



Comparación de plataformas automatizadas para la genotipificación del virus del papiloma humano

Calva-Espinosa DY,¹ Campos-Romero A,² Moreno-Camacho JL,³ Meza-Castro MC,⁴ Canizalez Román VA,⁵ Alcántar-Fernández J⁵

Resumen

OBJETIVO: comparar el desempeño operativo y la concordancia de los resultados de la genotipificación del virus del papiloma humano obtenidos en los sistemas automatizados Cobas® 4800 y BD Viper™ LT a partir de muestras de citología en base líquida.

MATERIALES Y MÉTODOS: estudio retrospectivo efectuado con base en el análisis de las mujeres que asistieron a las clínicas de Salud Digna para Todos entre los meses de abril a junio de 2016 para estudio de Papanicolaou. Las muestras se almacenaron en colectores BD Sure-Path™ de citología en base líquida. Se emplearon los sistemas Cobas® 4800 y BD Viper™ LT para la genotipificación del virus. Los resultados se analizaron con la prueba de χ^2 de Pearson, y la concordancia se obtuvo por medio del índice Kappa de Cohen.

RESULTADOS: se analizaron 1934 muestras de citología en base líquida en las plataformas Cobas® 4800 y BD Viper™ LT. El grado de acuerdo entre los resultados obtenidos por ambas plataformas tuvo un valor de $\kappa = 0.832$. Se observaron diferencias entre el número de resultados positivos y negativos reportados, así como en las proporciones de los distintos genotipos, sin que fueran estadísticamente significativas.

CONCLUSIÓN: no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos para la detección del virus del papiloma humano conseguidos con las plataformas Cobas® 4800 y BD Viper™ LT. En el ámbito operativo existen diferencias significativas que deben tenerse en cuenta al momento de implementar cualquiera de estas plataformas.

PALABRAS CLAVE: cáncer cervicouterino, Cobas® 4800, BD Viper™ LT, virus del papiloma humano.

¹ Laboratorio Clínico.

² Innovación e Investigación.

³ Jefe del Laboratorio Clínico y Citología.

⁴ Química del Laboratorio Clínico y Citología.

⁵ Coordinador de Investigación.

Salud Digna para Todos, Sinaloa, México.

⁶ Investigador del Centro de Investigación Aplicada para la Salud Pública (CIASAP), Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa.

Recibido: enero 2017

Aceptado: junio 2017

Correspondencia

Jonathan Alcántar Fernández

jonathan.alcantar@salud-digna.org

Este artículo debe citarse como

Calva-Espinosa DY, Campos-Romero A, Moreno-Camacho JL, Meza-Castro MC, Canizalez Román VA, Alcántar-Fernández J. Comparación de plataformas automatizadas para la genotipificación del virus del papiloma humano. Ginecol Obstet Mex 2017 sept;85(9):569-577.

Ginecol Obstet Mex. 2017 Sep;85(9):569-577.

Comparison of automated platforms for the HPV genotypification.

Calva-Espinosa DY,¹ Campos-Romero A,² Moreno-Camacho JL,³ Meza-Castro MC,⁴ Canizalez Román VA,⁶ Alcántar-Fernández J⁵

Abstract

OBJECTIVE: To compare operative performance and concordance of human papillomavirus genotyping results obtained on Cobas® 4800 and BD Viper™ LT automated systems from liquid-based cytology samples.

MATERIALS AND METHODS: Retrospective study in 1964 women attending the clinics of Salud Digna para todos I.A.P. from April to June 2016 to perform the Papanicolaou study; samples were stored in the BD SurePath™ liquid-based cytology collectors. The Cobas® 4800 and BD Viper™ LT systems were used for virus genotyping. The results were analyzed with the Pearson χ^2 test, and concordance was obtained using the Cohen Kappa index.

RESULTS: 1934 of liquid-based cytology samples were analyzed on the Cobas® 4800 and BD Viper™ LT platforms. The concordance between the results obtained by both platforms was very high ($\kappa = 0.832$). Moreover, there are differences between the number of positive and negative results reported, as well as in the proportions of the different genotypes, however, these were not statistically significant.

CONCLUSION: There are no significant differences between the results obtained for the detection of the human papillomavirus obtained by the Cobas® 4800 and BD Viper™ LT platforms. However, at the operational level, there are important differences that must be taken into account when implementing any of these platforms.

