



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**“Evaluación de la autotoma vaginal como
método de recolección de muestra útil para
detectar VPH-AR”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

PRESENTA:

ANA ELVIRA ZACAPALA GOMEZ

DIRECTORA DE TESIS: Dra. Berenice Illades Aguiar

CO-DIRECTOR: Dr. Eduardo César Lazcano Ponce



CHILPANCINGO, GRO. , ENERO DE 2012.

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Biomedicina Molecular y Citopatología de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero y en el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) de Cuernavaca Morelos, bajo la dirección de la Dra. Berenice Illades Aguiar y la Co-dirección del Dr. Eduardo César Lazcano Ponce.



El trabajo fue financiado por el FOMIX Guerrero-CONACYT mediante el proyecto titulado “Nuevas estrategia de prevención de cáncer cérvicouterino en el estado de Guerrero” en la convocatoria 2008-2, con la clave 108567.



AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Berenice Illades Aguiar:

Gracias por haber confiado en mí para realizar parte de su proyecto de investigación, por el tiempo dedicado para compartir parte de sus conocimientos, por todo su apoyo tanto laboral como económico, por su paciencia, dedicación y sobre todo por su asesoría en este trabajo de investigación.

A mis sinodales:

Dra. Luz del Carmen Alarcón Romero, Dra. Gloria Fernández Tilapa y el Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez, por el tiempo, conocimientos y apoyos brindados. Gracias por aportar sus acertadas ideas para mejorar este proyecto.

Al INSP

Al Dr. Eduardo Lazcano-Ponce, Dra. María Del Pilar Hernández Nevarez y al personal que labora en el Departamento de Epidemiología del Cáncer por permitir realizar gran parte del trabajo de investigación en sus instalaciones y por apoyarnos en el procesamiento de las muestras.

Al laboratorio de Biomedicina Molecular

A la QBP. Natividad Sales Linares, QBP. Josué Feliciano Ortiz, M en C. Alinne Rivas Alarcón y M en C. Noelio Zamudio López por su apoyo, paciencia, dedicación y sobre todo por transmitirme parte de sus conocimientos. A las QBPs. Mireya, Eli, Liliana y Ana Lilia por apoyarme en la sensibilización y procesamiento de las muestras. Gracias por la amistad demostrada.

Al Laboratorio de Citopatología.

A la M en C. Arianna Vega Peña y a la QBP. Ma. Isabel Zubillaga Guerrero por todo su apoyo brindado para la recolección y procesamiento de muestras, además muchas gracias por su amistad. También a las QBPs. Azucena y Karen por su apoyo en la sensibilización de las pacientes y procesamiento de muestras.

Dra. Eugenia Flores Alfaro

Por toda su paciencia, dedicación y apoyo en el análisis estadístico de este trabajo, gracias a usted aprendí nuevas cosas que me permitieron interpretar los resultados de mi tesis. Gracias por la amistad brindada.

DEDICATORIAS

A mi familia

A mi mama: Por su apoyo incondicional para lograr esta nueva meta, por haber confiado en mí, por su cariño, comprensión y sobre todo por quererme mucho, sabes que es reciproco.

A mi hermana: Por su apoyo incondicional para que yo lograra este sueño, gracias por todo. Te quiero mucho

A mi sobrinito Erick Mahonri (Arias: Panchito): Mi niño te quiero mucho.

José González: Por apoyarme en esta etapa de mi vida

A mis amigos (a)

Por brindarme su amistad y apoyarme en este sueño, gracias a: Abuelita Hilda, Abuelito Julio, Agus, Angélica, Carmen, Efra, Evelin, Fredy, Hugo, Janet, Jesús Moreno, Manuel Joaquín y Tío Javier.

Compañeros y amigos

Muchas gracias a todos mis compañeros de la generación de maestría 2009-2011, a pesar de que con ninguno de ustedes había convivido antes, se convirtieron en mis amigos en poco tiempo, en especial gracias a: Ángel, Cahua, Carlos Rangel, Faby, Faustino, Heidi, Jorge, Linda Anahí, Mario, Ramón, Tomas, Victor y Zuby.

José Carlos Bustos de los Santos

Gracias niño por apoyarme en la realización de este sueño, tu ayuda fue muy importante para lograr esta meta, muchas gracias por estar ahí cuando más lo necesite y por compartir conmigo este momento de felicidad. Te quiero muchísimo y lo sabes

!!!Gracias a **DIOS** por haberme permitido llegar hasta esta etapa de mi vida y gozar de salud para lograr mis metas!!!

ÍNDICE

	Páginas
Resumen	1
Abstract	2
I. Introducción	3
II. Materiales y métodos	6
III. Resultados	10
IV. Discusión	20
V. Conclusiones	27
VI. Anexo	28
VII. Referencias	29

RESUMEN

Introducción. El cáncer cérvicouterino sigue siendo un problema de salud pública y en el estado de Guerrero no se ha logrado disminuir la morbi-mortalidad a pesar de la existencia del programa de detección oportuna de esta patología. **Objetivos.** Analizar si en mujeres del estado de Guerrero la autotoma vaginal es un procedimiento aceptado como método de recolección de muestra y que permita la detección del virus de papiloma de alto riesgo (VPH-AR) y de lesión escamosa intraepitelial (LEI). También fue objetivo de este trabajo comparar la captura de híbridos 2 (hc2) con la PCR (MY/GP) para la detección de VPH-AR. **Materiales y métodos.** Se estudiaron 300 mujeres que trabajan en la Universidad Autónoma de Guerrero como profesoras, administrativas y de intendencia, a todas se les practicó una toma exo-endocervical y se practicaron una autotoma vaginal. La detección del VPH-AR se realizó por hc2 y PCR MY/GP, la detección de LEI se realizó por Papanicolaou (toma exo-endocervical) y por hc2 (autotoma vaginal y toma exo-endocervical). La comparación entre PCR y hc2 se realizó por la prueba de Chi-cuadrada de Mc-Nemar. Los resultados de ambos métodos de muestreo se validaron a través del estadístico Kappa. **Resultados.** El 53% de las trabajadoras universitarias prefiere la autotoma vaginal. El promedio de la carga viral es mayor en muestras de toma exo-endocervical, pero la frecuencia de VPH-AR en muestras de autotoma fue de 14% y en toma exo-endocervical fue de 12% cuando se detectó por hc2. La frecuencia de VPH-AR en autotoma fue de 21%, mientras que en toma exo-endocervical fue de 32% cuando se detectó VPH-AR por PCR. Existe una concordancia del 70% ($k=0.256$) entre los resultados de autotoma vaginal y toma exo-endocervical para detectar VPH-AR por PCR y del 91.0% ($k=0.607$) cuando la detección es por hc2. La concordancia entre PCR y hc2 en muestras de toma exo-endocervical fue de 66.8% ($k= 0.083$) y en muestras de autotoma vaginal fue del 74.3% ($k=0.131$). La concordancia entre hc2 de muestras de toma exo-endocervical y el diagnóstico citológico fue del 61.67% ($k = 0.056$) y cuando hc2 fue de muestras de autotoma vaginal fue del 62.67% ($k = 0.094$). **Conclusiones.** Las trabajadoras universitarias prefieren la autotoma vaginal que la toma exo-endocervical. La carga viral encontrada en muestras de autotoma vaginal es menor a la encontrada en toma exo-endocervical, sin embargo, la presencia de VPH en canal vaginal se correlaciona con lo encontrado en toma exo-endocervical lo que hace a la autotoma vaginal un método de recolección de muestra factible para mujeres que se resisten a la toma exo-endocervical. La detección de VPH-AR es más eficiente por PCR MY/GP que por hc2.

Palabras claves. Autotoma vaginal, toma exo-endocervical, VPH-AR, hc2, PCR.

ABSTRACT

Introduction. Cervical cancer remains a public health problem and the state of Guerrero has not succeeded in reducing morbidity and mortality despite the existence of the program for early detection of this disease. **Objectives.** To analyze whether self-collected vaginal is an accepted procedure as sample collection method by women in the state of Guerrero and allows the detection of high risk human papillomavirus (HR-HPV) and squamous intraepithelial lesion (SIL). An additional objective was to compare the hybrid capture 2 (hc2) with the PCR (MY/GP) for HR-HPV detection. **Materials and methods.** We studied 300 women in the Autonomous University of Guerrero (professors and employees). All underwent a physician collected exo-endocervical samples and self-collected vaginal samples. The HR-HPV detection was performed by PCR (MY/GP) and hc2, LEI detection was performed by Papanicolaou (physician collected) and hc2 (self-collected vaginal and physician collected). Comparison between PCR and hc2 was performed by Chi-square test of Mc-Nemar. The results of both sampling methods were validated by Kappa statistic. **Results.** Self-collected vaginal samples were preferred by 53% of studied women. The average viral load was higher in samples physician collected than self-collected, but the frequency of HR-HPV from self-collected vaginal samples was 14% and physician collected was 12% when detected by hc2. The frequency of HR-HPV in self-collected vaginal samples was 21%, while physician collected was 32% when HR-HPV was detected by PCR. There is an agreement of 70% ($k=0.256$) between the results self-collected vaginal and physician collected to detect HR-HPV by PCR and 91.0% ($k=0.607$) when detection is by hc2. The agreement between PCR and hc2 on physician-collected samples was 66.8% ($k=0.083$), in self-collected vaginal samples was 74.3% ($k=0.131$). The agreement between hc2 of samples physician collected and cytologic diagnosis was 61.67% ($k=0.056$) and hc2 from self-collected samples was 62.67% ($k=0.094$). **Conclusions.** The university professors and employees prefer self-collected vaginal samples than physician-collected cervical samples. The viral load found in self-collected vaginal samples is less than that found in physician collected samples. However, the presence of HPV in vaginal canal correlates with that found in physician collected samples, thus self-collected is a feasible method of sample collection for women who resist physician-collected. HR-HPV detection is more efficient using PCR MY/GP than hc2.

