

Detección de los oncogenes HPV E6/E7 para el diagnóstico precoz de cáncer de cuello de útero

CT2010/01

CONSULTAS TÉCNICAS

avalia-t

Axencia de Avaliación de
Tecnoloxías Sanitarias de Galicia

Detección de los oncogenes Hpv E6/E7 para el diagnóstico precoz de cáncer de cuello de útero

CT2010/01

Santiago de Compostela, febrero 2010

Dirección avalia-t

Teresa Cerdá Mota

Autores

Leonor Varela Lema

Teresa Queiro Verdes

Documentalista

Beatriz Casal Acción

Para citar este documento:

Varela Lema L, Queiro Verdes T. Detección de los oncogenes E6/E7 para el diagnóstico precoz de cáncer de cuello de útero. Santiago de Compostela: Consellería de Sanidade, Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia, avalia-t; 2010. Serie Avaliación de Tecnoloxías. Consultas técnicas; CT2010/01.

Este informe ha sido sometido a un proceso de revisión externa. La Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia agradece a la Dra. Amparo Coira Nieto del Laboratorio de Microbiología (Xeral-Calde), al Dr. Eloy Moral Santamarina del Servicio de Ginecología y Obstetricia (Complejo Hospitalario de Pontevedra), a la Dra. Raquel Zubizarreta Alberdi del Servicio de Programas Poblacionales de Cribado (Dirección General de Salud Pública) y al Dr. José Manuel Martínez Iriarte de la Unidad de Patología Molecular del Hospital Xeral-Cíes (CHUVI) su colaboración desinteresada y los comentarios aportados.

El presente informe es propiedad de la Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia, este documento puede ser reproducido parcial o totalmente para uso no comercial, siempre que se cite explícitamente su procedencia.

Información dirigida a profesionales sanitarios.

Conflicto de intereses: el autor declara la ausencia de conflicto de intereses en la elaboración del presente documento.

Axencia de Avaliación de Tecnoloxías Sanitarias de Galicia, avalia-t

Dirección Xeral de Saúde Pública e Planificación

Consellería de Sanidade

San Lázaro, s/n

15781-Santiago de Compostela

Teléfono: 881 541831 Fax: 881 542854

Dirección electrónica: <http://avalia-t.sergas.es>

Correo electrónico: avalia-t@sergas.es

Depósito legal: C 563-2010

Documento publicado exclusivamente en Internet.

ÍNDICE

DETECCIÓN DE LOS ONCOGENES HPV E6/E7 PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DE CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO	1
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS	5
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	9
RESUMEN	11
SUMMARY	13
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE CÉRVIX	15
1.1.1. Incidencia	15
1.1.2. Mortalidad	16
1.1.3. Supervivencia	17
1.2. CAUSAS Y FACTORES DE RIESGO	17
1.3. CRIBADO DEL CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO	19
1.3.1. Aspectos generales de los programas de cribado	19
1.3.2. Cribado de cáncer de cérvix	20
1.3.3. Virus del papiloma humano	22
1.3.4. Nuevos métodos de detección HPV	25
1.3.4.1. Análisis del HPV E6/E7 mRNA	26
✓ <i>Métodos de detección de HPV E6/E7 mRNA</i>	26
2. OBJETIVOS	29
2.1. OBJETIVOS PRINCIPALES	29
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3. MÉTODOS	31
3.1. BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA	31
3.2. SELECCIÓN DE LOS ESTUDIOS	31
3.2.1. Según el tipo de publicación	32
3.2.2. Según la población	32
3.2.3. Según el tipo de intervención	32
3.2.4. Según la medición de resultados	32
3.2.5. Según el idioma	33
3.3. EXTRACCIÓN DE DATOS Y SÍNTESIS DE INFORMACIÓN	33
3.4. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD	33
4. RESULTADOS	35
4.1. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA	35
4.2. RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS	36
4.2.1. Utilización como método primario de cribado	36
4.2.2. <i>Triage</i> de mujeres con citologías anormales	38
4.2.3. <i>Triage</i> de mujeres con resultados positivos en la prueba HPV DNA	40
4.3. CALIDAD DE LA EVIDENCIA	41
5. DISCUSIÓN	45
5.1. DISCUSIÓN DEL MÉTODO	45
5.1.1. Discusión de la búsqueda	45
5.1.2. Discusión de los criterios de inclusión y exclusión	45
5.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	45
6. CONCLUSIONES	51
7. RECOMENDACIONES	53
8. BIBLIOGRAFÍA	55

GLOSARIO	61
ANEXOS	63
ANEXO A: SISTEMA DE CLASIFICACIÓN BETHESDA (2001) (49)	63
ANEXO B. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA	65
ANEXO C. TABLAS DE EVIDENCIA	69
ANEXO D. ARTÍCULOS EXCLUIDOS	73

