

Ainhoa Salegi Arregi
Borja Rivero de Torrejón
Marina Navarro López
José Ramón Cortaberría Ibarlucea
Iurdana Aizpitarte Gorrotxategi
Milagrosa Montes
Diego Vicente

Correspondencia:

Dr. A. Salegi Arregi.
Enparan kalea, 36 4.º C. 20730 Azpeitia (Guipúzkoa). España.
Correspondencia: asalegia@sego.es

Fecha de recepción: 6/11/2007.

Aceptado para su publicación: 11/3/2008.

Utilidad de la determinación del virus del papiloma humano en el primer control tras una conización

Value of human papilloma virus status in the first visit after conization

RESUMEN

Objetivo: Estimar el valor predictivo negativo de la determinación del virus del papiloma humano (VPH) a los 3 meses de la conización.

Material y métodos: Valorar el primer control a los 3 meses de las 208 conizaciones realizadas en el Hospital Donostia entre el 1 de enero de 2003 al 31 de diciembre de 2006.

Resultados: La determinación del VPH en el primer control posconización muestra un valor predictivo negativo de 97,99% (intervalo de confianza [IC] del 95%, 95,40-100), el valor predictivo positivo es del 47,92% (IC del 95%, 32,74-63,09), la sensibilidad del 88,46% (IC del 95%, 74,26-100) y la especificidad de 85,38% (IC del 95%, 79,79-90,97).

Conclusiones: La negativización del VPH a los 3 meses de la realización de la conización ofrece una alta seguridad y puede reducir el número de controles colpocitológicos.

PALABRAS CLAVE

Virus del papiloma humano. Conización.
Sensibilidad. Neoplasia intraepitelial de cuello uterino.

ABSTRACT

Objective: To estimate the negative predictive value of human papilloma virus (HPV) status in the first visit at 3 months after conization.

Material and methods: We evaluated the first follow-up visit in 208 patients who underwent conization in Hospital Donostia between January 1, 2003 and December 31, 2006.

Results: The negative predictive value of HPV status at 3 months after conization was 97.99% (95% CI 95.40-100), the positive predictive value was 47.92% (95% CI 32.74-63.09), sensitivity was 88.46% (95% CI 74.26-100) and specificity was 85.38% (95% CI 79.79-90.97).

Conclusions: Negative HPV status 3 months after conization is useful to evaluate cervical disease and could reduce the number of cytological examinations.

KEY WORDS

Human papilloma virus. Conization. Sensitivity.
Cervical intraepithelial neoplasia.

710 INTRODUCCIÓN

El virus del papiloma humano (VPH) se ha establecido como causa esencial, aunque no suficiente, para el desarrollo de las neoplasias cervicales intraepiteliales. La citología es actualmente en España la técnica de cribado de elección para las neoplasias cervicales premalignas. La determinación del VPH sólo está indicada como técnica de cribado en las mujeres mayores de 30 años; el protocolo de la SEGO lo incluye para las mujeres mayores de 35 años, y siempre junto con la citología.

El tratamiento de las neoplasias cervicales intraepiteliales de alto grado (CIN 2 y 3) es la conización, que se puede realizar con asa de diatermia, bisturí frío o láser para evitar la progresión a lesiones invasivas, malignas. La persistencia del VPH promueve la acción oncogénica, con la consiguiente recidiva de la lesión. La determinación del VPH en mujeres conizadas es útil para predecir la evolución, por el alto valor predictivo negativo que tiene la prueba. Esto permite espaciar las revisiones en las mujeres en las que el VPH y la citología se han negativizado y vigilar más estrechamente a las mujeres con HPH positivo, aunque el valor predictivo positivo no sea muy alto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de estudio

Se trata de un estudio transversal de evaluación de una prueba diagnóstica.

Selección de mujeres

Determinación del VPH de alto riesgo y citología en el primer control posconización, a los 3 o 4 meses de la intervención, a las 208 mujeres a las que se ha practicado una conización en el Hospital Donostia durante el período comprendido entre el 1 de enero de 2003 y el 31 de diciembre del 2006. La principal indicación de la conización fue la citología compatible con SIL-HG (lesión intraepitelial de alto grado, según el sistema de clasificación de Bethesda) y/o biopsia de CIN 2 o 3. Las conizaciones de nuestra serie se han realizado, principalmente, en

quirófono, aunque desde septiembre de 2005 se practican de forma ambulatoria en la consulta de patología cervical.

