



Tasa de infección por virus del papiloma humano diagnosticada mediante visualización directa con ácido acético y lugol (en pacientes del área rural)

RESUMEN

Antecedentes: la infección por virus del papiloma humano es un gran problema de salud mundial y el principal factor de riesgo para cáncer cervicouterino con altas tasas de morbilidad y mortalidad. Métodos sencillos de diagnóstico, como la inspección visual a simple vista del cuello uterino con la aplicación de ácido acético al 5% o solución de lugol (tintura de lugol) son pruebas simples para detectar las lesiones tempranas, la sensibilidad varía de 87 a 99% con especificidad de 23 a 87%.

Objetivo: encontrar la proporción de infección por virus del papiloma humano en una población rural.

Material y método: estudio piloto, lineal, observacional y descriptivo efectuado en pacientes de comunidades marginadas y en extrema pobreza del estado de Chiapas (México), del 1 al 30 de noviembre del año 2013. Se verificó la existencia de lesiones acetoblancas sugerentes de virus del papiloma humano, y se conformó la historia clínica de todas las pacientes para obtener la incidencia de factores de riesgo.

Resultados: se estudiaron 214 mujeres con límites de edad de 19 y 78 años, mediana de edad de 37 años. Del total, 66 (31%) tenían lesiones acetoblancas concordantes con virus del papiloma humano al momento del estudio.

Conclusiones: las poblaciones marginadas tienen mayor riesgo de infección por el virus del papiloma humano, en consecuencia elevada tasa de progresión a cáncer cervicouterino debido a las características sociodemográficas, factores de riesgo y falta de recursos en materia de salud. Pruebas diagnósticas como la visualización simple con ácido acético son ideales para poblaciones como ésta.

Palabras clave: virus del papiloma humano, visualización directa, crioterapia, salud global.

Rate of human papillomavirus infection in rural areas diagnosed by direct visualization with acetic acid and lugol

ABSTRACT

Background: Infection by HPV is a major global health problem and the main risk factor for cervical cancer with high morbidity and mortality. Simple diagnostic methods, such as visual inspection with the naked

José Daniel Flores-Alatriste¹
Karla Georgina Saldívar-Gutiérrez¹
Josué Sarmiento-Ángeles¹
Jaime Claudio Granados-Marín¹
Marco Antonio Olaya-Rivera¹
Stark Carlotta²
Hugo Flores-Navarro³
Jaroslav Stern-Colin⁴

¹ Residente de Ginecología y Obstetricia, Hospital Ángeles del Pedregal, Facultad Mexicana de Medicina, Universidad LaSalle, México DF.

² Enfermera BS RN Compañeros en Salud México.

³ Director de Compañeros en Salud México.

⁴ Clínica de reproducción asistida IMMUNOREP, México DF.

Recibido: febrero 2015

Aceptado: abril 2015

Correspondencia

Dr. José Daniel Flores-Alatriste
Camino a Santa Teresa 1055-1027, Torres Ángeles
Hospital Ángeles del Pedregal
10700 México DF
danielf.alatriste@gmail.com

Este artículo debe citarse como:

Flores-Alatriste JD, Saldívar-Gutiérrez KG, Sarmiento-Ángeles J, Granados-Marín JC y col. Tasa de infección por virus del papiloma humano diagnosticada mediante visualización directa con ácido acético y lugol (en pacientes del área rural). Ginecol Obstet Mex 2015;83:429-436.

eye of the cervix with acetic acid application 5% (VAT) or solution of iodine (tincture of iodine) are simple to detect early lesions, sensitivity varies from 87 to 99% and specificity varies from 23 to 87%.

Objective: To find the proportion of infection by human papillomavirus in a population of extreme poverty.

Material and method: Linear, observational and descriptive pilot study was done in patients of marginalized communities in extreme poverty in Chiapas (Mexico), from 1 to 30 November 2013. The existence of acetowhite lesions suggestive of virus was verified human papillomavirus, and medical history of all patients was formed for the incidence of risk factors.