Keywords. Self-collected vaginal, physicians collected, HR-HPV, hc2, PCR.

INTRODUCCIÓN

El cáncer cérvicouterino (CaCU) es un problema de salud pública en México, es el segundo tipo de cáncer que causa más muertes entre las mujeres mexicanas, con una tasa de mortalidad de 9.1 por 100,000 mujeres en 2008. La mortalidad por CaCU en el estado de Guerrero fue de 11 por 100,000 mujeres en 2005 y de 12.5 en 2008, Guerrero está colocado en cuarto lugar en México por mortalidad debido a este padecimiento (Secretaría de Salud, 2011).

La detección oportuna de CaCU no ha obtenido los resultados esperados (disminuir la morbi-mortalidad por este padecimiento) en países en desarrollo como el nuestro porque durante muchos años no fue una prioridad en salud. No obstante que el Programa de Detección Oportuna de Cáncer Cérvicouterino (PDOC) inició en México desde 1974, ha tenido un impacto bajo en la disminución de esta enfermedad a nivel nacional (Lazcano *et al.*, 2008; Flores *et al.*, 2008.) y prácticamente nulo en el estado de Guerrero (Secretaría de Salud, 2011). Este estado es uno de los que presentan los más altos índices de marginación y de población sin cobertura de seguridad social para los servicios de salud (47.7%) (Palacio-Mejía *et al.*, 2003). El PDOC tiene baja cobertura en regiones rurales, altos costos, infraestructura física limitada para el diagnóstico, recursos humanos limitados y con cito-tecnólogos deficientes profesionalmente, escaso conocimiento de la población en riesgo de padecer este cáncer y resistencia de algunas mujeres a la toma de muestra exo-endocervical (Lazcano *et al.*, 2008).

El hallazgo de que la infección con genotipos de alto riesgo del virus del papiloma humano (VPH) es una causa necesaria para el desarrollo de cáncer cérvicouterino (Walboomers *et al.*, 1999), abrió nuevas oportunidades para la prevención de la enfermedad. Los VPH tipo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51 52, 56, 58, 59 y 66 son carcinógenos humanos y se han clasificado como de alto riesgo u oncogénicos (Cogliano *et al.*, 2005; Muñoz *et al.*, 2006). VPH 26, 53, 68, 73 y 82 son probables carcinógenos, VPH 6, 11, 13, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y 89 son de bajo riesgo. Para los VPH 2a, 3, 7, 10, 27, 28, 29, 30, 32, 34, 55, 57, 62, 67, 69, 71, 74, 77, 83, 84, 85, 86, 87, 90, 91 no está determinado el riesgo de causar cáncer cérvicouterino (Muñoz *et al.*, 2006). Los tipos de VPH de alto riesgo (VPH-AR) más comúnmente encontrados en carcinoma de células escamosas en

el estado de Guerrero son: VPH 16 (65.5%), VPH-18 (9.3%), VPH-31 (7.6%), VPH-45 (5.1%) y VPH-58 (4.2%) (Illades-Aguiar *et al.*, 2009).

La prevención secundaria del CaCU mejoró con la introducción de pruebas sensibles para la detección de ADN del VPH, lo que mejora los programas tradicionales basados en el Papanicolaou (Franco *et al.*, 2008). La detección de la infección por VPH-AR junto con los hallazgos citológicos anormales, representa actualmente una herramienta poderosa para predecir el riesgo que tiene una mujer para desarrollar cáncer (Johnson *et al.*, 2008).

La prueba de captura de híbridos (hc2) para la detección de ADN del VPH (Digene) detecta 13 VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) y 5 de bajo riesgo (6, 11, 42, 43, 44). Actualmente es la única prueba aprobada por la FDA de los Estados Unidos para la detección de VPH y es la más ampliamente utilizada. La captura de híbridos, además de detectar la presencia de VPH, se considera que también detecta lesión intraepitelial escamosa (LEI) mediante carga viral (>5000 copias virales sugiere presencia de LEI) (Molijn *et al.*, 2005, Hibrid capture® High-Risk HPV DNA Test®). Es una herramienta de tamizaje efectiva que detecta más del 90% de lesión escamosa intraepitelial de grado alto (LEIGA), es 25% más sensible que la citología pero 6% menos específica, con una sensibilidad analítica de 5,000 copias del virus/ml de muestra (Cuzik *et al.*, 2008).

Aunque hc2 ha mostrado ser una prueba sensible y confiable (Castle *et al.*, 2004; Lörincz y Anthony 2001; Kulmala *et al.*, 2004), se ha observado inexactitud analítica cerca de valor del corte (Poljak *et al.*, 2002; Federschneider *et al.*, 2004; Schneede *et al.*, 2001; ALTS Study Group 2000). Entre las limitaciones significativas de hc2 están: (1) No permite identificar el genotipo del VPH, (2) presenta un número significativo de falsos positivos a VPH-AR (10-19%) (Poljak *et al.*, 2002; Seme *et al.*, 2006) en ausencia de VPH-AR o debido a reacción cruzada con VPH de bajo riesgo, (3) se ha asociado con un número significativo de falsos negativos, hasta 25% en casos de LEIGA que son positivas en ensayos por PCR (Lonky *et al.*, 2003), (4) no permite dar seguimiento a infecciones persistentes del VPH y (5) al no identificar el tipo viral no puede utilizarse para saber si una mujer puede vacunarse o no, considerando que la vacuna no es efectiva cuando hay infecciones previas por VPH específicos, contra los cuales la vacuna pretende inmunizar (Lee *et al.*, 2007).

Actualmente varios métodos están bajo evaluación para hacer frente a la baja especificidad de la detección del VPH mediante hc2, estos métodos están dirigidos a la detección y tipificación de genotipos de alto riesgo. Un método más exacto y sensible es el uso de ensayos de PCR consenso utilizando iniciadores dirigidos a regiones conservadas del genoma del VPH. La tecnología de la PCR anidada utilizando los iniciadores consenso MY09/MY11 y GP5+/GP6+ que amplifican una región del gen L1 del VPH es una técnica altamente sensible que detecta 500 copias del DNA viral/ml de muestra, que seguida de la técnica de restricción de fragmentos polimórficos de longitud variable (RFLP) o secuenciación del ADN permite la identificación de los genotipos del VPH (Lee *et al.*, 2007; Johnson *et al.*, 2003).

Es muy importante encontrar alternativas que mejoren el tamizaje de cáncer cérvicouterino y estrategias que aumenten la cobertura, mejoren el desempeño y las posibilidades técnicas, y permitan intervenciones más costo-efectivas de prevención y de control del cáncer. El método de recolección de la muestra es una limitante en mujeres que no aceptan el examen pélvico o en comunidades en las que no cuentan con personal médico entrenado o con instalaciones apropiadas. La autotoma vaginal para la detección de ADN del VPH se ha planteado como una opción que posibilita el tamizaje en mujeres que viven en áreas geográficas marginadas con elevada morbi-mortalidad (Holanda *et al.*, 2006; Petignat, *et al.*, 2007; Sowjanya *et al.*, 2009; Lazcano *et al.*, 2011)

El objetivo de este trabajo fue analizar si en mujeres del estado de Guerrero la autotoma vaginal es un procedimiento aceptado como método de recolección de muestra y que permita la detección del virus de papiloma de alto riesgo (VPH-AR) y de lesión escamosa intraepitelial (LEI). También fue objetivo de este trabajo comparar la captura de híbridos 2 (hc2) con la PCR (MY/GP) para la detección de VPH-AR.

MATERIALES Y METODOS

Población de estudio

Se realizó un estudio transversal y de intervención de noviembre de 2009 a junio de 2011 en 300 mujeres que trabajan en la Universidad Autónoma de Guerrero como profesoras, administrativas o de intendencia, quienes son residentes de Chilpancingo, Acapulco e Iguala, Guerrero, México. Se incluyeron mujeres de 20 años en adelante, no histerectomizadas, no embarazadas y que dieron su consentimiento informado. Se realizó una campaña de promoción entre las profesoras y trabajadoras universitarias, y las mujeres que aceptaron participar en el estudio se asignaron a dos brazos de intervención: (1) autotoma de muestra vaginal y (2) muestra exo-endocervical obtenida por personal médico. Se les aplicó una encuesta que incluyó información sociodemográfica, antecedentes ginecobstétricos y de comportamiento sexual, así como otra encuesta que contestaron en privado acerca de la aceptación de la autotoma vaginal. Los resultados de los estudios realizados se entregaron a las mujeres participantes en el estudio.

Colección de muestras

Las mujeres participantes proporcionaron 2 muestras: Una por autotoma vaginal y la otra por raspado exo-endocervical obtenido por personal calificado.

Para la autotoma de muestra vaginal, se les explicaron las condiciones y mediante un folleto se les informó del procedimiento que deberían seguir. Se les solicitó que tomaran la muestra a la mitad del ciclo menstrual, sin haber tenido relaciones sexuales un día antes, sin estar bajo tratamiento vaginal y con aseo antes de la recolección de la muestra. La autotoma vaginal la realizaron en su casa, sin supervisión, separando los labios vaginales para evitar contaminación e introduciendo el cepillo cervical (Cervical sampler, Digene Corp. Gaithersburg, MD) aproximadamente 15 cm dentro de la vagina, girando 3 a 5 veces hacia la izquierda para después retirarlo, colocarlo en 1 ml de medio de transporte (STM, Digene, Corp.) y congelarlo. La muestra por autotoma vaginal se utilizó para la detección de VPH por PCR y por hc2.