Seguimiento

El primer control se ha establecido a los 3 o 4 meses tras la conización. Se evaluó a las mujeres con citología y toma para VPH. Cuando la citología era negativa y el HPV no detectable, se dio el alta de la consulta hospitalaria y pasó a su ambulatorio para hacer controles citológicos anuales con su ginecólogo habitual. Si existía algún factor de riesgo adicional, como bordes del cono afectados por la lesión, VPH positivo, citología patológica, inmunodeficiencias, pacientes, etc., se continúan los controles en la consulta hospitalaria de patología cervical.

Cuando en el primer control hay alteraciones en la citología o cuando el VPH es positivo, seguimos controlando a la mujer en la consulta hospitalaria con citología, VPH y colposcopia cada 6 meses hasta la negativización del VPH y/o la normalización de la citología o eventual reconización o histerectomía cuando estuviera indicada.

Detección del virus del papiloma humano

El diagnóstico de infección por el VPH se hizo mediante detección de ADN viral en muestras clínicas. Para ello se siguieron 3 pasos: *a)* extracción del ADN viral; *b)* amplificación del ácido nucleico del HPV mediante una PCR genérica, y *c)* identificación del genotipo, mediante hibridación o secuenciación. La toma de muestra se realizó empleando escobillones con medio de transporte para VPH (Digene, Gaithersburg, USA). El ADN viral se extrajo empleando las columnas QIAmp[®]DNA Blood Mini Kit (Qiagen, GmbH, Hilden, Alemania) o con el extractor automático BioRobot[®] M48 (Qiagen) empleando el *kit* MagAttact[®] Virus Mini M48. Para la amplificación del ADN se usaron los primer GP5/GP6 de la región del gen L1, descritos por Jacobs et al¹, que identificaron en las muestras positivas mediante electroforesis en gel de agarosa, y tras tinción con bromuro de etidio, una banda específica de 150 bp. En estas muestras se efectuó una hibridación con sondas de diferentes genotipos de VPH inmoviliza-

das en una fase sólida (Inno-Lipa HPV Genotyping CE Amp, Innogenetics, Bélgica). En los casos en los que la PCR genérica fue positiva y la hibridación negativa, se secuenció el fragmento del gen *L1* en un secuenciador ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA); se analizó la secuencia obtenida en la base de datos <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>.

Análisis estadístico

Se han calculado la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo con los correspondientes IC del 95% de la determinación del VPH en el primer control tras la conización, utilizando la citología como patrón de oro.

RESULTADOS

Entre el 1 de enero de 2003 y el 31 de diciembre de 2006 se realizaron 208 conizaciones en el Hospital Donostia. La media de edad de las mujeres estudiadas fue de 38,48 años; de éstas 12 (5,76%) eran posmenopáusicas, 140 (67,30%) fueron remitidas al centro de referencia por alteraciones en la citología, 35 (16,8%) por biopsia patológica, 1 por hallazgo colposcópico anómalo (0,48%), 2 (0,96%) por coitorragias y condilomas vulvares, y 30 (14,42%) que estaban siendo controladas por diversos motivos, como citología patológica y gestación, o controles posconización. De las 140 citologías patológicas, 27 (19,28%) correspondían a SIL-LG (lesión intraepitelial de bajo grado), 98 (70%) a SIL-HG, 9 (6,42%) a ASCUS, 2 (1,42%) a AGC y 4 (2,85%) no aportaron el informe citológico. De las 35 con biopsias patológicas, 2 (5,71%) eran displasias leves y 33 (94,28%) displasias moderadas-severas (tabla 1).

De las 208 conizaciones, 178 (85,57%) se realizaron en quirófano en régimen de cirugía ambulatoria y 50 (24,04%) en consulta. Como complicaciones tuvimos 3 ingresos por hemorragia tras la conización; todos se habían practicado en quirófano. Dos tercios de las conizaciones se realizaron con asa de diatermia y el tercio restante con bisturí frío.

Los resultados del estudio histológico de las piezas de conización fueron los siguientes: 30 negativos (14,42%), en 13 displasia leve (6,25%), en 155 displa-

Tabla 1. Causa de las conizaciones

140 (67,30%) citologías patológicas
27 (19,28%): SIL-LG
98 (70%): SIL-HG
9 (6,42%): ASCUS
2 (1,42%): células glandulares atípicas
4 (2,85%): no aportaban informe citológico
35 (16,8%) biopsias patológicas
2 (5,71%): displasia leve
33 (94,28%): displasia moderada-severa
1 (0,48%) hallazgo colposcópico anómalo
2 (0,96%) coitorragias y condilomas vulvares
30 (14,42%) controles habituales

SIL-HG: lesión intraepitelial de alto grado; SIL-LG: lesión intraepitelial de bajo grado.

