

# Biologia molecular no rastreamento das neoplasias cervicais uterinas

Molecular biology in screening of uterine cervical neoplasms

Gustavo Alvarenga Rocha<sup>1</sup>  
Victor Hugo Melo<sup>2</sup>

## Palavras-chave

Neoplasias do colo uterino/  
rastreamento  
HPV

## Key words

Uterine cervical neoplasms/  
screening  
HPV

## Resumo

O câncer cervical é o segundo mais comum em mulheres no Brasil e no mundo. A maioria dos casos de morte ocorre em países em desenvolvimento, onde o câncer cervical é responsável por 15% das neoplasias malignas em mulheres. A redução dessa mortalidade representa um grande desafio na atualidade e grandes esforços têm sido feitos para que se consiga um diagnóstico mais precoce e efetivo das lesões cervicais. Baseado nas evidências de que a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) seja a causa primária do câncer cervical, a pesquisa de tipos carcinogênicos foi recentemente introduzida como método de rastreamento das neoplasias cervicais em alguns países. Esta revisão teve por objetivo avaliar a aplicabilidade da detecção do HPV como forma de rastreamento primário das neoplasias cervicais, comparando a sensibilidade e a especificidade dos testes de biologia molecular com o exame de Papanicolaou, bem como os custos e o impacto destes testes sobre a morbimortalidade da doença.

## Abstract

The cervical cancer is the second most common in Brazil and worldwide. The majority of deaths occur in developing countries, where cervical cancer represents 15% of malignant neoplasms. Nowadays, the reduction of this mortality poses a challenge to health professionals with efforts being made in order to provide screening tools that would enable the early detection of cervical neoplasms. Based on evidence suggesting that infection caused by the human papilloma virus (HPV) is the primary reason of cervical cancer, the carcinogenic HPV test was recently introduced into cervical neoplasms screening in some countries. This review had the objective of evaluating the HPV applicability test as primary screening of cervical neoplasms, comparing the sensitivity and specificity of this test with the Pap one, as well as the costs involved and the impact on the morbimortality of the disease.

<sup>1</sup> Médico especialista em Ginecologia e Obstetria pela Maternidade Odete Valadares; Coordenador da Pós-Graduação em Ginecologia e Obstetria do Instituto de Ensino e Pesquisa Médica de Minas Gerais (Ipemed) – Belo Horizonte (MG), Brasil

<sup>2</sup> Professor-Associado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – Belo Horizonte (MG), Brasil

Endereço para correspondência: Gustavo Alvarenga Rocha – Rua Dr. Célio de Andrade, 201/904 – Buritis – Belo Horizonte (MG), Brasil – CEP 30575-265 – E-mail: gustavoalvarenga@hotmail.com

## Introdução

O câncer cervical é o segundo mais comum em mulheres no Brasil (correspondendo a 19,18% dos tumores femininos) e no mundo. Estima-se que, em 2008, houve 18.680 novos casos (19 casos/100.000 mulheres) no país, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (Inca). Oitenta e três por cento dos casos de mortes ocorrem em países em desenvolvimento, onde o câncer cervical é responsável por 15% das neoplasias malignas em mulheres. Nos países desenvolvidos este percentual é muito menor, correspondendo a 3,6% dos casos de câncer<sup>1</sup>(C).

Nas décadas de 1960 e 1970, a incidência dessas neoplasias em países desenvolvidos era semelhante àquela dos países em desenvolvimento. A redução da incidência do câncer cervical nos países desenvolvidos e, conseqüentemente, da mortalidade a ele associada é atribuída a programas efetivos de rastreamento com o teste de Papanicolaou. Entretanto, este teste possui algumas limitações, como baixa sensibilidade, baixo valor preditivo positivo e baixa reprodutibilidade<sup>2</sup>(C).

Baseado nas evidências de que a infecção pelo papilomavírus humano (HPV) seja a causa primária do câncer cervical<sup>3</sup>(C), a pesquisa de HPV carcinogênicos foi recentemente introduzida em alguns países como método de rastreamento das neoplasias cervicais<sup>4</sup>(C). Em 2003, o *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o teste de captura híbrida (CH) II, associado ou não ao teste de Papanicolaou, como prova de rastreamento primário em mulheres acima dos 30 anos de idade<sup>2</sup>(C).