Results: 214 women with age limits of 19 and 78 years, median age of 37 years were studied. Of the total, 66 (31%) had acetowhite lesions consistent with human papillomavirus at the time of the study.

Conclusions: Marginalized populations have a higher risk of infection with human papillomavirus, consequently high rate of progression to cervical cancer due to sociodemographic characteristics, risk factors and lack of resources in health. Diagnostic tests like the simple display with acetic acid are ideal for people such as this.

Key words: Human papillomavirus, direct visualization, cryotherapy, global health.

ANTECEDENTES

La infección por virus del papiloma humano es uno de los grandes problemas de salud mundial, y el principal factor de riesgo para cáncer cervicouterino, cerca de 100% de las pacientes con este diagnóstico están infectadas por este virus.^{1,2} En Estados Unidos se registran cada año alrededor de 6.2 millones de infecciones nuevas por virus del papiloma humano. Más de 50% de los adultos con vida sexual activa estarán infectados por este virus en algún punto de su vida, lo que sugiere la gran incidencia de infección en este grupo poblacional. El cáncer cervicouterino es el segundo en frecuencia de los cánceres ginecológicos y la primera causa de muerte por cáncer ginecológico en mujeres que viven en países en vías de industrialización. Los dos serotipos oncogénicos más comunes son el 16 y 18, que causan casi 70% de todos los cánceres cervicouterinos.^{3,4,5}

El virus del papiloma pertenece a una familia de virus-ADN que infecta directamente a los epitelios, se conforma por una doble cadena cerrada y circular sin cápside icosaédrica. Se divide en dos subgrupos según su capacidad oncogénica: virus del papiloma humano de bajo riesgo, 6 y 11, que se asocian con verrugas anogenitales y papilomatosis respiratoria recurrente. Los de alto riesgo, principalmente 16, 18, 31 y 45, son el mayor factor para cáncer cervicouterino, de pene, vulvar y orofaríngeo.^{2,5,6} Los factores de riesgo más importantes para virus del papiloma humano se muestran en el Cuadro 1.^{7,8}

La infección por virus del papiloma humano suele contraerse poco tiempo después del inicio de la vida sexual activa. En estudios recientes, la incidencia acumulada de infección por virus del papiloma humano de cualquier tipo en mujeres de 18 a 25 años es de 28.5% en el primer año después de iniciar la vida sexual y se incrementa



Cuadro 1. Factores de riesgo para IVPH

Inicio de vida sexual activa a edad temprana
Número de parejas sexuales
Contacto sexual con individuos pertenecientes a grupos de alto riesgo
Coexistencia de otras enfermedades de transmisión sexual
Inmunocompromiso
Multiparidad
Tabaquismo
Deficiencias nutricionales

incluso a 50% después de 3 años.^{2,9} La prevalencia de esta infección también se incrementa por el número de parejas sexuales en mujeres de este grupo de edad, con 22.3% en las que solo han tenido una pareja sexual, y 31.5% para quienes han tenido tres parejas. El pico máximo de la infección sucede entre los 20 y 24 años; 90% de las infecciones por virus del papiloma humano suelen remitir después de dos años.^{2,9} La transmisión del virus del papiloma humano suele ocurrir de mujer a hombre. Múltiples estudios de parejas heterosexuales muestran tasas más altas de transmisión de este modo que van de 3.5 a 187.5 eventos por 100 meses, con la incidencia más alta en las 24 horas posteriores al acto sexual vaginal.²

El tamizaje cervical para cáncer por virus del papiloma humano ha tenido éxito en reducir las tasas de mortalidad por cáncer cervicouterino. Las marcadas diferencias en la incidencia de mortalidad por cáncer cervicouterino antes y después de la introducción de los programas de tamizaje son una gran evidencia de su efectividad. Durante muchos años, la piedra angular del tamizaje para virus del papiloma humano ha sido la citología cervical; sin embargo, el éxito de este programa depende del alcance de los servicios de salud, la infraestructura, calidad de la muestra y el adiestramiento del personal para obtener la citología. Debido a estos problemas se han buscado nuevos métodos de tamizaje, como la inspección visual con ácido acético al 5% o con tintura de lugol.^{3,5,7}

