo positivo	Valor preditivo negativo
CHII ≥ 1 URL	90 (87-93)	49 (43-54)	68	81
CHII ≥ 10 URL	78 (73-83)	60 (54-66)	70	69
CHII ≥ 35 URL	69 (64-74)	70 (65-71)	73	65
CHII ≥ 100 URL	58 (52-63)	78 (74-83)	77	61
CHII > 1000 URL	21 (16-26)	96 (93-98)	86	50
CO sugestiva de HSIL	89 (85-92)	64 (58-70)	75	82

HSIL: sugestivo de lesão escamosa de alto grau; URL: unidades relativas de luz.

Tabela 3 - Associação entre o resultado da citologia oncológica (CO) e da captura de híbridos II (CHII) na detecção de lesões cervicais consideradas graves (NIC 2, NIC 3, adenocarcinoma *in situ* e câncer invasor).

Resultado da CO	Resultado da CHII	Total de mulheres	Resultado histológico	
			Normal ou NIC 1 n (%)	NIC 2, NIC 3 ou mais n (%)
HSIL	≥35 URL	119	14 (11,8)	105 (88,2)
HSIL	<35 URL	82	37 (45,1)	45 (54,9)
ASC/LSIL	≥35 URL	42	29 (69,0)	13 (31,0)
ASC/LSIL	<35 URL	66	60 (90,9)	6 (9,1)
HSIL	≥1 URL	163	27 (16,6)	136 (83,4)
HSIL	< 1 URL	38	24 (63,2)	14 (36,8)
ASC/LSIL	≥1 URL	62	45 (72,6)	17 (27,4)
ASC/LSIL	< 1 URL	46	44 (95,7)	2 (4,3)
Total		309	140 (45,3)	169 (54,7)

LSIL: sugestivo de lesão escamosa de baixo grau; HSIL: sugestivo de lesão escamosa de alto grau; ASC: presença de células escamosas atípicas; URL: unidades relativas de luz; NIC: neoplasia intra-epitelial cervical.

Discussão

Os resultados deste estudo de corte trans-

versal empregando análise de desempenho da CHII pela curva ROC confirmam achados de trabalhos anteriores^{4,13} que demonstraram que o ponto de corte de 1 URL, sugerido pelo fabricante, nem sempre apresenta o melhor balanço entre a sensibilidade e a especificidade na detecção de NIC

2, NIC 3 ou carcinoma invasor da cérvix uterina. Quantidades maiores de vírus, traduzidas em maiores valores de carga viral medida em URL, permitiram aumento de vinte pontos percentuais na especificidade do exame, ao custo de similar perda na sensibilidade. Esse dado é compatível com achados de estudos prévios, que correlacionaram a presença do HPV e sua carga de DNA com a presença de doença histológica cervical e com sua gravidade. Howard et al.⁴ encontraram o melhor balanço para o desempenho da CHII em valores de carga viral de 15,56 URL. Vale notar que neste trabalho a carga viral foi testada para detectar qualquer grau de anormalidade histológica, ao passo que nós nos ativamos à detecção de lesões NIC 2 ou mais graves. Já Sun et al.⁵ encontraram correlação positiva entre o tamanho da lesão colposcópica, lesões histológicas mais graves e a carga viral, ainda que considerando valores de corte muito diferentes quando comparados com os do presente estudo. Swan et al.¹⁴ também confirmaram que o grau da lesão histológica está correlacionado com a carga viral, ascendendo esta em paralelo ao aumento da gravidade da neoplasia.

A carga viral pode ser influenciada por diversos fatores, entre os quais a qualidade da amostra, local de sua coleta (endocérvice, ectocérvice ou fundo de saco), tamanho da lesão histológica e, principalmente, o número de células epiteliais obtidas¹⁵. Em nosso estudo não foram quantificadas as células endocervicais das amostras, embora isto não faça diferença prática, posto que tal quantificação não faz parte da rotina no processamento comercial dos exames de CHII.

É importante destacar que todas as mulheres incluídas neste estudo tinham diagnóstico histológico, considerado padrão-ouro na avaliação do desempenho dos exames, o que permitiu medidas diretas de sensibilidade e especificidade. Outra singularidade é que todas as mulheres apresentavam algum grau de anormalidade nas células escamosas encontradas na CO, conferindo homogeneidade ao grupo estudado.

Se a aplicabilidade da CHII para triagem de lesões cervicais na população geral vem sendo aventada¹⁶, a valorização da carga viral na distinção de mulheres com diferentes anormalidades na colpocitologia não é tão conhecida. Esse foi o principal enfoque do presente estudo, em que todas as mulheres apresentavam algum grau de anormalidade celular em seus esfregaços citológicos. Quando considerada isoladamente, a CHII, em qualquer ponto de corte, foi largamente superada pela CO na predição de lesão histológica NIC 2 ou mais grave, informação que claramente se depreende da tabela de desempenhos isolados. Já a observação da distribuição da frequência de

pacientes considerando o uso combinado do resultado da CO e CHII, em diferentes circunstâncias de ponto de corte para carga viral, permite apontar para a CHII papel muito diferente: auxiliar o tocoginecologista na seleção de mulheres que, a partir da CO anormal, efetivamente necessitem de biópsia cervical ou, em certos casos, mereçam até excisão imediata e completa da zona de transformação.