La toma de muestra exo-endocervical se realizó 1 a 3 días después de la autotoma vaginal. Las células exfoliadas se colectaron tomando una muestra del exo-endocervix con una espátula de Ayre, y del endocervix con un cepillo cervical convencional; con este material se prepararon frotis para el examen citomorfológico utilizando Papanicolaou convencional y posteriormente el cepillo cervical se colocó en buffer de lisis (Tris 10mM pH 8.0 , EDTA 20 mM pH 8.0 y 0.5% de duodecil sulfato de sodio), el cual se removió después de obtener el material cervical y la muestra se almacenó a -20°C para posteriormente analizar la presencia de VPH por PCR. Adicionalmente, se tomó una muestra exo-endocervical, utilizando el dispositivo de Thinprep (Thinprep cytic Corp Marlborough MA), la cual se colocó en solución fijadora (Preserv cyt, Thinprep, cytyc Corp, Marlborough, MA) junto con la espátula de Ayre para la detección de VPH por hc2. En todos los casos se aseguró material celular de la zona de transformación.

Detección de anomalías citológicas

Los frotis con material exo-endocervical se tiñeron mediante la técnica de Papanicolaou y se leyeron por una citopatóloga local con experiencia certificada y se clasificaron de acuerdo al Sistema de Bethesda (Solomon *et al.*, 2002) el cual está contemplado en la Norma Oficial Mexicana (NOM-014-SSA2-1994 modificada).

Detección y genotipificación del VPH por PCR

A partir de las muestras exo-endocervicales contenidas en el buffer de lisis se extrajo el DNA por el método de SDS-proteinasa K-fenol-cloroformo (Leonard *et al.*, 1994), en las muestras de autotoma vaginal se extrajo de acuerdo a la “Hybrid capture ® High-Risk HVP Test”. Se utilizó el protocolo de PCR MY09/MY11 que amplifica una región de 450 pb del gen L1 de VPH, la mezcla de reacción (50 µl) contenía 1 µg de DNA de células cervicales, 0.8 µM de cada iniciador, MgCl₂ 2 mM, buffer de PCR 1X, 150 µM de cada dNTP y 1.25 U de *Ampli Taq Gold™* (Applied Biosystems, Foster City CA). El DNA se amplificó en un termociclador Eppendorf AG 22331 Hamburg (Authorized Thermal Cycle, Germany) con los siguientes pasos: desnaturalización inicial de 10 min a 95°C, 40

ciclos a 95°C por 1 min, 58°C por 1 min, 72°C por 1 min y una extensión final a 72°C por 10 min (Bauer *et al.*, 1992; Bauer *et al.*, 1993). Se utilizó el plásmido VPH 16 y células HeLa como controles positivos y agua como control negativo. Para la tipificación del VPH, los productos de PCR se digirieron con las enzimas de restricción *Bam*HI, *Dde*I, *Hae*III, *Hin*fI, *Pst*I, *Rsa*I y *Sau*3A1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) y los fragmentos de restricción polimórficos (RFLP) se analizaron para identificar más de 40 tipos de VPH genitales (Bernard *et al.*, 1994).

Cuando las muestras fueron negativas al ser analizadas con el protocolo de PCR MY09/MY11, se buscó la presencia de DNA del VPH utilizando el sistema de PCR anidada GP5+/GP6+ que amplifica un fragmento de 150 pb del gen L1. La mezcla de reacción (25 µl) contenía 1 µl de producto amplificado de la PCR MY09/MY11, 0.4 µM de cada iniciador GP, MgCl₂ 3 mM, buffer de PCR 1X, 150 µM de dNTPs y 0.7 U de *Ampli Taq Gold*TM (Applied Biosystems, Foster City CA). El DNA se amplificó en un termociclador Eppendorf AG 22331 Hamburg (Authorized Thermal Cycle, Germany) como sigue: desnaturalización inicial de 10 min a 95°C, 40 ciclos a 95°C por 1 min, 51°C por 1 min y 15 seg, 72°C por 1 min y 15 seg y una extensión final a 72°C por 10 min (De Roda *et al.*, 1995).

Para la genotipificación del VPH, el producto de la PCR anidada GP5+/GP6+ se purificó con isopropanol al 75% y columnas (Centri-Sep Spin Columns, Applied Biosystems, Foster City, CA), y se secuenciaron utilizando el kit de secuenciación Big Dye Terminator Chemistry Version 3 (Applied Biosystems, Foster City, CA) en un secuenciador automático (310 ABI PRISM Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA). Las secuencias obtenidas se compararon con las secuencias disponibles para los genotipos de VPH que se recuperaron del sitio National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2011). Los tipos de VPH se clasificaron de acuerdo a la clasificación de Muñoz, *et al.*, 2006.

Detección del VPH de alto riesgo por captura de híbridos (hc2)

A las muestras exo-endocervicales contenidas en la solución Preserv cyt Thinprep se les realizó una conversión al medio STM, la cual consistió en eliminar por precipitación y mediante un kit de conversión (Digene hc2 Sample Conversion Kit, Corporation Quiagen) al medio Preserv cyt Thinprep, al precipitado obtenido

se le agregó medio STM. Las muestras obtenidas por autotoma vaginal no requirieron la conversión debido a que la muestra se colectó en medio STM. La hc2 se realizó utilizando la prueba “High-risk HPV hc2 Test” (Digene Corp. Gaithersburg, MD). Se utilizó la sonda de RNA para detectar 13 tipos virales de alto riesgo (VPH 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 y 68). La prueba de hc2 se efectuó de acuerdo a las instrucciones del fabricante en las que se recomienda el uso del calibrador negativo (se procesa por triplicado), calibrador positivo (se procesa por triplicado), control de VPH de bajo riesgo y control de VPH de alto riesgo. El resultado se reveló usando el software hc2, versión 2.0 y se reportó en Unidades Relativas de Luz (URL), la prueba se considera positiva si las URL son ≥ 1.0 (anexo 1). Cuando las muestras de autotoma vaginal y toma exocervical presentan URL ≥ 1.0 son clasificadas como positivas a VPH-AR y estas pacientes tienen mayor probabilidad de presentar LEI. Se utilizó a 1pg/ml como control positivo.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos mediante los dos métodos de toma de muestra se describieron en frecuencias, por la prueba binomial aproximada a uno normal se determinó diferencia entre proporciones. La comparación entre los resultados de PCR y hc2 se realizó por la prueba de Chi-cuadrada de Mc-Nemar. Se evaluó la validez de los resultados obtenidos por ambos tipos de muestreo a través del estadístico Kappa. Todas las pruebas estadísticas fueron bilaterales y un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo. Para el análisis estadístico se utilizó el software STATA v.11.1.

RESULTADOS

Descripción de la población

Las características sociodemográficas y ginecológicas de las 300 mujeres incluidas en este estudio se describen en el cuadro 1. El 39% de las mujeres eran de 50 años o más, la mayoría iniciaron su vida sexual a los 18 años o más (79%), han tenido una pareja sexual (54%), no fuman (90%), no consumen alcohol (66%), se han realizado Papanicolaou con anterioridad (92%), tienen educación profesional (73%). El 96% presentaron infección por VPH cuando la toma de muestra fue exo-endocervical y la detección se hizo mediante PCR (MY/GP). No se encontró asociación entre la edad, inicio de la vida sexual, número de hijos, número de parejas sexuales, tabaquismo, consumo de alcohol, Papanicolaou previos y nivel de educación con la presencia de infección por VPH.

Aceptabilidad de la autotoma vaginal

El 53% de las mujeres prefirió la autotoma vaginal y la mayoría de las que la prefieren (61%) es porque se sienten más cómodas. El 47% prefirió la toma exo-endocervical, de estas el 90% creen que es más confiable que la autotoma vaginal (cuadro 2).

Autotoma vaginal y toma exo-endocervical para la detección de VPH-AR

Tanto en autotoma vaginal como en toma exo-endocervical se detectó VPH-AR con mayor frecuencia cuando la detección se hizo por PCR (MY/GP) que cuando se hizo con hc2 (cuadro 3).

Cuando la detección de VPH se realizó mediante PCR (MY/GP), en muestras de autotoma vaginal se detectaron al 69% de mujeres con infección, mientras que por muestra exo-endocervical se encontró infección en el 96% de las mujeres estudiadas. El 32% (n=97) de las mujeres presentaron VPH-AR cuando la toma fue exo-endocervical y el 21% (n=64) cuando fue de autotoma vaginal. El VPH 16 fue el más frecuentemente detectado en muestras exo-endocervicales (22%) y autotoma vaginal (15%) (cuadro 4).

Cuadro 1. Características sociodemográficas y ginecológicas de profesoras y trabajadoras administrativas y de intendencia de la Universidad Autónoma de Guerrero del Estado de Guerrero, México.

Variables	Total % (n= 300)	VPH positivo* % (n= 287)	VPH negativo % (n=13)	p
Edad (años)				
20-29	10(29)	10(28)	8 (1)	0.854
30-39	23(69)	23 (66)	23(3)	
40-49	28(85)	28(80)	38(5)	
≥ 50	39(117)	39(113)	31(4)	
IVSA (años)				
< 18	21(62)	20(58)	31(4)	0.358
≥ 18	79(238)	80(229)	69(9)	
Número de hijos				
0	34(102)	34(98)	31(4)	0.616
1-2	32(96)	33(94)	23(3)	
3 o más	34(102)	33(95)	46(6)	
Número de parejas sexuales				
1	54 (161)	53 (152)	69(9)	0.814
2-3	37(110)	37(107)	23(3)	
4 o más	10 (29)	10(28)	8(1)	
Fuma				
Si	10(31)	10(29)	15(2)	0.541
No	90(269)	90(258)	85(11)	
Consume Alcohol				
Si	34(102)	35(101)	8(1)	0.112
No	66(198)	65(186)	92(12)	
Papanicolau previos				
Si	92(275)	92(263)	92(12)	0.977
No	8(25)	8(24)	8(1)	
Educación				
Ninguna	2(5)	2(5)	0	0.190
Primaria	6(17)	6(16)	8(1)	
Secundaria	3(10)	3(8)	15(2)	
Preparatoria	16(48)	17(48)	0	
Profesional y posgrado	73(219)	73(209)	77(10)	
VPH				
VPH-AR	32(97)	34(97)	0	<0.001
VPH-BR	31(92)	32(92)	0	
VPH negativo	4(13)	0	100(13)	
Infección múltiple	21(64)	22(64)	0	
VPH X	11(34)	12(34)	0	

*Detección de VPH mediante PCR (MY/GP) a partir de muestras exo-endocervicales.