La sensibilidad de la tintura de lugol varía de 87 a 99%, con especificidad de 23 a 87%. Una de sus ventajas es el bajo costo y el fácil acceso a su uso de las poblaciones en condiciones precarias y de desventaja social.¹¹⁻¹⁴ La prueba se realiza mediante visualización directa, sin ningún instrumento de por medio, con especuloscopia, aplicación de ácido acético al 5% o solución de lugol en el cérvix.^{3,11-14} De acuerdo con los lineamientos de la *International Agency for Research on Cancer (IARC)*,¹¹ la tintura de lugol se considera negativa cuando no se observan lesiones acetoblancas, o se encuentran mal definidas, dispersas o geográficamente lejos de la zona escamocolumnar. Y es positiva cuando se encuentran lesiones densas, opacas, bien definidas o que tocan la zona escamocolumnar. Por lo que se refiere a la tintura de lugol, se requiere el mismo instrumental y los resultados son inmediatos: positivos para los pacientes con una coloración amarillo-mostaza, cercana a la zona escamocolumnar.^{3,11} Estas técnicas son de simple ejecución y pueden ponerlas en práctica diversos profesionales de la salud, luego del adiestramiento adecuado. Un estudio extenso, efectuado en la India, demostró que una sola prueba con tintura de lugol reduce la incidencia y mortalidad por cáncer cervicouterino en 25 a 35%.^{3,11-14} En cuanto al costo-efectividad diversos estudios efectuados en países en desarrollo, como: India, Kenia, Perú, Sudáfrica y Tailandia han demostrado que los mejores métodos de tamizaje son los que requieren menos visitas para diagnóstico, seguimiento y tratamiento. Estos análisis sugieren que si a los 35 años de edad las mujeres acumulan una o dos visitas de tamizaje para virus del papiloma humano ello disminuye sustancialmente el riesgo de cáncer cervicouterino y el gasto de atención por esta enfermedad.^{3,15-18}

Estudios efectuados en poblaciones de Laos, India, Ghana y Tailandia justifican la crioterapia después de una visualización directa positiva,

pues los grupos estudiados tienen poco o nulo acceso a servicios de salud, diversos factores de riesgo y difícil seguimiento.¹⁹⁻²¹ Por esto diversas organizaciones internacionales de salud, como el American College of Clinical Pharmacy (ACCP) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) están a favor de estos procedimientos en países en vías desarrollo, poblaciones marginadas y grupos con pocos recursos de salud.¹⁹⁻²² Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio es encontrar la proporción de infección por virus del papiloma humano en una población de extrema pobreza.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio piloto, lineal, observacional y descriptivo de tamizaje para virus del papiloma humano, con ácido acético o lugol aplicado a pacientes de comunidades marginadas y en extrema pobreza de la sierra del estado de Chiapas (1 al 30 de noviembre del año 2013).

Criterios de inclusión: mujeres con vida sexual activa, residentes de las comunidades chiapanecas y que aceptaran, mediante consentimiento informado, participar en el estudio.

Criterios de exclusión: mujeres que estuvieran menstruando al momento de la especuloscopia, que tuvieran alguna lesión vaginal o cervical o alguna contraindicación para la aplicación de ácido acético o lugol.

Al aplicar el ácido acético al 5% se verificó la existencia o no de lesiones acetoblancas, zonas que no pintaron con la solución lugol iodada, que se tomaron como virus del papiloma humano. Para categorizar como positivo o negativo al momento del estudio, se tomaron como guía los lineamientos de la *International Agency for Research on Cancer* (IARC). Todas las visualizaciones las efectuó un médico con adiestramiento para la aplicación de esta prueba.