KEYWORDS: Cervical Cancer, Cobas® 4800, BD Viper™ LT, Human Papilloma Virus

¹ Laboratorio Clínico.

² Innovación e Investigación.

³ Jefe del Laboratorio Clínico y Citología.

⁴ Química del Laboratorio Clínico y Citología.

⁵ Coordinador de Investigación.

Salud Digna Para Todos, Sinaloa, México.

⁶ Investigador del Centro de Investigación Aplicada para la Salud Pública (CIASAP), Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa.

Correspondence

Jonathan Alcántar Fernández

jonathan.alcantar@salud-digna.org

ANTECEDENTES

Los virus del papiloma humano son agentes infecciosos que se transmiten por contacto sexual entre hombres y mujeres. Estos agentes son la principal causa del inicio de diversos tipos de cáncer, como el cervicouterino,^{1,2} que es el segundo tipo de cáncer más frecuente en el mundo en las mujeres.³ Hasta ahora se han identificado alrededor de

120 tipos de virus de papiloma humano² que se dividieron en dos grandes grupos: virus de alto y bajo riesgo según su capacidad oncogénica. Entre los virus de alto riesgo se han identificado 15 tipos (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82); el 16 y 18 se relacionan, en todo el mundo, con 70% de las neoplasias cervicales.^{1,3} De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, en el año 2012 se registraron 445,000



nuevos casos de cáncer cervicouterino en el mundo;¹ en ese mismo año sucedieron 270,000 decesos a consecuencia de esta neoplasia.¹ Aproximadamente 85% de esos decesos se registraron en países de bajo desarrollo socioeconómico.¹ En México, la mortalidad por cáncer cervicouterino ha mantenido una tendencia descendente en los últimos años, al pasar de 25.3 defunciones por cada 100,000 mujeres en 1990 a 11.8 en el año 2012, lo que representa un descenso de 53.4%.⁴ Sin embargo, esta disminución no ha sido homogénea en todo el país porque la mayor mortalidad se concentra en áreas geográficas con menor índice de desarrollo humano, en las que los factores socioculturales, limitaciones económicas y de acceso a servicios médicos contribuyen a que no haya una detección oportuna del cáncer, sino hasta etapas más avanzadas, lo que incrementa el riesgo de mortalidad.⁴ Para prevenir esta situación, la Secretaría de Salud de México incluye el estudio de Papanicolaou como parte del tamizaje de detección temprana del cáncer cervicouterino. Desde luego que también puede efectuarse una prueba de identificación molecular del virus del papiloma humano para mejorar la sensibilidad del diagnóstico de lesiones precancerosas.^{4,5} Por ejemplo, cuando el resultado del examen de Papanicolaou es: células escamosas atípicas de dudosa implicación (CEADI) se recomienda un estudio de identificación del virus del papiloma humano.⁶

Los estudios, sobre todo los efectuados en Europa, han demostrado que la identificación molecular de virus como prueba de tamizaje incrementa en 60 a 70% la identificación de pacientes con cáncer cervical comparado con la citología.⁷ Aunado a lo anterior, estudios nacionales e internacionales han evaluado la repercusión clínica que tiene la aplicación en conjunto de los estudios citológicos y la identificación molecular del virus en la detección oportuna de neoplasias cervicales.⁸⁻¹³ Se concluyó que al realizar ambos estudios en conjunto

se logra identificar mayor número de mujeres en riesgo de cáncer cervicouterino.⁸⁻¹³ Por lo anterior se implementaron distintas pruebas de identificación del virus del papiloma humano, como la captura de híbridos y la genotipificación molecular por reacción en cadena de polimerasa (PCR), ambos métodos aceptados y aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos. Ambas pruebas han demostrado su eficacia en los programas de tamizaje para el cáncer cervical; sin embargo, la captura de híbridos ofrece diversas desventajas respecto de los sistemas de genotipificación; por ejemplo, en la captura de híbridos no pueden identificarse de forma individual en la muestra diversos genotipos virales de alto riesgo; por eso no es una prueba adecuada para el seguimiento de rutina en caso de infecciones persistentes o para estudios de prevalencia y genotipificación viral. Además, carece de un control interno que asegure que la cantidad de muestra y su calidad es la adecuada para efectuar el análisis y, finalmente, tiene menor sensibilidad respecto de las pruebas por PCR. Las plataformas de genotipificación viral incorporan un control interno para tener mayor fiabilidad en el análisis de las muestras. Además, la automatización ofrece una gran ventaja en procesamiento y trazabilidad del proceso, por eso los resultados obtenidos están libres de variaciones en la manipulación e interpretación de los resultados obtenidos por parte del operador, por lo que son más confiables respecto de otras metodologías.