Abreviaturas: IVSA: Inicio de vida sexual, VPH-AR: Virus del papiloma humano de alto riesgo, VPH-BR: Virus del papiloma humano, VPH X: Virus del papiloma humano no identificado.

Cuadro 2. Aceptabilidad de la autotoma vaginal entre profesoras y trabajadoras administrativas y de intendencia de la Universidad Autónoma de Guerrero del Estado de Guerrero, México.

	Aceptabilidad de la autotoma vaginal n=238	
	Si % (n)	No % (n)
Prefieren la autotoma vaginal	53 (127)	47 (111)

Razones por las que selecciono alguno de los método de muestreo	Autotoma vaginal % (n)	Toma exo-endocervical tomada por personal calificado % (n)
No se sintió avergonzada	24 (30)	-----
Se sintió cómoda	61 (78)	-----
Sintió confianza de que la prueba fue tomada de forma adecuada	15 (19)	-----
Por costumbre	-----	10 (11)
Porque cree que es confiable	-----	90 (100)
	127	111

----- La paciente no contesto estas preguntas, debido a que no prefirió a la toma exo-endocervical como método de recolección de muestra.

----- La paciente no contesto estas preguntas, debido a que no prefirió a la autotoma vaginal como método de recolección de muestra.

Cuadro 3. Frecuencia de infección por VPH-AR detectado por PCR y hc2 en muestras tomadas por toma exo-endocervical dirigida y autotoma vaginal.

	Toma exo-endocervical % (n)	Autotoma vaginal % (n)
PCR		
Positivo a VPH-AR	96 (287)	69 (207)
Negativo a VPH-AR	4 (13)	31 (93)
Total	300	300
HC2		
Positivo a VPH-AR	12 (36)	14 (43)
Negativo a VPH-AR	88 (264)	86 (257)
Total	300	300

Cuadro 4. Frecuencia de infección y genotipos de VPH detectado por PCR (MY/GP) en muestras tomadas por toma exo-endocervical dirigida y autotoma vaginal.

VPH	Toma exo-endocervical % (n)	Autotoma vaginal % (n)
Total de VPH-AR	32 (97)¶	21 (64)
16	22 (65)	15 (46)
18	1 (4)	0.3 (1)
31	2 (5)	1 (2)
35	1 (2)	0 (0)
39	1 (2)	0.3 (1)
45	1 (4)	1 (4)
52	1 (3)	0 (0)
56	1 (2)	0.3 (1)
58	3 (8)	3 (9)
59	1 (2)	0 (0)
Total de VPH de probable AR	5 (16)	2 (5)
26	0.3 (1)	0 (0)
53	2 (5)	2 (3)
66	3 (8)	1 (2)
68	0.3 (1)	0 (0)
82	0.3 (1)	0 (0)
Total de VPH-BR	31 (92)	25 (74)
6	21 (62)	14 (42)
11	2 (7)	1 (3)
61	1 (2)	2 (5)
70	1 (4)	1 (2)
72	0.3 (1)	1 (2)
81	5 (16)	7 (20)
Total de VPH riesgo no determinado	4 (13)	6 (18)
39	0 (0)	0 (0)
53	0 (0)	0 (0)
57	0.3 (1)	0.3 (1)
59	0 (0)	0 (0)
61	0.3 (1)	0 (0)
62	0 (0)	0.3 (1)
66	1 (4)	0.3 (1)
67	0 (0)	1 (2)
68	0 (0)	0 (0)
83	0.3 (1)	0 (0)
84	1 (4)	2 (7)
86	0.3 (1)	0.3 (1)
90	0 (0)	0.3 (1)
102	0 (0)	1 (4)
106	0.3 (1)	0 (0)
HPV X	2 (5)	2 (6)
Infección múltiple	21 (64)‡	13 (40)
VPH positivo	96 (287)	69 (207)
VPH negativo	4 (13)	31 (93)+

¶ Diferencia significativa contra autotoma vaginal (0.021), ‡ Diferencia significativa contra autotoma vaginal (0.03), + Diferencia significativa contra toma exo-endocervical (<0.001).
Abreviaturas: VPH-AR: Virus del papiloma humano de alto riesgo, VPH-BR: Virus del papiloma humano de bajo riesgo, VPH X: Virus del papiloma humano de riesgo no determinado.

Debido a que hc2 es un método semi-cuantitativo se determinó la carga viral en muestras de autotoma vaginal y toma exo-endocervical, en el cuadro 5 se observa que la carga viral (URL y URL/VC) es menor en muestras de autotoma vaginal en comparación con las muestras de toma exo-endocervical, sin embargo, en muestras obtenidas por autotoma vaginal se detectó infección por VPH-AR en el 14% de las mujeres, mientras que por toma exo-endocervical se encontró infección por VPH-AR en el 12% de las mujeres (cuadro 6).

Cuadro 5. Promedio de la intensidad de señal (URL y URL/VC) obtenida por hc2 en muestras de toma exo-endocervical y autotoma vaginal.

	Toma exo-endocervical	Autotoma vaginal
URL	8729	7313
URL/VC	31	22

URL: Unidades Relativas de Luz, URL/VC: promedio entre Unidades Relativas de Luz/Valor de Corte

Cuadro 6. Frecuencia de infección por VPH-AR detectado por hc2 en muestras de toma exo-endocervical dirigida y autotoma vaginal.

	Toma exo-endocervical	Autotoma vaginal
hc2	% (n)	% (n)
Positivo a VPH-AR	12 (36)	14 (43)
Negativo a VPH-AR	88 (264)	86 (257)
Total	300	300

La concordancia entre toma exo-endocervical y autotoma vaginal para la detección de VPH-AR por PCR (MY/GP) fue de 70.3% ($k=0.256$), lo que significa que en muestras obtenidas por toma exo-endocervical es más probable detectar VPH-AR que en muestras de autotoma vaginal ($p<0.001$) (cuadro 7). Sin embargo, cuando la detección de VPH-AR se realizó por hc2 la

concordancia entre toma exo-endocervical y autotoma vaginal fue de 91% ($k=0.607$), es decir, el nivel de detección de VPH-AR por hc2 es similar ya sea que la muestra sea por toma exo-endocervical dirigida o por autotoma vaginal ($p=0.178$) (cuadro 8).

Cuadro 7. Concordancia de VPH-AR detectados por PCR entre muestras obtenidas por toma exo-endocervical dirigida y autotoma vaginal.

Autotoma vaginal	Toma exo-endocervical		p*
	Positiva a VPH-AR % (n)	Negativa a VPH-AR % (n)	
Positiva a VPH-AR	37 (36)	14 (28)	<0.001
Negativa a VPH-AR	63 (61)	86 (175)	
Total	97	203	

Concordancia observada = 70.3 % ($k=0.256$, IC95%: 0.207-0.305, $p<0.001$)

* Prueba de McNemar

Cuadro 8. Concordancia de VPH-AR detectados por hc2 entre muestras obtenidas por toma exo-endocervical dirigida y autotoma vaginal.

Autotoma vaginal	Toma exo-endocervical		p*
	Positiva a VPH-AR % (n)	Negativa a VPH-AR % (n)	
Positiva a VPH-AR	72 (26)	6 (17)	0.178
Negativa a VPH-AR	28 (10)	94 (247)	
Total	36	264	

Concordancia observada = 91.0 % ($k = 0.607$, IC 95%: 0.552-0.662, $p<0.001$)

* Prueba de McNemar

La concordancia entre toma exo-endocervical y autotoma vaginal para detectar VPH-AR por PCR (MY/GP) fue similar en pacientes con citología cervical normal (70.1%; $k=0.256$) y en pacientes con LEIBG (70.8%; $k=0.256$). La detección de VPH-AR por PCR fue significativamente mejor cuando la muestra fue de toma exo-endocervical en comparación con la obtenida por autotoma vaginal tanto en mujeres con citología normal ($p=0.008$), como en mujeres con LEIBG (0.024) (cuadro 9).

Cuadro 9. Concordancia entre toma exo-endocervical y autotoma vaginal para detectar VPH-AR por PCR en mujeres con citología cervical normal y con LEIBG.

Autotoma vaginal	Citología normal (n=187)			LEIBG (n=113)		
	Toma exo-endocervical		p*	Toma exo-endocervical		P*
	Positivo a VPH-AR % (n)	Negativo a VPH-AR % (n)		Positivo a VPH-AR % (n)	Negativo a VPH-AR % (n)	
Positivo a VPH-AR	38 (23)	14 (18)	0.008	36 (13)	13 (10)	0.024
Negativo a VPH-AR	62 (38)	86 (108)		64 (23)	87 (67)	
Total	61	126		36	77	

Citología normal: Concordancia observada = 70.1% ($k = 0.256$, IC95%: 0.193-0.316, $p < 0.001$)

LEIBG: Concordancia observada 70.8% ($k = 0.256$, IC: 95%, 0.175-0.336, $p = 0.002$)

* Prueba de McNemar

Cuando la detección de VPH-AR se realizó por hc2, la concordancia entre toma exo-endocervical y autotoma vaginal fue similar en pacientes con citología normal (90%; $k=0.4963$) y en pacientes con LEIBG (92.0%; $k=0.722$). No existió diferencia significativa si la detección de VPH-AR por hc2 se realiza en muestras de toma exo-endocervical o en muestras de autotoma vaginal ya sea en pacientes con citología normal ($p=0.637$) o con LEIBG ($p=0.096$) (cuadro 10).