Para cada paciente con positividad para el virus del papiloma humano se llenó un formato que registró el número de lesiones, localización y sus características. A esas mujeres se les proporcionó el tratamiento para las lesiones, con crioterapia mediante CO₂; se tomaron en cuenta las indicaciones y contraindicaciones para el procedimiento. Se formuló la historia clínica detallada de cada paciente a la que se practicó la prueba de tamizaje, con el fin de registrar la incidencia de factores de riesgo en ese grupo de población.

RESULTADOS

Se analizaron 214 mujeres, sin exclusión de alguna de ellas, con límites de edad de 19 y 78 años, con una DE ± 11.9 y mediana de edad de 37 años. De la población total estudiada, 66 (31%) mujeres tuvieron lesiones acetoblancas concordantes con virus del papiloma humano al momento del estudio. Al separar la proporción de virus del papiloma humano de acuerdo con la población total de mujeres de cada una de las comunidades estudiadas, se obtuvieron los siguientes resultados: de la comunidad de Soledad se estudiaron 66 mujeres (18.3%) y de éstas 28 (42.4%) tuvieron positividad para virus del papiloma humano. Referente a la población de Matasanos, que registró una población femenina total de 127, se estudiaron 66 (51.9%), de las que 14 (21.2%) resultaron positivas en la visualización directa. Laguna del Cofre tiene 510 mujeres y se analizó a 82 (16%) y de éstas 24 (29.2%) estaban infectadas por el virus del papiloma humano.

Del total de la población estudiada, 44 (20.5%) tenían antecedentes de infección por el virus del papiloma humano, 28 de estas pacientes habían recibido crioterapia previa. Al realizar la inspección visual con ácido acético y tintura de lugol ninguna tuvo lesiones sugerentes de virus del papiloma humano. En este subgrupo de mu-



jes, 8 de ellas a pesar de estar infectadas con el virus del papiloma humano, diagnosticadas con anterioridad, nunca recibieron tratamiento, por eso se les efectuó inspección visual con ácido acético y tintura de lugol, y resultaron positivas a la infección por virus del papiloma humano, por eso recibieron tratamiento con crioterapia al cumplir criterios y no tener contraindicaciones para ello.

De las 66 pacientes de la población total infectadas por el virus del papiloma humano, solo una no recibió crioterapia debido a invasión de la lesión acetoblancas hacia el canal endocervical; fue referida para cono-biopsia. No se encontró alguna otra contraindicación para la crioterapia.

En cuanto a otros factores de riesgo, las 214 mujeres habían iniciado vida sexual activa antes de los 20 años. Solo 7 (3.2%) pacientes tenían hábito tabáquico. Los factores de riesgo, como el inmunocompromiso y la desnutrición, no pudieron evaluarse objetivamente debido a las condiciones de este estudio. Por lo que se refiere a la paridad de estas mujeres, la dispersión fue de 0 a 18 eventos obstétricos, con una mediana de 9, el pico máximo de incidencia para este rubro fue de 5 partos, lo que representó 44 (20.4%) pacientes, en orden descendente le siguieron 3 y 4 partos, ambos con 32 (14.9%) pacientes cada uno. (Figura 1)

Del total de la población estudiada 28 (13%) nunca se habían realizado la citología cervical, de estas mujeres 2 (7.1%) tuvieron lesiones de virus del papiloma humano. En total 20 (9.3%) pacientes nunca había acudido a consulta con un médico.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio muestran una proporción elevada de virus del papiloma humano en las comunidades, en

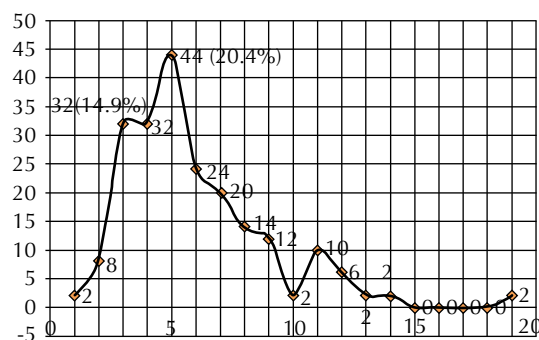


Figura 1. Muestra de la multiparidad obtenida en esta población. El eje X representa el número de partos, mientras que el eje Y muestra el número de mujeres.