Las pruebas de tamizaje por medio de PCR han mostrado una sensibilidad entre 66 y 95% para identificar al virus de alto riesgo en mujeres con lesiones precancerosas anormales.^{7,10,14-17} Esto ha motivado a países como Holanda¹⁸ y Estados Unidos¹⁹ a incorporar la genotipificación del virus a sus esquemas de tamizaje, mientras que España está en proceso de evaluación para su incorporación en sus esquemas de detección temprana del cáncer cervical.²⁰

Por lo anterior, el objetivo de este estudio es comparar la capacidad operativa y la concordancia de los resultados generados por dos plataformas automatizadas para la genotipificación del virus del papiloma humano en muestras obtenidas con la técnica de citología en base líquida, como una alternativa a los esquemas de tamizaje para la detección oportuna del cáncer cervicouterino en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo efectuado mediante el análisis de expedientes de mujeres que asistieron a las clínicas de Salud Digna para Todos (IAP) entre los meses de abril a junio de 2016 para realizarse el estudio de Papanicolaou. Se invitó a las pacientes a participar en este protocolo, para ello recibieron información del propósito de la investigación y quienes estuvieron de acuerdo firmaron el consentimiento informado.

Las muestras se obtuvieron de las pacientes que acudieron a las clínicas de Salud Digna para Todos (IAP) a efectuarse el estudio de Papanicolaou y se almacenaron en los colectores BD SurePath™ de citología en base líquida, y se procesaron en el Centro Nacional de Referencia de Salud Digna para Todos (IAP).

Para la genotipificación del virus del papiloma humano se emplearon dos sistemas: Cobas® 4800 HPV test System (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, USA) y BD Viper™ LT system (BD Diagnostics, Sparks, MD, USA). El procesamiento de las muestras y la operación de los equipos se efectuaron de acuerdo con las especificaciones de los proveedores. Se utilizó el sistema BD Totalys™ MultiProcessor para preparar alícuotas de las muestras en un ambiente libre de contaminantes y con la mínima intervención manual posible para asegurar la trazabilidad del proceso. La extracción del ADN genómico se hizo de forma automatizada en cada plataforma.

Los reactivos y consumibles empleados en este estudio fueron donados por Roche y BD. Las características técnicas de ambos sistemas se detallan en el **Cuadro 1**.

Para el análisis de datos, los resultados de los genotipos de alto riesgo de la plataforma BD Viper™ se agruparon conforme al reporte de la plataforma Cobas® 4800 de Roche. La concordancia de los resultados obtenidos entre ambos sistemas se evaluó por medio del índice Kappa de Cohen. Los análisis de resultados de variables dicotómicas, entre proporciones y categorías, se efectuaron por medio de la prueba de χ^2 de Pearson, se consideró un valor $p < 0.05$ como estadísticamente significativo. Los datos se analizaron con el programa estadístico IBM SPSS™ versión 22.

RESULTADOS

Se obtuvieron muestras de 1964 pacientes de las que se evaluó la capacidad operativa y la concordancia de los resultados obtenidos de dos plataformas automatizadas para la detección molecular del virus del papiloma humano en muestras de citología en base líquida.

Las plataformas utilizadas detectaron los mismos tipos virales de alto riesgo (**Cuadro 1**). Una diferencia importante radica en que el sistema Cobas® 4800 solo puede identificar, individualmente, a los genotipos 16 y 18; los demás genotipos de alto riesgo los reporta en un solo grupo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68.). Por su parte, BD Viper™ LT identifica individualmente los genotipos 16, 18, 31, 45, 51 y 52, y los demás genotipos de alto riesgo los agrupa en tres conjuntos (33 y 58), (56, 59 y 66) y (35, 39 y 68).