Cuadro 10. Concordancia entre toma exo-endocervical y autotoma vaginal para detectar VPH-AR por hc2 en mujeres con citología cervical normal y con LEIBG.

Autotoma vaginal	NORMAL (187)			LEIBG (113)		
	Toma exo-endocervical		p*	Toma exo-endocervical		P*
	Positivo a VPH-AR % (n)	Negativo a VPH-AR % (n)		Positivo a VPH-AR % (n)	Negativo a VPH-AR % (n)	
Positivo a VPH-AR	58 (11)	6 (10)	0.637	88 (15)	7 (7)	0.096
Negativo a VPH-AR	42 (8)	94 (158)		12 (2)	93 (89)	
Total	19	168		17	96	

Citología normal: Concordancia observada = 90.4% ($k = 0.4963$, IC95%: 0.425-0.568, $p < 0.001$)

LEIBG: Concordancia observada = 92.0% ($k = 0.722$, IC95%: 0.640-0.805, $p < 0.001$)

* Prueba de McNemar

Cuando se comparó la concordancia entre hc2 y PCR para detectar VPH-AR en muestras exo-endocervicales de mujeres con citología cervical normal y mujeres con LEIBG, se observó que la concordancia es ligeramente mayor en las mujeres que presentaron LEIBG (72.6%; $k= 0.265$) que en mujeres con citología cervical normal (66.8%; $k=0.083$). La detección de VPH-AR es significativamente mejor cuando se realiza por PCR que con hc2, porque la PCR con mayor frecuencia detecta a VPH-AR, tanto en pacientes con citología normal ($p<0.001$) como en pacientes con LEIBG ($p<0.001$) (cuadro 11). Sin embargo, si se comparan los resultados de PCR y hc2 de muestras de autotoma vaginal se observa que la concordancia en el grupo de mujeres con citología normal (74.3%; $k= 0.091$) es igual a la concordancia obtenida en el grupo de pacientes con LEIBG (74.3%; $k=0.195$). En mujeres con citología normal la detección de VPH-AR fue significativamente mejor por PCR que por hc2 ($p=0.004$), esto es, PCR es capaz de detectar con mayor frecuencia a VPH-AR a diferencia de hc2; sin embargo, en mujeres con LEIBG la detección fue similar por ambos métodos ($p=0.853$) (cuadro 12).

Cuadro 11. Concordancia entre hc2 y PCR para detectar VPH-AR en muestras de toma exo-endocervical dirigida.

hc2	Toma exo-endocervical					
	Normal (187)			LEIBG (113)		
	PCR positiva a VPH-AR % (n)	PCR negativa a VPH-AR % (n)	p*	PCR positiva a VPH-AR % (n)	PCR negativa a VPH-AR % (n)	p*
VPH-AR	15 (9)	8 (10)	<0.001	31 (11)	8 (6)	<0.001
Negativo	85 (52)	92 (116)		69 (25)	92 (71)	
Total	61	126		36	77	

Citología normal: Concordancia observada = 66.8% ($k= 0.083$, IC95%: 0.043-0.122, $p=0.074$)

LEIBG: Concordancia observada = 72.6% ($k= 0.265$, IC95%: 0.183-0.346, $p<0.001$)

Concordancia general observada = 69.0% ($k=0.152$, IC95%: 0.112-0.193, $p<0.001$)

* Prueba de McNemar

Cuadro 12. Concordancia entre hc2 con PCR para detectar VPH-AR en muestras de autotoma vaginal.

hc2	Autotoma vaginal					
	Normal (187)			LEIBG (113)		
	PCR Positiva a VPH-AR % (n)	PCR Negativa a VPH-AR % (n)	P*	PCR Positiva a VPH-AR % (n)	PCR Negativa a VPH-AR % (n)	P*
VPH-AR	17 (7)	10 (14)	0.004	35 (8)	16 (14)	0.853
Negativo	83 (34)	90 (132)		65 (15)	84 (76)	
Total	41	146		23	90	

Citología normal: concordancia observada = 74.3% ($k= 0.091$, IC95%: 0.050-0.132, $p=0.090$)

LEIBG: Concordancia observada = 74.3% ($k= 0.195$, IC 95%, 0.122-0.268, $p=0.019$)

Concordancia general observada = 74.3% ($k=0.131$, IC95%: 0.093-0.170 $p=0.009$)

* Prueba de McNemar

La citología cérvicovaginal convencional (Papanicolaou) detectó que el 38% ($n=113$) de las mujeres presentaron LEI (todas fueron LEIBG) mientras que el 62% ($n=187$) presentaron citología normal. Al comparar el resultado de citología (Papanicolaou) con el resultado de hc2 para la detección de LEI en muestras de toma exo-endocervical se obtuvo una concordancia baja (61.67%), igualmente cuando se comparó a la citología y hc2 en muestras de autotoma vaginal la concordancia fue baja (62.67%). El diagnóstico de LEI es significativamente mejor cuando se realiza por citología que cuando se realiza por hc2, por que por citología se puede detectar un mayor numero de pacientes con LEI ya sea por toma exo-endocervical o autotoma vaginal ($p<0.001$) (cuadro 13).

Cuadro 13. Concordancia entre la citología (Papanicolaou) y hc2 para detectar LEI en muestras de toma exo-endocervical y autotoma vaginal.

hc2	Diagnóstico citológico % (n)		
	LEI**	Sin LEI	P***
Toma exo-endocervical			
LEI*	15 (17)	10 (19)	<0.001
Sin LEI	85 (96)	90 (168)	
Total	113	187	
Autotoma vaginal			
LEI*	19 (22)	11 (21)	<0.001
Sin LEI	81 (91)	89 (166)	
Total	113	187	

hc2 de toma exo-endocervical: Concordancia observada = 61.67% ($k = 0.056$, IC95%: 0.030-0.082, $p=0.104$)

hc2 de autotoma vaginal: Concordancia observada = 62.67% ($k = 0.094$, IC95%: 0.061-0.127, $p<0.024$).

* Se consideró LEI con un URL ≥ 1.0 en la hc2.

** Se consideró LEI de acuerdo al Sistema de Bethesda en la citología (Papanicolaou).

*** Prueba de McNemar

DISCUSIÓN

El programa de detección oportuna de CaCU en México y en particular en el estado de Guerrero, no ha conducido a la disminución de la mortalidad debida a este padecimiento. Los programas de tamizaje basados en la evaluación citológica de la zona de transformación del cérvix han resultado en la disminución de la incidencia y mortalidad por CaCU en países desarrollados, no así en países en desarrollo, en los que la deficiencia en infraestructura y recursos humanos calificados impiden llegar a este resultado. Aún cuando ya existen vacunas para la prevención de la infección por VPH, la prevención secundaria sigue siendo central en los programas de control del cáncer cérvicouterino. Por esta razón, la obtención de muestras cervicales por técnicas más sencillas y más aceptadas por las mujeres como la autotoma vaginal, así como la detección de VPH por técnicas más rápidas y asequibles, son opciones atractivas, por lo que diversos estudios han analizado su eficacia y aceptación.

Este estudio muestra que la eficacia de la autotoma vaginal en comparación con la toma exo-endocervical es similar para la detección de VPH-AR cuando éste se identifica mediante hc2 (concordancia de 91%, $k=0.607$), sin embargo, cuando los VPH-AR se identifican mediante PCR (MY-GP), la concordancia entre la autotoma vaginal y la toma exo-endocervical es menor (70.3%, $k=0.256$). La concordancia entre hc2 y PCR (MY-GP) para detectar VPH-AR cuando la toma es exo-endocervical fue de 69% ($k=0.152$), mientras que cuando es por autotoma vaginal fue ligeramente mayor (74.3%, $k=0.131$), sin embargo, la detección de VPH-AR fue significativamente mayor cuando se realiza por PCR (MY-GP) que con hc2. En este estudio encontramos que la prevalencia de VPH-AR por autotoma fue de 14% y por toma exo-endocervical fue de 12% cuando se detectó por hc2, pero la carga viral es menor en muestras de autotoma vaginal en comparación con muestras de toma exo-endocervical. La prevalencia de VPH-AR por autotoma fue de 21%, mientras que por toma exo-endocervical fue de 32% cuando la detección se realiza por PCR.

Los estudios realizados para analizar la utilidad de la autotoma vaginal en comparación de la toma exo-endocervical realizada por personal calificado

son heterogéneos y muestran resultados diversos. Hay una amplia variación de poblaciones estudiadas (comunidades rurales y urbanas, hospitales, jóvenes, adultas, con y sin síntomas ginecológicos), son diversos los métodos para la autotoma vaginal (uso de diferentes dispositivos), los métodos analíticos para la detección de VPH también son diversos (hc2, PCR -MY09/11-, PCR -PGMY09/11-, PCR -GP5+/GP6+-) y las condiciones generales para establecer los estudios son diferentes. Aún con esta variabilidad, existe una clara tendencia que demuestra que la autotoma vaginal brinda la posibilidad de tener una mayor cobertura y aceptabilidad con resultados confiables. En el cuadro 14 se presentan los resultados de 19 estudios incluyendo este estudio.