Vários estudos avaliaram a pesquisa de HPV oncogênicos no rastreamento primário do câncer cervical, mas será que este teste está pronto para ser utilizado com este objetivo? Esta é a pergunta que tentaremos responder com a presente revisão.

## Prevalência do HPV e associação com o câncer cervical

O câncer cervical resulta do crescimento descontrolado de células anormais do colo uterino. É uma doença de crescimento lento que acomete principalmente mulheres adultas, sexualmente ativas.

O fator de risco mais importante é a infecção pelo HPV, a doença sexualmente transmissível mais comum em mulheres de todo o mundo. A prevalência de HPV nas mulheres assintomáticas, em geral, varia de 2 a 44%, e a prevalência global do vírus gira em torno de 10,4%<sup>5</sup>(C). Estima-se que 50 a 80% das mulheres sexualmente ativas são infectadas por um ou mais tipos de vírus em algum momento de suas vidas<sup>6</sup>(C). Os subtipos

de HPV classificados como sendo de alto grau são aqueles que apresentam maior potencial oncogênico, estando presentes em 99% das neoplasias malignas cervicais<sup>7</sup>(A).

Outros fatores de risco conhecidos para o desenvolvimento do câncer cervical são: início precoce da atividade sexual, múltiplos parceiros, uso prolongado de contraceptivos orais e injetáveis, imunossupressão, tabagismo, ectopia cervical, dentre outros<sup>8</sup>(C).

Programas de saúde pública buscam rastrear as mulheres para detectar precocemente as lesões precursoras de neoplasias cervicais e tratá-las e, assim, reduzir a morbimortalidade da doença.

## Métodos de rastreamento do câncer cervical

O teste de Papanicolaou, desenvolvido em 1934 por George Papanicolaou para diagnosticar o câncer de colo uterino a partir da análise do esfregaço vaginal, é utilizado para detectar a presença de células anormais na mucosa cervical.

Estudos descritivos têm mostrado redução dramática na incidência e da mortalidade por câncer cervical em alguns países desenvolvidos com o rastreamento citológico periódico<sup>9</sup>(B). Contudo, o teste tem falhado, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a morbimortalidade das neoplasias cervicais ainda permanece elevada<sup>10</sup>(A).

Existem várias razões para explicar essa falha, incluindo erros amostrais e de interpretação laboratorial no diagnóstico de lesões. O teste de Papanicolaou é baseado em uma interpretação subjetiva das alterações morfológicas celulares, e depende de amostras coletadas adequadamente<sup>11,12</sup>(C).

Segundo o consenso atual de que o HPV é o fator de risco em comum das neoplasias cervicais<sup>3</sup>(C), métodos de biologia molecular que pesquisam a presença do DNA viral do HPV têm sido cada vez mais utilizados.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é um método que utiliza a síntese enzimática de DNA, determinando amplificação específica e exponencial de um determinado fragmento desse ácido nucleico milhões de vezes. A realização dessa reação na presença de *primers* ou sequências iniciadoras específicas para um determinado tipo viral permite a amplificação do DNA desejado, mesmo quando presente em pequenas quantidades.

A CH é uma técnica molecular muito específica que fornece a tipagem viral por grupos, além de permitir a estimativa da carga viral. Sondas de RNA complementares à área específica do genoma pesquisado são utilizadas. Na presença de partículas virais, formam-se os híbridos que são constituídos pelo

DNA viral e as sondas específicas. Estes são capturados na parede do tubo de reação recoberta com anticorpos específicos, marcados com fosfatase alcalina. A seguir, é realizada a leitura do material com técnicas de quimioluminescência. O teste de CH I (primeira geração) pesquisa os HPV oncogênicos 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 e 56. O teste de CH II (segunda geração) pesquisa quatro tipos de HPV adicionais: 39, 58, 59 e 68.

## Estudos comparativos entre o teste de Papanicolaou e os testes de biologia molecular

Sabe-se que a pesquisa de HPV oncogênico (teste de HPV) é mais sensível, mas menos específica que a citologia convencional (Papanicolaou) na identificação de lesões intraepiteliais de alto grau – lesões precursoras das neoplasias cervicais malignas<sup>11(C)</sup>.