La capacidad de procesamiento de las muestras es mucho mayor con Cobas® 4800, que procesa por corrida 94 muestras en tanto que BD Viper™



LT procesa 30. Esto repercute en la productividad (la corrida incluye la fase de preparación pre-analítica y el procesamiento de la muestra) de ambos sistemas. Para Cobas® 4800 se requieren 4.6 horas para realizar toda la corrida, en tanto BD Viper™ LT invierte entre 3 y 4 horas, dependiendo la modalidad de trabajo. **Cuadro 1**

Por lo que se refiere al volumen de muestra necesario para el estudio, Cobas® 4800 requiere mayor volumen de muestra (400 µL efectivos con 1 mL de volumen muerto) respecto de BD Viper™ LT (500 µL efectivos). A pesar de esta diferencia no representa ninguna limitación o mayor exigencia a los pacientes durante el proceso de obtención de la muestra.

Otra característica analizada fue el control automatizado. BD Viper™ LT cuenta con un control de detección de insumos para el procesamiento por corrida, en caso de que faltara alguno, la corrida no puede iniciarse hasta que se suministre lo necesario. Lo anterior no sucede en Cobas® 4800, en caso de que faltase algún insumo durante la corrida, ésta es abortada por el sistema. Esto repercute en mayores gastos operativos, en la merma de insumos y muestras. Durante el procesamiento de las muestras, la plataforma Cobas® 4800 invalidó 30 muestras (1.53%) de las 1964 que se obtuvieron, BD Viper™ LT invalidó 2 muestras (0.10%), que fueron concordantes con las invalidadas en Cobas® 4800, por lo que para los análisis posteriores se eliminaron, en

Cuadro 1. Características técnicas de los sistemas automatizados Cobas® 4800 y BD Viper™ LT

Características	Roche	Becton Dickinson (BD)
Nombre de la prueba	Cobas® HPV test	BD Onclarity™ HPV Assay
Plataforma	Cobas® 4800 system	BD Viper™ LT system
Genotipos detectados	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68
Tecnología de detección	PCR cuantitativa en multiplex, todas las reacciones en un solo tubo	PCR cuantitativa con tres reacciones independientes
Identificación individual de genotipos	16 y 18	16, 18, 31, 45, 51 y 52
Identificación de genotipos en grupos	Un solo grupo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68)	Grupo 1 (33 y 58) Grupo 2 (56, 59 y 66) Grupo 3 (35, 39 y 68)
Segmento del genoma viral identificado	Gen L1	Oncogenes E6 y E7
Control interno de la muestra	Gen humano de β-globina	Gen humano de β-globina
Volumen de muestra requerido por reacción	400 UI 1 mL	500 UI
Procesamiento de muestras y reporte automático de resultados	Si	Si
Capacidad de procesamiento por corrida	94 muestras	30 muestras
Verificación de insumos previa al procesamiento de muestras	No*	Si
Tiempo de procesamiento de muestras (incluyendo fase pre-analítica)	4.6 h	Walk away: 4 h High throughput: 3 h

*El sistema aborta la corrida si durante alguna de las etapas de procesamiento carece de algún insumo.

conjunto, 30 muestras de ambos sistemas y se analizaron solo 1934. **Cuadro 2**

En cuanto a los resultados obtenidos se observó que la plataforma Cobas® 4800 reporta mayor número de muestras positivas (322) respecto de BD Viper™ LT (286); de éstas las muestras positivas al genotipo 16 fueron 36 en Cobas® 4800 y 30 en BD Viper™ LT. Las muestras que fueron positivas al genotipo 18 fueron las mismas en ambas plataformas. Por lo que se refiere a otros genotipos de alto riesgo, los casos positivos fueron 244 en Cobas® 4800 y 219 en BD Viper™ LT. En el caso de infecciones con múltiples tipos virales de alto riesgo, incluidos el 16 y 18, se encontraron 29 en Cobas® 4800 y 24 con BD Viper™ LT. Las diferencias señaladas no superan 5% de variación entre los resultados de los equipos, pues no fueron estadísticamente significativas (**Cuadro 3**). Por último, se evaluó la concordancia de los resultados obtenidos entre ambas plataformas, en la que se obtuvo un valor

de concordancia de $\kappa = 0.832$ (**Figura 1**), que significa que entre ambos sistemas existe un alto grado de acuerdo en los resultados generados.