La concordancia entre autotoma y toma exo-endocervical cuando la detección de VPH-AR se hizo con PCR (diversos métodos), fue analizada por Gravitt *et al.* (2001) en un estudio hospitalario realizado en Estados Unidos (73.6%, $k=0.78$), por Kahn *et al.* (2004) en adolescentes de Estados Unidos (85%, $k=0.72$), por Ogilvie *et al.* (2005) en un meta-análisis ($k=0.48$ a 1.0), por Brink *et al.* (2006) en mujeres holandesas con Pap anormal (87%, $k=0.71$), por Daponte *et al.* (2006) en mujeres griegas con citología anormal ($k=0.881$), por Stewart *et al.* (2007) en un meta-análisis que incluyó 18 estudios del año 1992 a 2004 ($k>8$ en dos estudios, $k=0.6-0.8$ en nueve estudios y $k<6$ en 8 estudios), por Winer *et al.* (2007) en jóvenes de Estados Unidos de 15 a 25 años (95.7%, $k=0.84$) y de 23 a 32 años (86.5%, $k=0.65$), por Petignat *et al.* (2007) en un meta-análisis que incluyó 18 estudios y diversas técnicas de detección de VPH-AR ($k=0.66$), por Bhatla *et al.* (2009) en mujeres de la India con síntomas ginecológicos (96.9%, $k=0.763$), por Sowjanya *et al.* (2009) en villas de la India (92.6%, $k=0.8$), por Twu *et al.* (2011) en población urbana de Taiwan ($k=0.37$, VPH total) y en este estudio (70.3%, $k=0.256$). Existen diversas variables que ocasionan que la concordancias entre autotoma y toma exo-endocervical para detectar VPH-AR por PCR sea diferente en los estudios mencionados, por ejemplo, el grado de escolaridad, que puede influir en que una paciente tome adecuadamente o no la muestra de autotoma vaginal. Por otra parte, los instrumentos con los cuales se realizó la autotoma vaginal no son los mismos (hisopos de diferentes medidas, cepillo cervical, lavado cervicovaginal, tampón) lo cual modifica la cantidad de células recolectadas por el instrumento, sin embargo, en la mayoría de los estudios se indica que existe una buena

concordancia entre el resultado de autotoma vaginal y toma exo-endocervical cuando la detección de VPH-AR se realiza por PCR. En nuestro estudio se encontró una concordancia menor en comparación con los otros estudios y este hecho pudiera explicarse por el hallazgo de que en muestras de autotoma vaginal se detectaron con mayor frecuencia VPH-BR y en muestras de toma exo-endocervical VPH-AR, lo cual puede estar relacionado con la zona de la cual se recolecta la muestra, debido a que los VPH-BR infectan más frecuentemente el epitelio plano estratificado que recubre a la vagina y vulva, por esto son más fáciles de recolectar en la autotoma vaginal y los VPH-AR infectan preferentemente a las células epiteliales de la zona de transformación por ello son más frecuentemente encontrados en muestras a partir de toma exo-endocervical.

La concordancia encontrada entre autotoma y toma exo-endocervical cuando la detección de VPH-AR se hizo con hc2, fue analizada en un meta-análisis que incluyó 12 estudios realizado por Ogilvie *et al.* (2005) ($k=0.7$ a 0.96), por Holanda *et al.* (2006) en áreas rurales de Brasil ($k=0.7$), por Karwalajtys *et al.* (2006) en mujeres canadienses jóvenes (85.7%, $k=0.54$) y mayores de 50 años (89.5%, $k=0.31$), por Sowjanya *et al.* (2009) en villas de la India (90.3%, $k=0.7$) y en este estudio (91%, $k=0.607$). Aún cuando existe variación en los resultados, en la mayoría existe una buena concordancia cuando la detección de VPH-AR se realiza por hc2, lo que indica, que a pesar de que en muestras de autotoma vaginal se recolecta significativamente menos carga viral en comparación de muestras de toma exo-endocervical (Belinson, *et al.* 2010), esto no afecta a hc2, pues es capaz de detectar a la misma paciente como positiva a VPH-AR tanto en muestra de toma exo-endocervical como en muestras de autotoma vaginal.

La concordancia entre hc2 y PCR para la detección de VPH-AR cuando la muestra fue de autotoma vaginal se analizó por Bhatla *et al.* (2009) (90.9%, $k=0.637$), por Sowjanya *et al.* (94.4%, $k=0.8$) y en este estudio (74.3%, $k=0.131$). La concordancia entre hc2 y PCR para la detección de VPH-AR cuando la toma fue exo-endocervical fue analizada por Stenvall *et al.* (2007) en un estudio realizado en hospital en Suecia (70%, $k=0.36$), por Bhatla *et al.* (2009) (95.3%, $k=0.804$), por Sowjanya *et al.* (2009) (94.4%, $k=0.8$) y en este estudio (69%, $k=0.152$); cabe destacar que en los estudios mencionados, se

utilizaron sistemas de PCR diferentes, Stenvall *et al.* (2007) utilizaron los iniciadores GP5+/6+, mientras que Bhatla *et al.* (2009) y Sowjanya *et al.* (2009) utilizaron los iniciadores PGMY09/11, y en este estudio se utilizó la combinación MY09/11 con GP5+/6+ anidada, con una sensibilidad de 500 copias virales/ml de muestra, lo que puede contribuir a explicar las diferencias en las concordancias.

La concordancia entre la citología cérvicovaginal (Papanicolaou) y hc2 para la detección de lesión escamosa intraepitelial (LEI) en muestras de autotoma vaginal, fue analizada por Bathla *et al.* (2009) (87.5%, VPP), por Sowjanya *et al.* (2009) (81.8%), por Lazcano *et al.* (2011) (sensibilidad 3-4 veces mayor para identificar NIC2 o mayor y 4.2 veces para identificar cáncer cervical) y en este estudio (62.7%, $k=0.094$). La concordancia entre la citología cérvicovaginal y hc2 para la detección de LEI cuando se realizó toma exo-endocervical para el análisis por hc2, fue analizada por Stenvall *et al.* (2007) (67%, $k=0.27$), por Bathla *et al.* (2009) (91.6%, VPP) y en este estudio (61.7%, $k=0.56$). Analizando los resultados de este estudio, se encontró que la citología cérvicovaginal es mejor que hc2 para detectar LEI, sin embargo, estudios como el de Bathla *et al.* y Sowjanya *et al.* encontraron una alta concordancia entre la citología cérvicovaginal y hc2 para la detección de LEI. Estas diferencias pueden deberse a la calidad en la toma, procesamiento de la muestra cervical y diagnóstico. En este estudio, el diagnóstico lo realizó una sola persona, altamente calificada en el diagnóstico citológico cervical, sin embargo, en los otros estudios mencionados la toma de muestra se realizó en centros de salud de zonas rurales con menos recursos humanos y tecnológicos.

La prevalencia de VPH-AR que se encontró en este estudio fue diferente dependiendo del método de muestreo. Cuando la muestra fue por autotoma vaginal no se identificaron a todas las pacientes con infección por VPH-AR y el VPH 16 fue identificado con menos frecuencia en comparación con la toma exo-endocervical, esto es relevante, debido a que en el estado de Guerrero el VPH 16 se ha encontrado en el 67% de los casos de carcinoma de células escamosas (Illades-Aguilar *et al.*, 2010). En otros estudios, se han reportado prevalencias diferentes a las encontradas en este estudio, lo cual depende de técnica de detección empleada y de la población en la que se realizó el estudio (cuadro 14).

En los resultados de este estudio se puede apreciar que el promedio de la carga viral en muestras de autotoma vaginal es menor en comparación de muestras de toma exo-endocervical, sin embargo, en muestras de autotoma vaginal se detectó con mayor frecuencia a VPH-AR en comparación de muestras de toma exo-endocervical, resultados semejantes fueron reportados por Belinson *et al.*, 2010. Lo anterior es debido a que a partir de muestras recolectadas por autotoma se recolectan células del canal vaginal y estas células no se encuentran en constante descamación por lo cual la cantidad de células y en consecuencia de carga viral recolectada es menor en comparación con la recolecta en muestras de toma exo-endocervical, sin embargo, el canal vaginal puede presentar infección por varios tipos de VPH, en especial con VPH-AR debido a que las células que se están descamando caen a canal vaginal y de acuerdo al ciclo biológico del VPH, las células descamadas liberan al virón y este es capaz de provocar nuevos focos de infección, en este caso en canal vaginal.

La autotoma vaginal es aceptada por la mayoría de las mujeres en los diferentes estudios (Holanda *et al.*, 2006; Petignat *et al.*, 2007; Sowjanya *et al.*, 2009; Barbee *et al.*, 2010), incluyendo este estudio.

En resumen, las trabajadoras universitarias prefieren a la autotoma vaginal que la toma exo-endocervical. La autotoma vaginal es una alternativa de tamizaje y permite la detección de VPH-AR mediante PCR y hc2, pero a partir de muestras de toma exo-endocervical la detección de VPH-AR mediante PCR y de LEI mediante citología cervicovaginal es más eficiente. La carga viral encontrada en muestras de autotoma vaginal es menor a la encontrada en toma exo-endocervical, sin embargo, la presencia de VPH en canal vaginal se correlaciona con lo encontrado en toma exo-endocervical, lo que hace a la autotoma vaginal un método de recolección de muestra factible para mujeres que se resisten a la toma exo-endocervical.

Cuadro 14. Comparación de diversos estudios que analizan la concordancia entre autotoma vaginal y toma exo-endocervical para la detección de VPH-AR por hc2 y diversas técnicas de PCR.