Uma grande coorte europeia, que envolveu 24.295 mulheres de seis países, avaliou valores preditivos da citologia e do teste de HPV no diagnóstico das neoplasias cervicais intraepiteliais (NIC) grau 3, ou câncer. O teste de HPV apresentou menor especificidade que a citologia, concordando com outros estudos disponíveis na literatura (Tabela 1). Esta baixa especificidade foi responsável por um número maior de falsos-positivos e muitas mulheres foram referenciadas para colposcopia e, conseqüentemente, submetidas a métodos diagnósticos como a biópsia cervical, sem apresentarem lesões com importância clínica<sup>9(B)</sup>.

Cuzick et al. encontraram sensibilidade de 96,1% (IC 95% = 94,2-97,4%) para o diagnóstico de lesões intraepiteliais de alto

grau, usando teste de biologia molecular para o HPV, e observaram que o teste não se alterou com a idade das pacientes. A especificidade geral encontrada foi 90,7% (IC95%=90,4-91,1%). Analisada por grupos etários, a especificidade aumentou com a idade das pacientes: 76,5% (IC95%=72,8-79,8%) nas mulheres mais jovens e 93,3% (IC95%=92,9-93,6%) nas mulheres com 35 anos ou mais<sup>13(B)</sup>.

O estudo *New Technology in Cervical Cancer* (NTCC), comparando o rastreamento citológico cervical com o teste do HPV em 24.661 mulheres, encontrou sensibilidade para o teste de HPV de 63% maior que citologia - sensibilidade relativa 1,63 (IC95% = 1,25-2,12) para teste de HPV *versus* 1 para citologia convencional, quando realizado em mulheres acima dos 35 anos de idade.<sup>14</sup> (A) Nessa faixa etária a perda em especificidade é menor, segundo estudos europeus e norte-americanos, que encontraram especificidade de 93,3% na pesquisa de HPV *versus* 97,1% para a citologia convencional (p<0,001)<sup>13(B)</sup>.

Inúmeras estratégias têm sido avaliadas para aumentar a especificidade dos métodos de rastreamento do câncer cervical, e este parece ser o grande desafio atual. A infecção pelo HPV entre as mulheres declina após os 25 anos de idade e, em torno de 35 a 40 anos, atinge um platô. Mulheres mais jovens apresentam infecções transitórias que regredem rapidamente, sem causar doença clinicamente significativa. Assim, o uso da pesquisa de HPV oncogênicos tem sido recomendado apenas para mulheres acima dos 30 anos de idade, aumentando, assim, a especificidade do método. A sensibilidade não é afetada pela idade<sup>13(B)</sup>.

Alguns estudos propõem referenciar para colposcopia apenas as pacientes portadoras de HPV oncogênico e com exame citológico

**Tabela 1** - Valores comparativos de sensibilidade e especificidade da citologia convencional (Papanicolaou) e pesquisa de HPV para lesões intraepiteliais de alto grau

Autores (ano)	n	Desenho do estudo	Teste de HPV	Teste de Papanicolaou		Teste de HPV	
				Sensibilidade % (IC95%) ou valor de p	Especificidade % (IC95%) ou valor de p	Sensibilidade% (IC95%) ou valor de p	Especificidade % (IC95%) ou valor de p
Dillner et al.9	24.295	Coorte	CHIIa	59,9	95,4	89,9	89,3
			PCRb	(34,8-68,3)	(93-97,7)	(79,6-94,9)	(92,9-94,2)
Cuzick et al.13	>60.000	Revisão	CHIIa	55	96,9	96,1	91,6
			PCRb	p=0,01	p<0,001	p=0,86	p<0,001
Mayrand et al.12	10.154	Ensaio clínico	CHIIa	57,7	80,9	82,8	61,1
				(36,9-76,6)	(77,7-83,9)	(64,2-94,2)	(57,4-64,8)
Sankaranarayanan et al.10	131.746	Ensaio clínico	CHIIa	-	-	90,2	84,2
Baseman et al.2	4.799	Ensaio clínico	CHIIa	-	-	88,2	79,9
				-	-	(69,9-97,3)	(74,2-83,9)

aCHII: captura híbrida II; bPCR: reação em cadeia de polimerase.

alterado. Aquelas com teste de HPV positivo, sem alterações no exame de Papanicolaou, deveriam repetir o teste em um curto intervalo de tempo, e só se submetteriam à colposcopia se houvesse a persistência da infecção. Isso aumentaria a especificidade do método, evitando que as mulheres com infecções transitórias sejam submetidas a outros métodos propedêuticos<sup>14</sup>(A).