DISCUSIÓN

Se efectuó una evaluación comparativa de dos plataformas de genotipificación del virus del papiloma humano para tamizaje del cáncer cervicouterino. Se emplearon las plataformas Cobas® 4800 de Roche® y BD Viper™ LT de BD® para evaluar el desempeño operativo y la concordancia de los resultados obtenidos en la identificación molecular del virus del papiloma humano. Desde el punto de vista operativo la plataforma Cobas® 4800 permite analizar mayor cantidad de muestras por corrida, respecto de BD Viper™ LT (**Cuadro 1**). Esto es importante considerarlo con respecto al número de muestras que se pretendan procesar (de acuerdo con la institución que adquiera estos equipos). El sistema BD Viper™ LT puede identificar más genotipos virales de forma individual respecto de Cobas® 4800 (**Cuadro 1**) por lo que BD Viper™ LT es el sistema adecuado para ampliar los estudios de prevalencia y seguimiento de infecciones persistentes por medio de la genotipificación viral.

En cuanto a control y automatización, la plataforma BD Viper™ LT es de tecnológica más robusta, con un sistema de verificación de insumos para el procesamiento de las muestras; por esto se asegura que éstas se procesen adecuadamente con

Cuadro 2. Comparativo del procesamiento de muestras en las plataformas Cobas® 4800 y BD Viper™ LT

Plataforma	n	Muestras analizadas	Invalidación* de proceso de muestras
Cobas® 4800	1964	1934(98.5%)	30 (1.5%)
BD Viper™	1964	1962(99.9%)	2 (0.1%)

* reporte automático de resultados. La invalidación se efectúa en las plataformas cuando no hay amplificación del control endógeno, de los controles positivos o interferencia con los controles negativos.

Cuadro 3. Genotipos de alto riesgo del virus de papiloma humano identificados con las plataformas Cobas® 4800 y BD Viper™

Plataforma	n	VPH positivos	VPH negativos	16	18	Alto riesgo excluyendo 16 y 18	Alto riesgo incluyendo 16 y 18
Cobas® 4800	1934 (100%)	322 (16.65%)	1612 (83.35%)	36 (1.86%)	13 (0.67%)	244 (12.62%)	29 (1.5%)
BD Viper™	1934 (100%)	286 (14.79%)	1648 (85.21%)	30 (1.55%)	13 (0.67%)	219 (11.32%)	24 (1.24%)
Análisis estadístico (χ^2 , gl)		1.842, 1 p=0.174	0.2157, 1 p=0.642	0.5363, 1 p=0.464	0.0, 1 p=1	1.206, 1 p=0.272	0.4653, 1 p=0.495

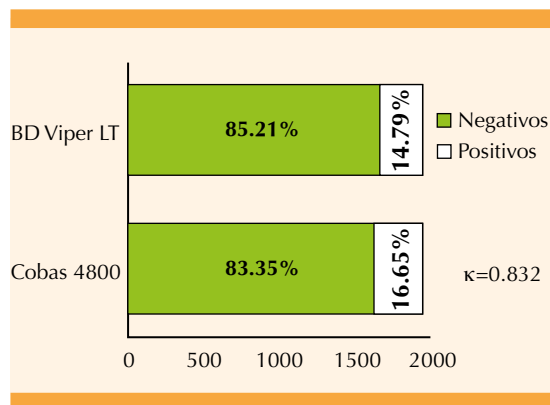


Figura 1. Comparación de la concordancia de los resultados de identificación molecular del virus del papiloma humano obtenidos con las plataformas Cobas® 4800 y BD Viper™ LT. n=1934 muestras, análisis de resultados mediante el índice Kappa de Cohen.

lo que se incrementa la calidad del proceso, esto no sucede en el sistema Cobas® 4800. **Cuadro 1**

Otra diferencia importante radica en los genes que se amplifican para identificar al virus, Cobas® 4800 amplifica un fragmento específico del gen L1. Por su parte, BD Viper™ LT amplifica regiones específicas de los genes E6 y E7 (**Cuadro 1**). Los reportes anteriores han demostrado que la amplificación del gen L1 es menos sensible para la detección del virus, respecto de los genes E6 y E7.²¹⁻²³ Durante el proceso carcinogénico del virus, éste integra su genoma al de la célula huésped. En la mayor parte de estos eventos, los genes E1, E2 y L1 se pierden; no obstante E6 y E7 se conservan y son los responsables de los procesos de transformación celular.²⁴ Esto supone que emplear el gen L1 podría incrementar el número de resultados falsos negativos respecto de la identificación con los genes E6 y E7, esto en cuanto a la detección del virus se refiere.