comparación con el resto del país, según lo establecido por Luciani y su grupo (2008) que es de 11%,⁷ mientras que en este estudio fue de 31%. Es pertinente tomar en cuenta los factores específicos de esta población, como el temprano inicio de vida sexual, las condiciones de pobreza, el contacto con poblaciones de riesgo, como migrantes, multiparidad importante, entre otros; por lo que es esperado que la proporción de infección por el virus del papiloma humano sea más alta.

Las pruebas de tamizaje para virus del papiloma humano han jugado un papel primordial en tratar de disminuir la incidencia de esta enfermedad, sus posibles complicaciones, como el cáncer cervicouterino. Para este fin existen diversas pruebas de tamizaje, como la citología cervical y las visualizaciones directas. De acuerdo con la Agency for Healthcare Research and Quality, la sensibilidad de la citología convencional en detectar lesiones precancerígenas es de 51%. Sin embargo, cada año alrededor de 30% de los nuevos casos de cáncer cervicouterino ocurren en mujeres con citología cervical previa negativa, esto se debe a errores en el muestreo, fijación e interpretación. Esto se observa con

mayor frecuencia en poblaciones sin los recursos necesarios para el análisis y la interpretación óptima de las muestras; es decir, en poblaciones en situaciones similares a la estudiada en este trabajo, por lo que es necesario desarrollar herramientas sencillas que no necesiten una amplia estructura funcional.²³

La inspección visual con ácido acético y tintura de lugol son técnicas sencillas que no requieren pruebas de laboratorio, lo que implica ahorro de recursos y tiempo. Numerosos estudios han demostrado la sensibilidad y especificidad de estas pruebas, con 96 y 98%, respectivamente.²³ De acuerdo con Deodhar y su grupo,³ la inspección visual con ácido acético y tintura de lugol ha demostrado su eficacia como tamizaje, a un costo bajo que ha repercutido positivamente en disminuir el riesgo de cáncer cervicouterino entre 25 y 35%.^{3,19} Mallah y sus colaboradores condujeron un estudio en el que se comparó la sensibilidad de las visualizaciones directas con la citología cervical convencional; encontraron que la visualización directa tuvo una amplia ventaja en cuanto a la sensibilidad en comparación con la citología cervical: 96 vs 42%, respectivamente.²⁸ La especificidad fue de 44 vs 10%, lo que muestra la alta sensibilidad que pueden tener estas pruebas en la detección del virus del papiloma humano, expresando indirectamente la validez de los resultados obtenidos en este artículo.

La crioterapia, como método de tratamiento para las lesiones precancerígenas es efectiva, fácil de poner en práctica y de bajo costo, en comparación con algunas otras modalidades, como la vaporización láser, la resección electroquirúrgica e incluso la resección con bisturí frío, que requieren la participación de personal altamente capacitado, equipo especializado y estudio histopatológico; esta razón ha proyectado a la crioterapia como una estrategia

primaria de salud. En la población estudiada se realizó crioterapia a las pacientes con inspección visual con ácido acético o tintura de lugol positivas, utilizando los criterios descritos, tal como lo recomienda la Organización Mundial de la Salud.²⁵

La crioterapia proporciona la opción de tratar inmediatamente los hallazgos sugerentes de infección por el virus del papiloma humano y permite la disminución del número de pacientes que se pierden sin recibir tratamiento. Otro punto importante de este tratamiento es que tiene una excelente aceptación por parte de las pacientes porque es rápido, seguro y con pocos efectos secundarios, permitiendo la rápida reincorporación a la vida habitual. Diversos estudios, como el de Adeyufe y su grupo en Nigeria, población que comparte muchos aspectos sociodemográficos con las pacientes estudiadas, demostraron que gran parte del éxito del programa es directamente dependiente de la aceptación de la población del tratamiento con crioterapia. Durante la realización de esta investigación ninguna de las pacientes se opuso a ser tratada con crioterapia después de explicarle ampliamente sus ventajas y los posibles efectos adversos.