Tabla 2. Resultados anatomopatológicos de las conizaciones

30 (14,42%): patológica negativa
13 (6,25%): displasia leve
155 (74,51%): displasia moderada-severa
1 (0,48%): microinvasión
1 (0,48%): invasión
6 (2,88%): condilomas
2 (0,96%): adenocarcinomas in situ

Tabla 3. Tasa de bordes afectados en las conizaciones

105 (50,48%): bordes libres
28 (13,46%): borde interno afectado
8 (3,84%): borde externo afectado
4 (1,92%): ambos bordes afectados
12 (5,76%): borde externo afectado a menos de 3 mm
1 (0,48%): borde externo afectado a menos de 1 mm
50 (24,03%): bordes artefactados no valorables

sia moderada-severa (74,51%), en 1 microinvasión (0,48%), en 1 invasión (0,48%), en 6 condilomas (2,88%) y en 2 adenocarcinoma cervical in situ (0,96%) (tabla 2). Los bordes de las conizaciones en 105 (50,48%) casos estuvieron libres de lesión; en 28 (13,46%) el borde interno estaba afectado; en 8 (3,84%) el borde externo estaba afectado; en 4 (1,92%)

712 tanto el borde externo como el interno estaban afectados; en 12 (5,76%) el borde externo se encontraba a menos de 3 mm; en un caso (0,48%) el borde externo estaba a menos de 1 mm y en 50 (24,03%) casos los bordes no eran valorables por bordes artefactados (tabla 3).

La primera visita tras la conización está protocolizada a los 3 meses del tratamiento y se practica citología y toma para la determinación del VPH. De las 208 conizaciones, 197 (94,71%) acudieron al primer control, mientras que 11 (5,28%) no han acudido. De las 197 mujeres que se presentan a este primer control, 158 (80,20%) lo hacen en la fecha recomendada a los 3-4 meses, 29 (14,72%) a los 5-6 meses y 10 (5,07%) lo hacen más allá de los 6 meses.

De las 11 (5,28%) mujeres en que no consta que acudieran al primer control, a 4 se les indicó histerectomía, debido a: 1 carcinoma escamoso infiltrante, 1 carcinoma in situ microinvasivo IA1 y 2 adenocarcinomas in situ. Los controles posteriores fueron negativos y estaban libres de enfermedad. A 2 de las 11 pacientes se les dio de alta porque el resultado del estudio histológico de la pieza de conización fue negativo, por lo que las que se perdieron realmente, ya que no acudieron al primer control, fueron 5 (2,40%) pacientes.

En este primer control la determinación del VPH se realizó al 100% de las mujeres y en 48 (24,61%) fue positivo para VPH de alto riesgo; en 149 (75,38%) el VPH no fue detectable. Los principales subtipos hallados en estas mujeres en este primer control fueron el 16, 18, 30, 31, 45, 52, 53, 56, 66, 68 (se mantienen los principales subtipos encontrados previos a la conización).

En 171 (86,80%) pacientes la citología, en este primer control tras la conización, fue negativa para células malignas y en 26 (13,19%) patológica (3 ASCUS, 10 SIL-LG, 9 SIL-HG, y 4 con signos de inducción viral). De las 171 citologías negativas para células malignas, en 146 (85,38%) no se detectó VPH y en 25 (14,61%) pacientes sí se detectó. De las 26 citologías patológicas en el primer control, en 23 (88,46%) el VPH era detectable y en 3 (11,53%) el VPH fue negativo.

Hubo 35 (72,91%) mujeres con VPH de alto riesgo detectable, es decir positivo, en el primer control, sin patología hasta julio de 2007, que continúan siendo controladas con citología, detección de VPH

y eventual biopsia en nuestra consulta. En 13 (27,08%) pacientes de las que tenían un HPV detectable, que suponen el 6,25% de todas las conizaciones, ha habido evidencia de patología y se han practicado 8 histerectomías y 5 reconizaciones. Se obtuvieron 3 displasias severas, 3 carcinomas in situ y 1 carcinoma escamoso invasivo en las piezas de histerectomía. En el último caso no se evidenció patología cervical debido al origen vaginal de la displasia.