A persistência do HPV, na maioria dos estudos, é comumente definida como a presença de dois ou mais testes positivos para o DNA do vírus, em intervalo de tempo que varia de 6 a 12 meses. Contudo, esta definição é dificultada por diferenças nos métodos de detecção, intervalos dos testes e do *status* para análise; tipo específico *versus* não-específico de persistência de HPV; restrição a tipos carcinogênicos; tipos individuais ou positividade para todos HPV; *status* do HPV basal e necessidade de estabelecer critérios para a *clearance* da infecção.<sup>7</sup>

Metanálise, que incluiu 22.500 mulheres, concluiu que a persistência do HPV foi forte e consistentemente associada com lesões de alto grau [RR=33,3; (p<0,0005)] quando comparado com mulheres não-infectadas pelo HPV, enfatizando o valor da persistência do HPV como marcador clínico para as neoplasias intraepiteliais cervicais, e sugerindo que o teste de HPV pode ser usado em programas de rastreamento do câncer do colo uterino com o objetivo de identificar as mulheres de alto risco. A força da associação entre a persistência do HPV e a presença da neoplasia cervical aumenta com o grau da doença cervical. Assim, a positividade do HPV por longo período está claramente associada com a transformação neoplásica, sendo clinicamente relevante para a prevenção do câncer cervical<sup>15</sup>(A).

Diversos estudos têm mostrado benefícios no rastreamento das lesões cervicais, associando-se a citologia de Papanicolaou e os testes de biologia molecular. Ratnam, Franco e Ferenczy concluíram, em estudo realizado no Canadá, que a adição do teste de HPV à citologia, como método de rastreamento, resultou em ganhos substanciais na sensibilidade sem, contudo, reduzir a especificidade<sup>11</sup>(C). Outro estudo, realizado nos Estados Unidos, demonstrou que o rastreamento do câncer cervical com citologia e teste de HPV associados pode ser uma boa estratégia para mulheres acima dos 30 anos, com aumento significativo na sensibilidade e especificidade<sup>2</sup>(C).

Anttila et al.<sup>16</sup>(A), em estudo realizado na Finlândia, assim como Ronco e Giorgi-Rossi<sup>17</sup>(C), avaliando mulheres da Itália, propõem o exame citológico para as pacientes portadoras de HPV oncogênicos como forma de selecionar aquelas que serão referenciadas para a colposcopia.

Um grande estudo, realizado em mulheres que vivem na área rural da Índia, comparou o teste de HPV, a citologia convencional e a inspeção visual do colo com ácido acético no rastreamento

primário do câncer cervical. Foram recrutadas 131.746 mulheres entre 30 e 59 anos de idade, que foram randomizadas em quatro grupos, incluindo o Controle. A capacidade de detectar lesões epiteliais de alto grau e câncer cervical invasivo foi semelhante nos três grupos. Entretanto, no grupo submetido à pesquisa de HPV, observou-se menor incidência de tumores cervicais avançados: HPV teste 14,5/100000 (HR=0,47; IC95%=0,32-0,69); citologia 23,2/100000 (HR=0,15; IC95%=0,51-1,10); inspeção visual 32,2/100000 (HR=1,04 IC95%=0,72-1,49) e Controle 33,1/100000 (HR=1). Menor mortalidade também foi constatada: HPV teste 12,7/100000 (HR=0,52; IC95%=0,33-0,83); citologia 21,5/100000 (HR=0,89; IC95%=0,62-1,27); inspeção visual 20,9/100000 (HR=0,86; IC95%=0,60-1,25) e Controle 25,8/100000 (HR=1). O teste também apresentou outras vantagens: sensibilidade mais alta para diagnosticar lesões com maior potencial de transformação maligna; era mais reprodutível que os demais e demandava menor tempo de treinamento para a coleta. O estudo concluiu que o teste de HPV foi mais adequado para o rastreamento primário das neoplasias cervicais em mulheres acima dos 30 anos, embora apresentasse custo mais elevado<sup>10</sup>(A).