En nuestro estudio, las pacientes previamente tratadas con crioterapia no volvieron a manifestar lesiones por virus del papiloma humano al momento de la prueba; esto hace pensar en la utilidad y rentabilidad de este procedimiento, parámetros establecidos en diferentes estudios, como el realizado por Phongsavan y sus coautores.²¹ Diversos programas gubernamentales, como los realizados en Perú, Uganda, Vietnam y Laos han demostrado que la inspección visual con ácido acético, aunada a la utilización de crioterapia, como parte de la estrategia de “ver y tratar”, es rentable y adecuada para prevenir el cáncer cervicouterino.²⁵



CONCLUSIONES

Los programas de tamizaje deben reunir una aceptable sensibilidad y especificidad, e incluir a las pacientes asintomáticas para identificar a las potencialmente infectadas y realizarles estudios de extensión. La decisión de introducir un programa de tamizaje en los servicios de salud pública debe basarse en los posibles beneficios, de salud y económicos, que se obtendrán y en la efectividad, facilidad de reproducción y medios necesarios para la prueba a implementar.

Las poblaciones marginadas, como la descrita en este trabajo, tienen mayor riesgo de infectarse con el virus del papiloma humano, por lo que potencialmente tienen una elevada tasa de progresión a cáncer cervicouterino, debido a las características sociodemográficas, factores de riesgo y falta de recursos en materia de salud.

La inspección visual con ácido acético y la tinción de lugol son pruebas atractivas, simples y eficaces que requieren una mínima infraestructura. Los resultados son inmediatos, lo que permite no perder a la paciente y ofrecerle tratamiento inmediato. La crioterapia es un tratamiento efectivo en poblaciones con condiciones precarias y en centros con recursos limitados. El equipo es barato y los sustratos de fácil acceso, además de no necesitar condiciones especiales para su transporte, haciéndolo ideal para llevar a comunidades alejadas. Por todo lo anterior y congruente con la bibliografía revisada se concluye que una estrategia de detección y tratamiento de la infección por virus del papiloma humano basada en inspección visual con ácido acético y crioterapia constituye una opción viable para centros sanitarios de atención primaria en la población estudiada.

REFERENCIAS

1. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papilloma virus and cervical cancer. *Lancet* 2013;382:889-99.
2. Eileen FD, Ina UP. HPV and HPV-associated diseases. *Infect Dis Clin N Am* 2013;27:765-78
3. Deodhar KK. Screening for cervical cancer and human papilloma virus: Indian context. *Clin Lab Med* 2012;32:193-205
4. Muñoz N, Herrero R. Prevention of cervical cancer in women's hands: Mexico leads the way. *Lancet* 2011;378:1829-31.
5. Weinstein LC, Buchanan EM, Hillson C, Chambers CV. Screening and prevention: cervical cancer. *Prim Care* 2009;36:559-74.
6. Denny L. Cervical cancer prevention: new opportunities for primary and secondary prevention in the 21st century. *Int J Gynaecol Obstet* 2012;119 Suppl 1:S80-4. Epub 2012 Aug 11.
7. Luciani S, Andrus JK. A Pan American Health Organization strategy for cervical cancer prevention and control in Latin America and the Caribbean. *Reprod Health Matters* 2008;16:59-66.
8. Muñoz N, Franco EL, Herrero R, *et al.* Recommendations for cervical cancer prevention in Latin America and the Caribbean. *Vaccine* 2008;26 Suppl 11:L96-L107.
9. Herrero R, Ferreccio C, Salmeron J, *et al.* New approaches to cervical cancer screening in Latin America and the Caribbean. *Vaccine* 2008;26 Suppl 11:L49-58.
10. Spitzer M. Screening and management of women and girls with human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol* 2007;107(2 Suppl 1):S14-8.
11. Sankaranarayanan R, Basu P, Wesley RS, Mahe C, Keita N, *et al.* Accuracy of visual screening for cervical neoplasia: Results from an IARC multicentre study in India and Africa. *Int J Cancer* 2004;110:907-13.
12. Sauvaget C, Fayette JM, Muwonge R, Wesley R, Sankaranarayanan R. Accuracy of visual inspection with acetic acid for cervical cancer screening. *Int J Gynaecol Obstet* 2011;113:14-24. Epub 2011 Jan 22.
13. Sankaranarayanan R, Nessa A, Esmy PO, Dangou JM. Visual inspection methods for cervical cancer prevention. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2012;26:221-32. Epub 2011 Nov 9.
14. Deodhar K, Sankaranarayanan R, Jayant K, Jeronimo J, Thorat R, *et al.*
15. Accuracy of concurrent visual and cytology screening in detecting cervical cancer precursors in rural India. *Int J Cancer* 2012;131:E954-62. Epub 2012 May 30.