Observando a distribuição das mulheres conforme a combinação da CO e CHII, notam-se elevados valores preditivos positivos e negativos. A repercussão para o clínico desse poder de discernimento não pode ser negligenciada. A combinação da CO mostrando anormalidades de baixo grau com CHII apontando carga viral menor que 1 URL teve o poder de excluir 95,7% das mulheres sem doença. Esses dados deixam claro que o uso criterioso da associação CO e CHII, sempre relativizada pela carga viral, pode poupar mulheres de conizações e biópsias amplas. Em contraste, 88,2% das mulheres com alterações de alto grau na CO e carga viral >35 URL apresentaram NIC 2 ou mais na avaliação histológica, sendo estas exatamente as que merecem excisão completa da zona de transformação. Assim, este método pode auxiliar o ginecologista a indicar biópsia ou conização com alça, ainda que a colposcopia não seja satisfatória ou não evidencie lesões francamente suspeitas. Neste contexto, a CHII assumiu papel coadjuvante, ao lado da CO, na predição da gravidade de lesões cervicais.

Em conclusão, este estudo mostrou que, num grupo de 309 mulheres cuja cérvix fora biopsiada, o melhor balanço entre sensibilidade e especificidade da CHII em detectar lesões de alto grau ou invasoras se distanciou do valor de corte de 1 URL, habitualmente empregado. A CHII, cujo desempenho, isoladamente, foi largamente superado pela CO na distinção de lesões mais graves da cérvix, teve relevante papel quando usada em associação com o tradicional exame citológico. A combinação de CO mostrando atipias celulares sugestivas de lesão de baixo grau e CHII com menos de 1 URL esteve presente na grande maioria das mulheres sem doença ou com NIC 1, enquanto atipias celulares sugestivas de lesão de alto grau e carga viral maior ou igual a 35 URL foi, por excelência, combinação encontrada em mulheres com NIC 2, NIC 3 ou carcinoma invasor do colo.

ABSTRACT

Purpose: to assess the performance of hybrid capture II (HCII) HPV viral load in predicting the grade of cervical lesions. Methods: between August 2000 to November 2002, 309

women admitted due to an abnormal Pap smear result were recruited. Histological disease confirmation was done in all women and cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade 2 or above was considered as severe disease. HCII was done for high-risk HPV types and viral load was estimated in relative light units (RLU). Receiver operating characteristics analysis was used to test the performance of HCII.

Results: histological findings included 140 (45.3%) cervicitis or CIN 1 and 199 (54.7%) CIN 2/3, in situ adenocarcinoma or invasive cancer. The best cutoff for HCII in detecting severe disease was 35 RLU, showing a sensitivity of 69% and a specificity of 70%. Association of high-grade cervical lesions at Pap smear and HCII at 35 RLU showed a positive predictive value of 88.2% in diagnosis of CIN 2 or above. On the other hand, 95.7% of the women with low grade lesion at cytology and HCII below 1 RLU presented no severe histological disease.

Conclusions: the best performance of HCII in diagnosing CIN 2 or above was found at 35 RLU. Association of cytology and HCII in different settings provided very high positive and negative predictive values.

KEYWORDS: *Human papillomavirus. Cervical intraepithelial neoplasia. Cancer cytology. Hybrid capture.*

Agradecimentos

A Denise da Rocha Pitta de Moraes, Lúcia Maria Fagian de Carvalho e Elisabete Aparecida Campos, cuja habilidade técnica foi essencial para a obtenção dos resultados.

Referências

1. Franco EL. Cancer causes revisited: human papillomavirus and cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:779-80.
2. Bishop A, Sherris J, Tsu VD, Kilbourne-Brook M. Cervical dysplasia treatment: key issues for developing countries. *Bull Pan Am Health Organ* 1996; 30:378-86.
3. Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85:958-64.
4. Howard M, Sellors J, Kaczorowsky J. Optimizing the hybrid capture II human papillomavirus test to detect cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2002; 100:972-80.
5. Sun 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.
6. Kjaer SK, van den Brule AJ, Bock JE, et al. Human papillomavirus: the most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 1996; 65:601-6.
7. Liaw KL, Glass AG, Manos MM, et al. Detection of human papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:954-60.
8. 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.
9. Sun XW, Ferenczy A, Johnson D, et al. Evaluation of the hybrid capture human papillomavirus deoxyribonucleic acid detection test. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:1432-7.
10. Stafl A, Wilbanks GD. An international terminology of colposcopy: report of the Nomenclature Committee of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 1991; 77:313-4.
11. Kurman RJ, Salomon D. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytology diagnosis. 1st ed. New York: Springer-Verlag; 1994.p.81.
12. Scully RE, Bonfiglio TA, Kurman RI, Silverberg SG, Wilkinson EJ. Histological typing of female genital tract tumours. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1994. (World Health Organization. International histological classification of tumours).
13. Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, et al. Viral load of human papillomavirus and risk of CIN 3 or cervical cancer. *Lancet* 2002; 360:228-9.
14. Swan DC, Tucker RA, Tortolero-Luna G, et al. Human papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV type. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1030-4.
15. Clavel C, Masure M, Bory JP, et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer* 2001; 84:1616-23.
16. Meijer CJLM, Snijders PJ, van den Brule AJ. Screening for cervical cancer: should we test for infection with high-risk HPV? *CMAJ* 2000; 163:535-8.

Recebido em: 20/5/2003

Aceito com modificações em: 27/5/2003