Autor	País	Población (n)	Prevalencia de VPH-AR por autotoma		Prevalencia de VPH-AR por toma exo-endocervical		Concordancia entre autotoma y toma exo-endocervical para detección de VPH-AR Kappa (95% IC)		Concordancia entre hc2 y PCR para detección de VPH-AR Kappa (95% IC)		Comparación entre citología y hc2 para detección de LEI	
			Hc2 (%)	PCR (%)	Hc2 (%)	PCR (%)	Hc2	PCR	Autotoma	Exo-endocervical	Autotoma	Exo-endocervical
Gravitt <i>et al.</i> , 2001	USA	Hospital (268)	--	--	--	--	--	73.6% ($k=0.78$, IC:0.67-0.90)	--	--	--	--
Lorenzato <i>et al.</i> , 2002	Brazil	Hospital (253)	--	17†	--	26†	--	$k=0.60$	--	--	--	--
Lazcano <i>et al.</i> , 2003	México	Hospital (7868)	11.6	--	9.3	--	--	--	--	--	--	--
Kahn <i>et al.</i> , 2004	EUA	Adolescentes urbanas (101)	--	73.6*	--	70.4*	--	85% ($k=0.72$, IC:0.58-0.85)	--	--	--	--
Ogilvie <i>et al.</i> , 2005	-	Meta-análisis (12 estudios)	--	--	--	--	$k= 0.7 - 0.96$	$K= 0.48 - 1.00$	--	--	--	--
Holanda <i>et al.</i> , 2006	Brazil	Áreas rurales pobres (878)	33.9	--	28.6	--	$k=0.7$	--	--	--	--	--
Brink <i>et al.</i> , 2006	Holanda	Pap anormales (96)	--	--	--	--	--	87% $k=0.71$	--	--	--	--
Karwalajtys <i>et al.</i> , 2006	Canadá	Hasta 50 años (307)	20.8	--	17.6	--	85.7% ($k=0.54$, IC:0.42-0.66)	--	--	--	--	--
		Más de 50 años (152)	9.9	--	8.6	--	89.5% ($k=0.31$, IC:0.13-0.62)	--	--	--	--	--
Daponte <i>et al.</i> , 2006	Grecia	Mujeres con citología anormal (137)	--	--	--	--	--	$k=0.881$ Concordancia para detectar VPH-16	--	--	--	--
Stenvall <i>et al.</i> , 2007	Suecia	Hospital (43)	37	--	--	40†	--	--	70% ($k=0.36$)	--	67% ($k=0.27$)	--
Stewart <i>et al.</i> , 2007	Diversos países	Meta-análisis (19 estudios de 1992 a 2004)	--	--	--	--	--	$k>0.8$ (2 estudios)	--	--	--	--

								k=0.6 a 0.8 (9 estudios) k<0.6 (8 estudios)				
Winer <i>et al.</i> , 2007	USA	Jóvenes 23-32 años (326)	--	21.2*	--	16.9*	--	86.5% (k=0.65, IC:0.54-0.75)	--	--	--	--
		Jóvenes 15-25 años (1,129)	--	12.9*	--	12.8*	--	95.7% (k=0.84, IC:0.79-0.89)	--	--	--	--
Petignat <i>et al.</i> , 2007	Diversos países	Meta-análisis (18 estudios) (5,441)	24.1 considerando 10 estudios		24.8§ considerando 10 estudios		k=0.66, IC:0.50-0.82		--	--	--	--
Bhatla <i>et al.</i> , 2009)	India	Hospital/síntomas ginecológicos (546)	-	12.3*	-	13.1*	-	96.9% (k=0.763, IC:0.64-0.82)	90.9% (k=0.637, IC:0.55-0.72)	95.3% (k=0.804, IC:0.72-0.89)	87.5% (VP+VN/total casos por histología)	91.6% (VP+VN/total casos por histología)
Sowjanya <i>et al.</i> , 2009	India	Villas (432)	14.1	16.4*	20.1	20.6*	90.3% (k=0.7)	92.6% (k=0.8)	94.4% (k=0.8)	94.4% (k=0.8)	81.8% de	--
Suwannaruk <i>et al.</i> , 2010	Tailandia	Población urbana (250)	--	3.6	--	--	--	--	--	--	--	Frecuencia: 9.6% Pap anormal No realizaron hc2
Twu <i>et al.</i> , 2011	Taiwan	Población urbana (1,829).	--	15.9‡	--	23.8‡	--	k=0.37, (IC:0.25-0.50) VPH total	--	--	--	--
Lazcano-Ponce <i>et al.</i> , 2011	México (Morelos, Edo. México, Guerrero)	Comunidad (HPV group: 9202) (Cytology group11054)	9.8	---	--	--	--	--	--	--	Sensibilidad 3.4 veces mayor para identificar NIC2 o mayor y 4.2 veces para identificar cáncer cervical invasor	--
Este estudio	México (Guerrero)	Profesoras y empleadas universitarias (300)	14	32	12	21	91% (k=0.607, IC:0.55-0.66)	70.3% (k=0.256, IC:0.21-0.31)	74.3% (k=0.131, IC:0.09-0.17)	69% (k=0.152, IC:0.11-0.19)	62.7% (k=0.094, IC:0.06-0.13)	61.7% (k=0.56, IC:0.03-0.08)

PCR: * PGMY09/11, † GP5+/6+, ‡ MY09/MY11 con GP5+/GP6+ anidada, § Diversas técnicas por PCR, ¶ MY09/11

CONCLUSIONES

- La autotoma vaginal es una alternativa para incrementar la cobertura del tamizaje de CaCU, porque más mujeres se tomarían la muestra, debido a que fue aceptada por el 53% de las profesoras y trabajadoras universitarias.
- La frecuencia de infección por VPH-AR fue más alta cuando la detección se realizó en muestras de toma exo-endocervical en comparación con autotoma vaginal, esto mediante PCR (MY/GP).
- La carga viral es mayor en muestras de toma exo-endocervical en comparación de muestras de autotoma vaginal, sin embargo, en autotoma vaginal se detectó con mayor frecuencia infección por VPH-AR mediante hc2, en comparación con muestras de toma exo-endocervical.
- La autotoma vaginal es una alternativa para la detección de VPH-AR, es un método de recolección bueno cuando la detección se hace por hc2 y aceptable cuando se detecta por PCR, ya sea en pacientes con citología cérvicovaginal normal o en pacientes con lesión escamosa intraepitelial de grado bajo.
- La concordancia entre PCR (MY/GP) y hc2 para la detección de VPH-AR es reducida tanto si esta comparación se hace en muestras de toma exo-endocervical o en muestra de autotoma vaginal.
- La concordancia entre la citología cérvicovaginal (Papanicoalou) y la hc2 para detectar lesión escamosa intraepitelial de grado bajo es reducida.

ANEXO

Interpretación de los resultados de hc2 para el ADN del VPH-AR (Híbrido capture® High-Risk HPV DNA Test®)

RLU/CO ratio	hc2 High-Risk HPV DNA Test Result	Result Report	Interpretation
<1.0	Negative	HPV types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, and 68 not detected..	PAP WNL: Very low likelihood of underlying CIN 2-3 or cancer; results do not preclude future HPV infection or cytologic abnormalities with underlying CIN 2-3 or cancer.
			PAP ASC-US: Low likelihood of underlying CIN 2-3 or cancer; results are not intended to prevent women from proceeding to colposcopy.
			PAP LSIL: Reduced likelihood that CIN 2-3 or cancer will be found at colposcopy compared with hc2 High-Risk HPV DNA Test positive LSIL.
			PAP HSIL: Expected to be uncommon result, representing possible error in hc2 High-Risk HPV DNA Test or cytology.
≥1.0	Positive	HPV types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, or 68 detected.	PAP WNL: Low likelihood of underlying high-grade CIN; HPV infection may be transient, resolving or persistent.
			PAP ASC-US/LSIL: Low but increased likelihood that underlying high-grade CIN will be detected at colposcopy. Medical literature suggests that progression to high-grade disease is possible.
			PAP HSIL: High likelihood that CIN 2-3 or cancer will be detected at colposcopy

URL/CO: Relative light Units/ Cutoff Value, **Pap WNL:** Papanicolaou within normal limits, **ASC-US:** Atypical Squamous Cell Undetermined Significance, **CIN:** cervical intraepithelial neoplasia, **LSIL:** low-grade squamous intraepithelial lesion, **HSIL:** high-grade squamous intraepithelial lesion.

REFERENCIAS

ALTS Study Group. (2000). Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst*, 92 (5): 397- 02.

Barbee L, Kobetz E, Menard J, Cook N, Blanco J, Barton B, *et al.* (2010). Assessing the acceptability of self-sampling for HPV among Haitian immigrant women: CBPR in action. *Cancer Causes Control*, 21: 421–31.

Bauer HM, Greer CE, Manos MM. (1992). Determination of genital human papillomavirus infection by consensus PCR amplification in *Diagnostic Molecular Pathology, a practical approach*. Eds Herrington CS, McGee JOD, (IRL Press, Oxford, United Kingdom), pp 131 –52.

Bauer HM, Manos MM. (1993). PCR detection of genital human papillomavirus. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, editors. *Diagnostic Molecular Microbiology, Principles and Applications* (pp. 407–13). Washington: American Society for Microbiology.

Belinson JL, Hu S, Niyazi M, Pretorius RG, Wang H, Wen C, *et al.* (2010) Prevalence of type-specific human papillomavirus in endocervical, upper and lower vaginal, perineal and vaginal self-collected specimens: Implications for vaginal self-collection. , 127(5):1151-7.

Bernard HU, Chan SY, Manos MM, Ong CK, Villa LL, Delius H, *et al.* (1994). Identification and assessment of known and novel human papillomavirus by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis*, 170 (5),1077–85.

Bhatla N, Dar L, Patro AR, Kumar P, Kriplani A, Gulati A, *et al.* (2009). Can human papillomavirus DNA testing of self-collected vaginal samples compare with physician-collected cervical samples and cytology for cervical cancer screening in developing countries?. *Cancer Epidemiol*, 33(6): 446-50.

Brink AA, Meijer CJ, Wiegeler MA, Nieboer TE, Kruitwagen RF, van Kemenade F, *et al.* (2006). High Concordance of Results of Testing for Human Papillomavirus in Cervicovaginal Samples Collected by Two Methods, with Comparison of a Novel Self-Sampling Device to a Conventional Endocervical Brush. *J. Clin. Microbiol.*, 44(7), 2518-23.

Castle PE, Wheeler CM, Solomon D, Schiffman M, Peyton CL, ALTS Group, *et al.* (2004). Interlaboratory reliability of Hybrid Capture 2. *Am J Clin Pathol*, 122 (2), 238-45.