16. Goldie SJ, Gaffikin L, Goldhaber-Fiebert JD, Gordillo-Tobar A, *et al.*
17. Cost-effectiveness of cervical-cancer screening in five developing countries. *N Engl J Med* 2005;353:2158-68.
18. Legood R, Gray AM, Mahé C, Wolstenholme J, *et al.* Screening for cervical cancer in India: How much will it cost? A trial based analysis of the cost per case detected. *Int J Cancer* 2005;117:981-7.
19. Chalkidou K, Marquez P, Dhillon PK, Teerawattananon Y, Anothaisintawee T, *et al.* Evidence-informed frameworks for cost-effective cancer care and prevention in low, middle, and high-income countries. *Lancet Oncol.* 2014 Mar;15(3):e119-e131.
20. Kulasingam S, Havrilesky L. Health economics of screening for gynaecological cancers. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2012 Apr;26(2):163-73.
21. Phongsavan K, Phengsavanh A, Wahlström R, Marions L. Safety, feasibility, and acceptability of visual inspection with acetic acid and immediate treatment with cryotherapy in rural Laos. *Int J Gynaecol Obstet.* 2011 Sep;114(3):268-72.
22. Nene BM, Hiremath PS, Kane S, Fayette JM, *et al.* Effectiveness, safety, and acceptability of cryotherapy by midwives for cervical intraepithelial neoplasia in Maharashtra, India. *Int J Gynaecol Obstet.* 2008 Dec;103(3):232-6.
23. Paul P, Winkler JL, Bartolini RM, Penny ME, Huong TT, *et al.* Screen-and-treat approach to cervical cancer prevention using visual inspection with acetic acid and cryotherapy: experiences, perceptions, and beliefs from demonstration projects in Peru, Uganda, and Vietnam. *Oncologist.* 2013;18 Suppl:6-12. 18-S2-6.
24. Santesso N, Schünemann H, Blumenthal P, De Vuyst H, Gage J, *et al.*
25. World Health Organization Guidelines: Use of cryotherapy for cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2012 Aug;118(2):97-102.
26. Pourasad-Shahrak S, Salehi-Pourmehr H, Mostafa-Garebaghi P.
27. Comparing the results of Pap smear and Direct Visual Inspection (DVI) with 5% acetic acid in cervical cancer screening. *Niger Med J.* 2015 Jan-Feb; 56(1): 35-38.
28. Mallah F, Nazari F, Navali N. Comparison of direct visual inspection (DVI) with paps mear in diagnosis of precancer our lesion of cervix. *Life Sci J.* 2012;9:2556-60.
29. WHO Guidelines for Screening and Treatment of Pre-cancerous Lesions for Cervical Cancer Prevention. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. Geneva: World Health Organization; 2013.