Ronco e Giorgi-Rossi também concluíram que o teste de HPV é seguro para ser utilizado no rastreamento primário do câncer cervical, mas chamam a atenção para alguns aspectos que ainda precisam ser definidos, como a idade ideal para se iniciar o rastreamento, o intervalo de tempo entre as coletas e o melhor seguimento das mulheres portadoras de vírus oncogênicos<sup>17</sup>(C).

## Custo dos testes de biologia molecular

Sankaranarayanan et al., estudando mulheres indianas, estimaram um custo médio do teste de HPV, utilizando a técnica de CH II, de 20 a 30 dólares por exame<sup>10</sup>(A). Goldhaber-Fiebert e Goldie compararam os custos com a citologia convencional nos Estados Unidos. O teste de Papanicolaou custou entre 4,85 a 40,54 dólares, e o teste de HPV de 11,30 a 48,77 dólares<sup>18</sup>(C).

O custo mais elevado da pesquisa do HPV poderia ser compensado pelo aumento do intervalo de rastreamento. Há um consenso na literatura atual sobre o aumento seguro deste intervalo, baseado na maior sensibilidade do método<sup>14</sup>(A). Entretanto, ainda não existe um consenso sobre quantos anos de intervalo, entre um rastreamento e outro, deve ser estabelecido. A partir dos resultados encontrados entre as mulheres da grande coorte europeia, os autores sugeriram um intervalo de rastreamento de até seis anos para as mulheres que não apresentavam a infecção viral<sup>9</sup>(B). Um protocolo americano propôs intervalo de

três anos para pacientes com teste de HPV negativo e citologia normal<sup>19</sup>(C).

Ratnam, Franco e Ferenczy sugeriram um intervalo de rastreamento de cinco anos para mulheres com resultados de citologia e pesquisa de HPV negativos, e chamaram a atenção para a redução ainda maior dos custos quando se referencia menos pacientes para exames de colposcopia e biópsia<sup>11</sup>(C).

## Discussão

O cenário atual do rastreamento do câncer cervical mostra que países desenvolvidos conseguiram reduzir a morbimortalidade da neoplasia por meio de adequadas políticas de saúde pública, que garantiram cobertura efetiva da população feminina, utilizando o teste de Papanicolaou. Em contrapartida, países em desenvolvimento ainda apresentam índices alarmantes e inadmissíveis da doença.

Como entender que um tumor facilmente evitável ocupe o segundo lugar entre as neoplasias que mais acometem as mulheres em todo o mundo? Uma explicação plausível são as falhas nas estratégias de saúde pública, ao não garantir o acesso universal da população feminina aos exames de rastreamento para a prevenção da doença. Gakidou, Nordhagen e Obermeyer avaliaram a cobertura do rastreamento do câncer cervical em 57 países. Eles encontraram uma média de 19% de cobertura em países em desenvolvimento *versus* 63% nos desenvolvidos. Grandes discrepâncias foram encontradas naqueles em desenvolvimento, a exemplo de Bangladesh (1%) e Brasil (73%), mas este acesso *per se* não parece ser suficiente para reduzir de forma significativa a incidência da doença, e outros fatores devem ser considerados, como falhas nos métodos de rastreamento<sup>1</sup>(C).

O uso da biologia molecular para pesquisa do HPV surge como uma alternativa para aumentar a sensibilidade do rastreamento e reduzir efetivamente a incidência de câncer cervical. Castle<sup>4</sup>(C), Dillner et al.<sup>9</sup>(B), Ronco et al.<sup>14</sup>(A) e Koshiol et al.<sup>15</sup>(A) concluíram que a pesquisa de HPV oncogênicos é mais sensível que o exame de Papanicolaou para identificar as lesões cervicais, porém menos específico. O número de falsos positivos é, conseqüentemente, maior e esforços estão sendo feitos no sentido de aumentar a especificidade, evitando, assim, procedimentos desnecessários.