Por lo que se refiere a las muestras invalidadas en este estudio, según los proveedores (Roche y BD), esto sucede cuando no hay amplificación de los controles interno y positivos o amplificación de

los controles negativos. Durante el procesamiento de las muestras el sistema Cobas® 4800 requiere de la intervención de los operarios y puede ser ésta la fuente de las interferencias que se presentaron durante el estudio. No obstante, existe un alto grado de acuerdo entre los resultados obtenidos por ambos sistemas ($\kappa=0.832$), lo que es consistente con lo reportado por Cuzik y colaboradores.¹⁷ En cuanto a los resultados obtenidos se observó que existen ligeras diferencias en las proporciones de casos positivos y negativos para los distintos genotipos analizados; sin embargo, ninguna de ellas resultó ser estadísticamente significativa ni superior a 2%. **Cuadro 3**

CONCLUSIÓN

Las plataformas Cobas® 4800 y BD Viper™ LT son adecuadas para la detección y genotipificación del virus del papiloma humano; sin embargo, existen características importantes a tener en cuenta por parte de la institución que adquiera e implemente cualquiera de estas plataformas: la capacidad operativa, control automatizado, trazabilidad del ensayo y sensibilidad de la técnica de identificación. Este estudio, en conjunto con otros reportes en la bibliografía, aporta los elementos necesarios que podrán guiar a otras instituciones en la toma de decisiones para la implementación de la identificación molecular del virus del papiloma humano en los esquemas de tamizaje para la detección del cáncer cervicouterino.

Agradecimientos

Los autores agradecemos a las ingenieras Cinthia K. Cruz Zamudio y Tania G. Ortiz Espinoza por su apoyo durante este estudio. De igual forma extendemos nuestro agradecimiento a los colaboradores en las clínicas de Salud Digna para Todos por la ardua labor que realizan día con día. Asimismo a Roche y BD por las facilidades otorgadas para la realización de este estudio.