De las 5 reconizaciones practicadas por persistencia del VPH y con citología de alto grado, la anatomía patológica de los segundos conos fueron las siguientes: 2 displasias severas (una de ellas con bordes libres y los controles posteriores negativos sin persistencia del VPH); la otra con el borde endocervical afectado y en las siguientes visitas persistía el VPH de alto riesgo y la citología de alto grado y, debido a su estado de gravedad durante estos controles, se pospuso la histerectomía (que se realizará en breve); dos segundos conos negativos y 1 carcinoma in situ con bordes libres.

La determinación del VPH en el primer control posconización muestra una sensibilidad del 88,46% (IC del 95%, 74,26-100) y una especificidad del 85,38% (IC del 95%, 79,79-90,97). El valor predictivo positivo es del 47,92% (IC del 95%, 32,74-63,09) y el valor predictivo negativo es del 97,99% (IC del 95%, 95,40-100). El cociente de probabilidad es de 6,05 (es decir, encontrar un VPH positivo es 6,05 veces más probable en cuando la citología es patológica que cuando es normal). El índice de Youden es de 0,74 (0,60-0,87).

DISCUSIÓN

Se ha establecido que el VPH es una causa necesaria, aunque no suficiente, para que tenga lugar el cáncer de cuello de útero, que es una secuela a largo plazo de una infección producida y no resuelta por ciertos genotipos del VPH que se transmiten sexualmente². El cáncer de cérvix representa en todo el mundo el 12% de todos los cánceres de la mujer y es el segundo más frecuente, por detrás del cáncer de mama, aunque en los países en vías de desarrollo ocupa el primer lugar. La edad media es de 47 años, con un pico de incidencia entre los 45 y los 49 años. Sólo un 10% se diagnostica más allá

de los 75 años. En España, concretamente, se diagnostican anualmente unos 2.000 nuevos casos con una incidencia es de 7,6/100.000 mujeres al año, y una mortalidad de 2,2³. La incidencia está aumentando en los últimos años un 0,7% según el EURO-CIN⁴. En España, los tumores genitales representan alrededor del 16% de los cánceres de la mujer. El cáncer de endometrio es el más frecuente (6,7%), seguido por el de ovario (4,7%) y el de cuello (4,5%).

Las lesiones escamosas cervicales intraepiteliales de alto grado progresan a cáncer en un 12%⁵. De las mujeres tratadas, el 5-15% recurren. En nuestro estudio 6,25%. Los principales factores de riesgo implicados en la recurrencia de la CIN son: el tamaño de la lesión, el grado de displasia, la edad de la mujer y los bordes afectados en la pieza de la conización. La persistencia del VPH es un cofactor esencial en el desarrollo de estas lesiones y también se ha relacionado con la recidiva después de la conización^{21,24}. En nuestra revisión, todas las pacientes tenían el VPH positivo.

Gracias al avance de las distintas técnicas de biología molecular de alta sensibilidad, se detecta VPH de alto riesgo oncogénico en prácticamente el 100% de los cánceres cervicales en muestras adecuadas. La detección del VPH se utiliza para el cribado pronóstico en los casos de citologías ambiguas como ASCUS y CIN I. La detección del VPH predice la coexistencia de una lesión de alto grado con mayor sensibilidad y mejor relación coste-beneficio que la repetición de la citología o incluso con la colposcopia inmediata. En las mujeres mayores de 30-35 años, la detección del VPH está ya incluida en España como cribado junto con la citología. No se recomienda la incorporación de la prueba de determinación del VPH antes de los 35 años, pues existe una alta prevalencia de la presencia de VPH en mujeres menores de esta edad, transitoria y sin repercusión^{6,7}. La citología y la prueba de VPH por encima de los 35 años son muy eficientes y superiores que el modelo previo con citología sola. En países donde los programas de cribado citológicos son deficientes, se está implantando como cribado aislado la determinación viral del VPH. Se están barajando nuevas propuestas de cribado para el cáncer de cuello. Hasta los 35 años se mantiene la citología como cribado de primera línea, y se está analizando la detección del VPH aislado sin citología a partir de los

35 años y reservando la citología para los casos con VPH positivo. Plantean la hipótesis de que la eficacia y la eficiencia de estas estrategias son mejores que las actuales basadas en la citología como prueba inicial^{8,9}.