Uma alternativa razoável é considerar que apenas infecções persistentes, isto é, pacientes apresentando dois testes de HPV positivos em intervalo de 6 a 12 meses, são relevantes na carcinogênese<sup>15</sup>(A). A associação do exame citológico convencional com a pesquisa de HPV também tem se mostrado efetiva para aumentar a sensibilidade do rastreamento sem, contudo, perder em especificidade<sup>11</sup>(C).

## Comentário final

No cenário atual, em que a compreensão sobre a relação de causalidade da infecção pelo HPV e o câncer cervical é mais ampla, parece-nos ser inevitável incluir, em algum momento, a pesquisa do vírus nos programas de rastreamento dessa neoplasia. Observa-se, nos estudos analisados, que o teste de detecção do HPV apresenta grande potencial para melhorar a qualidade do rastreamento, podendo reduzir efetivamente a morbimortalidade da doença. Entretanto, ainda são necessários estudos mais consistentes para sustentar o uso da biologia molecular com forma de rastreamento primário do câncer cervical, capazes de definir parâmetros para sua utilização, evitando, assim, elevação de custos e tratamentos desnecessários.

## Leituras suplementares

- Gakidou E, Nordhagen S, Obermeyer Z. Coverage of Cervical Cancer Screening in 57 Countries: Low Average Levels and Large Inequalities. *PLoS Med.* 2008;5(6):e132. doi:10.1371/journal.
- Baseman JG, Kulasingam SL, Harris TG, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, et al. Evaluation of primary cervical cancer screening with an oncogenic human papillomavirus DNA test and cervical cytologic findings among women who attended family planning clinics in the United States. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(1):26.e1-8.
- Zur Hausen H. Papillomaviruses in causation of human cancers – a brief historical account. *Virology.* 2009;384(2):260-5.
- Castle PE. Invited commentary: is monitoring of human papillomavirus infection for viral persistence ready for use in cervical cancer screening? *Am J Epidemiol.* 2008;168(2):138-44.
- Burchell AN, Winer RL, de Sanjosé S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 3:S3/52-61.
- Hoque M, Hoque E, Kader SB. Evaluation of cervical cancer screening program at a rural community of South Africa. *East Afr J Public Health.* 2008;5(2):111-6.
- Ralston Howe E, Li Z, McGlennen RC, Hellerstedt WL, Downs LS Jr. Type-specific prevalence and persistence of human papillomavirus in women in the United States who are referred for typing as a component of cervical cancer screening. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(3):245.e1-7.
- Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine.* 2006;24 Suppl 1:S1-15.
- Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical screening: joint European cohort study. *BMJ.* 2008;377:a1754.
- Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM, et al. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med.* 2009;360(14):1385-94.
- Ratnam S, Franco EL, Ferenczy A. Human papillomavirus testing for primary screening of cervical cancer precursors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2000;9(9):945-51.
- Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med.* 2007;357(16):1579-88.

13. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer JLM, Hoyer H, Rantnam 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.
14. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A, et al. Results at recruitment from a randomized controlled trial comparing human papillomavirus testing alone with conventional cytology as the primary cervical cancer screening test. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(7):492-501.
15. Koshiol J, Lindsay L, Pimenta JM, Poole C, Jenkins D, Smith JS. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2008;168(2):123-37.
16. Anttila A, Hakama M, Kotaniemi-Talonen L, Nieminen P. Alternative technologies in cervical cancer screening: a randomized evaluation trial. *BMC Public Health*. 2006;6:252.
17. Ronco G, Giorgi-Rossi P. New paradigms in cervical cancer prevention: opportunities and risks. *BMC Womens Health*. 2008;8:23.
18. Goldhaber-Fiebert JD, Goldie SJ. Estimating the cost of cervical screening in five developing countries. *Cost Eff Resour Alloc*. 2006;4:13.
19. Huang AJ, Pérez-Stable EJ, Kim SE, Wong ST, Kaplan CP, Walsh JM, et al. Preferences for human papillomavirus testing with routine cervical cancer screening in diverse older women. *J Gen Intern Med*. 2008;23(9):1324-9.