REFERENCIAS

1. Papilomavirus humanos (PVH) y cáncer cervicouterino. Nota descriptiva N° 380 Marzo de 2015 (OMS). Consulta en Octubre de 2016. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/es/>
2. Asiaf A, Ahmad ST, Mohammad SO, Zargar MA. Review of the current knowledge on the epidemiology, pathogenesis, and prevention of human papillomavirus infection. *Eur J Cancer Prev.* 2014 May;23(3):206-24.
3. Information Centre on HPV and cancer (HPV Information Centre), 2016. Human papillomavirus and related diseases report. <http://www.hpvcentre.net/statistics/reports/XWX.pdf>
4. Comité Nacional del Cancer en la Mujer, Posicionamiento del Subgrupo de Expertos. Utilización de las pruebas de biología molecular en la detección temprana del cáncer cérvico-uterino.
5. <http://cneqsr.salud.gob.mx/contenidos/descargas/Cancer-de-laMujer/Comite/PosicionamientoSubgrupo.pdf>
6. Programa de Acción Específico. Prevención y Control del Cáncer de la Mujer. 2013-2018. Consultada en Octubre de 2016. http://www.cneqsr.salud.gob.mx/contenidos/Programas_de_Accion/cancermama/ProgAccionCancer.html
7. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, Solomon D, Wentzensen N, Lawson HW. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2013 Apr; 17(5 Suppl 1):S1-S27.
8. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, Kitchener H, Segnan N, Gilham C, Giorgi-Rossi P, Berkhof J, Peto J, Meijer CJ. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomized controlled trials. *Lancet.* 2014 Feb 8; 383(9916):524-32.
9. Lazcano-Ponce E, Lörincz AT, Salmerón J, Fernández I, Cruz A, Hernández P, Mejía I, Hernández-Avila M. A pilot study of HPV DNA and cytology testing in 50,159 women in the routine Mexican Social Security Program. *Cancer Causes Control.* 2010 Oct;21(10):1693-700.
10. Lazcano-Ponce E, Lörincz AT, Cruz-Valdez A, Salmerón J, Uribe P, Velasco-Mondragón E, Nevarez PH, Acosta RD, Hernández-Avila M. Self-collection of vaginal specimens for human papillomavirus testing in cervical cancer prevention (MARCH): a community-based randomised controlled trial. *Lancet.* 2011 Nov 26; 378(9806):1868-73.
11. Wright TC Jr, Stoler MH, Behrens CM, Apple R, Derion T, Wright TL. The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Jan;206(1):46.e1-46.e11.
12. Wright TC Jr, Stoler MH, Sharma A, Zhang G, Behrens C, Wright TL; ATHENA (Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) Study Group. Evaluation of HPV-16 and HPV-18 genotyping for the triage of women with high-risk HPV+ cytology-negative results. *Am J Clin Pathol.* 2011 Oct; 136(4):578-86.
13. Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL; ATHENA (Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) HPV Study Group. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. *Am J Clin Pathol.* 2011 Mar; 135(3):468-75.
14. Torres-Ibarra L, Lazcano-Ponce E, Franco EL, Cuzick J, Hernández-Ávila M, Lorincz A, Rivera B, Ramírez P, Mendiola-Pastrana I, Rudolph SE, León-Maldonado L, Hernández R, Barrios E, Gravitt P, Moscicki AB, Schmeler KM, Flores YN, Méndez-Hernández P, Salmerón J; FRIDA Study Group. Triage strategies in cervical cancer detection in Mexico: methods of the FRIDA Study. *Salud Publica Mex.* 2016 Apr; 58(2):197-210.
15. Einstein MH, Martens MG, Garcia FA, Ferris DG, Mitchell AL, Day SP, Olson MC. Clinical validation of the Cervista HPV HR and 16/18 genotyping tests for use in women with ASC-US cytology. *Gynecol Oncol.* 2010 Aug 1; 118(2):116-22.
16. Whitlock EP, Vesco KK, Eder M, Lin JS, Senger CA, Burda BU. Liquid-based cytology and human papillomavirus testing to screen for cervical cancer: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2011 Nov 15; 155(10):687-97.
17. Else EA, Swoyer R, Zhang Y, Taddeo FJ, Bryan JT, Lawson J, Van Hyfte I, Roberts CC. Comparison of real-time multiplex humanpapillomavirus (HPV) PCR assays with INNO- LiPA HPV genotyping extra assay. *J Clin Microbiol.* 2011 May; 49(5):1907-12.
18. Cuzick J, Cadman L, Mesher D, Austin J, Ashdown-Barr L, Ho L, Terry G, Liddle S, Wright C, Lyons D, Szarewski A. Comparing the performance of six human papillomavirus test in a screening population. *Br J Cancer.* 2013 Mar 5; 108(4):908-13.
19. The Netherlands is the first country to transition its national cervical cancer screening program from Pap to primary HPV screening. <https://global.hpv16and18.com/netherlands-HPV-primary-screening>
20. The American Cancer Society guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. <http://www.cancer.org/cancer/cervicalcancer/moreinformation/cervicalcancerpreventionandearlydetection/cervical-cancer-prevention-and-early-detection-cervical-cancer-screening-guidelines>
21. Georgalis L, de Sanjosé S, Esnaola M, Bosch FX, Diaz M. Present and future of cervical cancer prevention in Spain: a cost-effectiveness analysis. *Eur J Cancer Prev.* 2016 Sep; 25(5):430-9.
22. Park JS, Namkoong SE, Han SK, Nha DJ, Lee HY, Kim SJ. Comparison of L1 consensus primers with E6 type specific primers for detection of human papillomaviruses in paraffin sections of cervical neoplasia. *J Korean Med Sci.* 1993 Feb; 8(1):60-7.



23. Morris BJ. Cervical human papillomavirus by PCR: advantages of targeting the E6/E7 region. Clin Chem Lab Med. 2005; 43(11):1171-7.
24. Cricca M1, Morselli-Labate AM, Venturoli S, Ambretti S, Gentilomi GA, Gallinella G, Costa S, Musiani M, Zerbini M. Viral DNA load, physical status and E2/E6 ratio as a marker to grade HPV16 positive women for high-grade cervical lesions. Gynecol Oncol. 2007 Sep; 106(3):549-57.
25. Doorbar J. Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. Dis markers. 2007; 23(4):297-313.

AVISO PARA LOS AUTORES

Ginecología y Obstetricia de México tiene una nueva plataforma de gestión para envío de artículos. En: **www.revisionporpares.com** podrá inscribirse en nuestra base de datos administrada por el sistema *Open Journal Systems* (OJS) que ofrece las siguientes ventajas para los autores:

- Subir sus artículos directamente al sistema.
- Conocer, en cualquier momento, el estado de los artículos enviados, es decir, si ya fueron asignados a un revisor, aceptados con o sin cambios, o rechazados.
- Participar en el proceso editorial corrigiendo y modificando sus artículos hasta su aceptación final.