La determinación del VPH fue útil en el seguimiento de pacientes con lesiones de ASCUS, de las cuales un 10% deriva a CIN III. En nuestro estudio, ninguna mujer histerectomizada o reconizada por patología cervical presentaba citología de ASCUS. La sensibilidad y la especificidad de la determinación del VPH en los ASCUS son del 92 y el 60%, respectivamente. En citologías compatibles con L-SIL, la determinación del VPH no es coste-efectiva debido a su alta sensibilidad (97%) pero baja especificidad (inferior al 30%)¹⁰. La sensibilidad de la citología es menor que la detección del VPH. En la literatura científica hay una gran variabilidad en cuanto a las cifras de sensibilidad de la citología, lo que hace necesario su repetición frecuente. La citología y la detección del VPH juntas muestran una mejoría en la sensibilidad del cribado y un valor predictivo negativo altísimo, cerca del 100%. Esto nos permite espaciar el intervalo de cribado con tranquilidad si la citología y el VPH son negativos¹¹. La combinación de ambos ha demostrado ser mejor que cualquiera de ellas por separado¹². La sensibilidad de la citología aumenta con la edad, mientras que la sensibilidad de la detección del VPH es independiente de la edad. Tanto en la citología como en la detección del VPH, la especificidad aumenta con la edad. La baja especificidad de la prueba frente al VPH en las mujeres más jóvenes se debe a la alta prevalencia de las infecciones transitorias del VPH¹³.

Se ha propuesto que la detección del VPH puede mejorar el seguimiento de las pacientes tratadas por lesiones preneoplásicas y detectar su evolución posterior. El VPH se negativiza ante una lesión extirpada en su totalidad, si bien ante extirpaciones incompletas puede persistir^{14,15}. El estudio de Jain et al¹⁸ deja claro el escaso valor de los márgenes de la pieza de la conización para predecir futuras recurrencias, debido a que un número importante de mujeres con márgenes libres recurren y mujeres con bordes afectados no presentan ninguna alteración futura²⁶. La recidiva de la lesión de alto grado después de la realización de la conización varía entre un 5-35% de los casos¹⁸⁻²⁰ según los distintos estudios. Esto puede deberse al fallo del tratamiento ini-

714 cial, o por recidiva de la lesión por persistencia del VPH^{22,23}.

Estudios recientes han demostrado que es más exacta la detección del VPH que la citología para predecir el éxito del tratamiento¹². La negativización del virus en las pacientes conizadas ha demostrado que no precisa de controles posteriores¹⁶⁻¹⁸. Sin embargo, cuando el VPH es positivo en los controles posteriores permite sospechar la persistencia de la lesión o fallo del tratamiento, a pesar de que la citología sea normal. En el 75,8% de las mujeres el VPH se negativizó tras la conización en el primer control. En el metaanálisis de Zielinski et al¹⁶ de 2006 se han descrito tasas de eliminación similares del virus (78%) a los 3 meses, pero con la mitad de muestra (104 conizaciones). Este mismo estudio no ha demostrado diferencias en la realización del primer control a los 3 o a los 6 meses¹⁶. Demuestra que el valor predictivo negativo de la determinación del VPH es mayor que la citología aislada o los márgenes de la pieza de la conización. El valor predictivo negativo de la determinación del VPH es supe-

rior al valor predictivo negativo de la valoración de los márgenes (el 97 frente al 91%)¹⁶. La combinación de la citología junto con la determinación del VPH muestra las mejores tasas de detección de recurrencias (valor predictivo negativo del 99%).

Jain et al¹⁸ promueven que la determinación del VPH puede ser útil para decidir seguir controlando a la mujer o realizar una histerectomía.

Los estudios consultados muestran una sensibilidad del 94,4% (el 88,46% en nuestra casuística) y un especificidad del 75% (el 85,21% en nuestro estudio). Se recomienda la prueba del VPH junto con la citología a los 6 y a los 12 meses de la conización¹⁹. En nuestro estudio se ha observado un valor predictivo negativo del 97,99% a los 3 meses de la conización. Estamos evitando la realización de controles innecesarios al 85,20% de las mujeres ya conizadas, porque no presetarán ninguna patología. La determinación del VPH posconización es una herramienta útil para el seguimiento de estas mujeres; es muy probable que ellas no tengan necesidad de más controles ante citología negativa y VPH indetectable.