Cogliano V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El GF, *et al.* (2005) Carcinogenicity of human papillomavirus. *Lancet Oncol*, 6 (204).

Cuzik J, Arby M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, *et al.* (2008). Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine*, 26 (10), K29-41.

Daponte A, Pournaras S, Madentzis I, Hadjichristodoulou C, Kostopoulou E, Maniatis AN, *et al.* (2006). Evaluation of HPV 16 PCR detection in self-compared with clinician-collected samples in women referred for colposcopy. *Gynecologic Oncology*, 103, 463-66.

De Roda Husman AM, Walboomers JM, Van den Brule AJ, Meijer CJ, Snijders PJ. (1995). The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol*, 76:1057-62.

Federschneider JM, Yuan L, Brodsky J, Breslin G, Betensky RA, Crum CP. (2004). The borderline or weakly positive Hybrid Capture II HPV test: a statistical and comparative (PCR) analysis. *Am J Obstet Gynecol*, 191(3): 757-61.

Flores YN, Bishai DM, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Lörincz A, Hernández M, *et al.* (2008). Risk factors for cervical cancer among HPV positive women in Mexico. *Salud Pública Mex*, 50, 49-58.

Franco EL, Tsu V, Herrero R, Lazcano-Ponce E, Hildesheim A, Muñoz N, *et al.* (2008). Integration of papillomavirus vaccination and cervical cancer screening in Latin America and the Caribbean. *Vaccine*, 26 (11), L88-95.

Gravitt PE, Lacey JV Jr, Brinton LA, Barnes WA, Kornegay JR, Greenberg MD, *et al.* (2001). Evaluation of self-collected cervicovaginal cell samples for human papillomavirus testing by polymerase chain reaction. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 10(2), 95-100.

Hibrid capture ® High-Risk HPV DNA Test ®. Digene Corporation.

Holanda F Jr, Castelo A, Veras TMCW, Almeida FML, Lins MZ, Dorés GB. (2006). Primary screening for cervical cancer through self sampling. International. *Journal of Gynecology and Obstetrics*. 95, 179 -184

Illades-Aguilar B, Alarcón-Romero LC, Antonio-Véjar V, Zamudio-López N, Sales-Linares N, Flores-Alfaro E, *et al.* (2010). Prevalence and distribution of human papillomavirus types in cervical cancer, squamous intraepithelial lesions, and with no intraepithelial lesions in women from Southern Mexico. *Gynecologic Oncology*, 117 (2): 291-6.

Illades-Aguilar B, Cortés-Malagón EM, Antonio-Véjar V, Zamudio-López N, Alarcón-Romero LC, Fernández-Tilapa G, *et al.* (2009). Cervical carcinoma in Southern Mexico: Human papillomavirus and cofactors. *Cancer Detect Prev*, 32 (4), 300-07.

Johnson LR, Starkey CR, Palmer J, Taylor J, Stout S, Holt S, *et al.* (2008). A comparison of two methods to determine the presence of high-risk HPV cervical infections. *Am J Clin Pathol*, 130 (3), 401-8.

Johnson T, Bryder K, Corbet S, Fomsgaard A. (2003). Routine genotyping of human papillomavirus samples in Denmark. *APMIS*, 111 (3), 398-404.

Kahn JA, Slap GB, Huang B, Rosenthal SL, Wanchick AM, Kollar LM, *et al.* (2004). Comparison of adolescent and young adult self-collected and clinician-collected samples for human papillomavirus. *Obstet Gynecol.*, 103, 952-9

Karwalajtys T, Howard M, Sellors JW, Kaczorowski J. (2006) Vaginal self sampling versus physician cervical sampling for HPV among younger and older women. *Sex Transm Infect.* 82, 337-9.

Kulmala SM, Syrjänen S, Shabalova I, Petrovichev N, Kozachenko V, Podistov J, *et al.* (2004). Human papillomavirus testing with the hybrid capture 2 assay and PCR as screening tools. *J Clin Microbiol*, 42(6), 2470-5.

Lazcano-Ponce E, Palacio-Mejía LS, Allen-Leigh B, Yunes-Diaz E, Alonso P, Schiavon R, *et al.* (2008). Decreasing cervical cancer mortality in Mexico: Effect of Papanicolaou coverage, birthrate, and the importance of diagnostic validity of cytology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17(10), 2808-17.

Lazcano-Ponce Eduardo, Tibor Attila, Cruz-Valdez Aurelio, Salmerón Jorge, Uribe Patricia, Velasco-Mondragón Eduardo, *et al.* (2011). Self-collection of vaginal specimens for human papillomavirus testing in cervical cancer prevention (MARCH): a community-based randomised controlled trial. (Online) *The Lancet*, 378 (9806), 1868-73.

Lee SH, Vigliotti VS, Vibliote JS, Pappu S. (2007). Routine human papillomavirus genotyping by DNA sequencing in community hospital laboratories. *Infectious Agents and Cancer*, 2:11, 1-11.

Leonard D, Michael K, James B. (1994) *Basic Methods in Molecular Biology*. (2nd ed), pp 633-635..

Lonky NM, Felix JC, Naidu YM, Wolde-Tsadik G. (2003). Triage of atypical squamous cells of undetermined significance with hybrid capture II: colposcopy and histologic human papillomavirus correlation. *Obstet Gynecol*, 101(3), 481-89.

Lorenzato FR, Singer A, Ho L, Santos LC, Batista RD, Lubambo TM, *et al.* (2002) Human papillomavirus detection for cervical cancer prevention with polymerase chain reaction in self-collected samples. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 186 (5), 962-8

Lörincz A, and Anthony J. (2001). Advances in HPV detection by hybrid capture. *Papillomavirus Rep*, 12, 145-54.

Molijn A, Berhard K, Quint W, Doorn L. (2005). Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*, 32 S1, S43-51.

Muñoz N, Castellsagué X, González AB, Gissmann L. (2006). HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*, 24 S3, S1-S10.

National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine. Bethesda, MD. Available from URL: [http:// www.ncbi .nlm.nih.gov /BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). Accessed: November 4, 2011.

Ogilvie GS, Patrick DM, Schulzer M, Sellors JW, Petric M, Chambers K, *et al.* 2005. Diagnostic accuracy of self collected vaginal specimens for human papillomavirus compared to clinician collected human papillomavirus specimens: a meta-analysis. *Sex Transm Infect*, 81(3), 207-12.

Palacio-Mejía LS, Rangel-Gómez G, Hernández-Avila M, Lazcano-Ponce E. (2003). Cervical cancer, a disease of poverty: Mortality differences between urban and rural areas in Mexico. *Salud Pública Mex*, 45 (3), S315-S325.

Petignat P, Faltin DL, Bruchim I, Tramèr MR, Franco EL, Coutlée F. Are self-collected samples comparable to physician-collected cervical specimens for human papillomavirus DNA testing? A systematic review and meta-analysis. *Gynecologic Oncology* 105, 530–5.

Poljak M, Marin IJ, Seme K, Vince A. (2002). Hybrid Capture II HPV test detects at least 15 human papillomavirus genotypes not included in its current high risk cocktail. *J Clin Virol*, 25 (3): S89-S97.

Salmerón J, Lazcano-Ponce E, Lorincz A, Hernández M, Hernández P, Leyva A, *et al.* (2003). Comparison of HPV-based assays with Papanicolaou smears for cervical cancer screening in Morelos State, Mexico. *Cancer Causes Control*. 14(6): 505-12

Schneede P, Hillemanns P, Ziller F, Hofstetter A, Stockfleth E, Arndt R, *et al.* (2001). Evaluation of HPV testing by Hybrid Capture II for routine gynecologic screening. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 80 (8), 750-2.

Seme K, Fujs K, Kocjan BJ, Poljak M. (2006). Resolving repeatedly borderline results of Hybrid Capture 2 HPV DNA test using polymerase chain reaction and genotyping. *J Virol Methods*, 134 (1-4), 252-6.

Sistema Nacional de Información en Salud: SINAIS México. (2011). Available at: <http://www.sinais.salud.gob.mx/mortalidad/index.html>. Accessed: 20 July 2011.

Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, *et al.* (2002). The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*, 287 (16), 2114 –9.

Sowjanya AP, Paul P, Vedantham H, Ramakrishna G, Vidyadhari D, Vijayaraghavan K, *et al.* (2009). Suitability of self-collected vaginal samples for cervical cancer screening in periurban villages in Andhra Pradesh, India. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 18(5):1373-8.

Stenvall H, Wikström I, Backlund I, Wilander E.(2007). Accuracy of HPV testing of vaginal smear obtained with a novel self-sampling device. *Acta Obstet Gynecol Scand.*, 86(1):16-21.

Stewart DE, Gagliardi A, Johnston M, Howlett R, Barata P, Lewis N, *et al.* (2007). Self-collected samples for testing of oncogenic human papillomavirus: a systematic review. *J Obstet Gynaecol Can.*, 29(10):817-28.

Suwanarurk K, Bhamarapratana K, Kheolamai P, Thaweekul Y, Mairaing K, Poomtavorn Y, *et al.* (2010) Can self vaginal douching for high risk HPV screening replace or assist efficacy of cervical cancer screening?. *Asian Pac J Cancer Prev.*,11(5):1397-401.

Twu NF, Yen MS, Lau HY, Chen YJ, Yu BK, Lin CY. (2011). Type-specific human papillomavirus DNA testing with the genotyping array: a comparison of cervical and vaginal sampling. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*,156(1), 96-100

Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, *et al.* (1999). Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* , 189 (1), 12-19.

Winer RL, Feng Q, Hughes JP, Yu M, Kiviat NB, O'Reilly S, *et al.* (2007). Concordance of self-collected and clinician-collected swab samples for detecting human papillomavirus DNA in women 18 to 32 years of age. *Sex Transm Dis.* 34(6): 371-7.