BIBLIOGRAFÍA

- Jacobs MW, Snijders PJ, Van den Brule AJ, Helmerhorst TJ, Meijer CJ, Walboomers JM. A general primer GP5+/GP6+ mediated PCR-enzyme immunoassay method for rapid detection of 14 high-risk and 6 low-risk human papillomavirus genotypes in cervical scraping. *J Clin Microbiol.* 1997;35:791-5.
- Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55:244-65.
- Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB, editors. *Globocan 2002. Cancer incidence in five continents, VIII.* International Agency for research on Cancer. Lyon: IARC Scientific Publications; 2002. p. 155.
- Vizcaíno AP, Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Barros-Dios XM, Parkin DM. International trends in the incidence of cervical cancer: Adenocarcinoma and adenocarcinoma cell carcinomas. *Int J Cancer.* 1998;75:536-45.
- Östör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol.* 1993;12:186-92.
- Goldie S. Cost effectiveness of human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in women aged 30 years or more. *Obstet Gynecol.* 2004;103:619-31.
- Fahey MT. Meta-analysis of Pap-test accuracy. *Am J Epidemiol.* 1995;141:680-9.
- Kotaniemi-Talonen L. Routine screening with primary HPV testing and cytology triage protocol in a randomised setting. *Int J Cancer.* 2005;93:862-67.
- Cuzick J. New dimensions in cervical cancer screening. *Vaccine.* 2006;24 Supl 3:90-7.
- ASCUS-LSIL. Triage Study (ALTS) Group. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;188:1383-9.
- Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox T, García 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;103:304-9.
- Arbyn M, Paraskevaidis E, Matin-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 of pooled evidence. *Gynecol Oncol.* 2005;99 Suppl 1:7-11.
- Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJLM, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American stu-

- dies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2006;119:1095-101.
14. Kjellberg L, Wadell G, Bergman F, Isaksson M, Angstrom T, Dillner J. Regular disappearance of the human papillomavirus genome after conization of cervical dysplasia by carbon dioxide laser. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183:1238-42.
 15. Nagai Y, Maehama T, Asato T, Koji Kanazawa DHS. Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol Oncol*. 2000;79:294-9.
 16. Zielinski GD, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Berkhof J, Snijders PJF, et al. HPV testing can reduce the number of follow-up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3. *Gynecol Oncol*. 2003;91:67-73.
 17. Lin CT, Tseng CJ, Lai CH, Hsueh S, Huang KG, Huang HJ, et al. Value of human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing after conization in the prediction of residual disease in the subsequent hysterectomy specimen. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184:940-5.
 18. Jain S, Tseng CJ, Horng SG, Soong YK, Pao CC. Negative predictive value of human papillomavirus test following conization of the cervix uteri. *Gynecol Oncol*. 2001;82:177-80.
 19. Nobbenhuis MA, Meijer CJ, Van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Risse EK, et al. Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer*. 2001;84:796-801.
 20. Bollen LJM, Tjong-A-Hung SP, Van der Velden J, Mol BW, Ten Kate FWJ, Ter Schegget J, et al. Prediction of recurrent and residual cervical dysplasia by human papillomavirus detection among patients with abnormal cytology. *Gynecol Oncol*. 1999;72:199-201.
 21. Bistoletti P, Zellbi A, Morenno-Lopez J, Hjerpe A. Genital papillomavirus infection after treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN III). *Cancer*. 1988; 62:2056-9.
 22. Bollen LJM, Tjong-A-Hung SP, Van der Velden J, Mol BWJ, Lammes FB, Ten Kate FWJ, et al. Human papillomavirus DNA after treatment of cervical dysplasia. *Cancer*. 1996;77:2538-43.
 23. Shua KL, Hjerpe A. Human papillomavirus analysis as a marker following conization of the cervix uteri. *Gynecol Oncol*. 1997;66:108-113.
 24. Elfgren K, Bistoletti P, Dillner L, Walboomers JMM, Meijer CJLM, Dillner J. Conization for cervical intraepithelial neoplasia is followed by disappearance of human papillomavirus deoxyribonucleic acid and a decline in serum cervical mucus antibodies against human papillomavirus antigens. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174:937-42.
 25. Alonso I, Torné Puig-Tintoré L, Esteve R, Quinto L, Campo E, Pahisa J, et al. Pre-and post-conization high risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN 2-3. *Gynecol Oncol*. 2006;103:631-6.