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

ASCUS: *atypical scamous cells of uncertain significance* (células escamosas atípicas de significado indeterminado)

CCAA: comunidades autónomas

CE: Comisión Europea

CIN: *cervix intraepithelial neoplasia* (neoplasia cervical intraepitelial)

CIS: *carcinoma in situ*

DNA/ADN: *desoxyribonucleic acid*/ácido desoxirribonucleico

E: especificidad

HC2: *hybrid capture 2* (captura híbrida 2)

HPV: *human papilloma virus* (virus del papiloma humano)

HSIL: *high squamous intraepithelial lesion* (lesión intraepitelial de alto grado)

IARC: *International Agency for Research of Cancer* (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer)

LSIL: *low squamous intraepithelial lesion* (lesión intraepitelial de bajo grado)

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: *polimerase chain reaction* (reacción en cadena de la polimerasa)

RNA/ARN: *ribonucleic acid*/ácido ribonucleico

RR: riesgo relativo

S: sensibilidad

VPP: valor predictivo positivo

VPN: valor predictivo negativo

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tabla de conversión para los diferentes sistemas de clasificación citológica	21
Tabla 2. Resultados de los metaanálisis llevados a cabo para evaluar las 4 posibles aplicaciones clínicas de los métodos de detección de HPV (HC2 y PCR) (25)	24
Tabla 3. Resultados diagnósticos de los estudios que evalúan la efectividad de las pruebas de HPV mRNA como método primario de cribado	38
Tabla 4. Resultados diagnósticos de los estudios que evalúan la efectividad de las pruebas de HPV mRNA en el <i>triaje</i> de mujeres con citologías anormales	40
Tabla 5. Resultados diagnósticos de los estudios que evalúan la efectividad diagnóstica de las pruebas de HPV mRNA en el <i>triaje</i> de mujeres HPV DNA positivas	41
Tabla 6. Puntuación otorgada a los diferentes ítems de calidad recogidos en la herramienta QUADAS (29, 30)	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la distribución mundial del cáncer de cérvix.	15
Figura 2. Tasas ajustadas de incidencia y mortalidad de cáncer de cérvix en los 27 Estados miembros de la UE (tasa ajustada a la población mundial por 100.000 mujeres)	16
Figura 3. Algoritmo diagnóstico propuesto por el grupo de Cuzick et al (25)	25
Figura 4. Mecanismos de inducción de la carcinogénesis mediante HPV (28)	26
Figura 5. Resultados de la búsqueda bibliográfica	35

RESUMEN

Introducción: el virus del papiloma humano (HPV) es el principal agente causal del cáncer de cérvix. En la actualidad están siendo adoptadas diversas estrategias para identificar las mujeres infectadas con HPV que realmente tienen una elevada probabilidad de sufrir transformaciones carcinogénicas y desarrollar un tumor invasivo. Entre estas estrategias figura la identificación de oncogenes E6/E7 HPV mRNA. Los oncogenes E6/E7 se reconocen como responsables de la iniciación y la evolución en tumores invasivos. Para su detección se ha comercializado una serie de técnicas que difieren sustancialmente en los genotipos de HPV evaluados (5 o 14) y el método de análisis (cuantitativo o cualitativo).

Objetivos: el principal objetivo de este informe es evaluar la efectividad de los diferentes métodos de detección de HPV E6/E7 mRNA en el cribado del cáncer de cérvix. Los fines específicos son evaluar la efectividad de los métodos de detección de HPV E6/E7 mRNA en diferentes aplicaciones clínicas: 1) utilización como método primario de cribado, 2) *triaje* de mujeres con resultados indeterminados o lesiones intraepiteliales de bajo grado y 3) *triaje* de mujeres con resultados positivos en las pruebas de HPV DNA.

Métodos: en julio de 2009 se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica de los artículos publicados en las principales bases de datos bibliográficas: Medline (PubMed), Embase (Ovid) y Web Of Knowledge (WOK); así como en las bases de datos específicas de revisiones sistemáticas y proyectos de investigación en marcha. Los artículos fueron seleccionados atendiendo a unos criterios previamente establecidos, y la calidad fue evaluada empleando la herramienta QUADAS.

Resultados: se incluyeron 11 estudios en la revisión sistemática. De estos, 9 proporcionaron resultados de la efectividad diagnóstica (S, E, VPP, VPN) para detectar lesiones histológicas CIN2+/CIN3+. Todos fueron de carácter transversal y, excepto dos, emplearon el PreTec HPV Proofer para la determinación de HPV mRNA y múltiples métodos de HPV DNA.

Los 4 estudios que evaluaron la efectividad diagnóstica en el cribado primario mostraron que la especificidad para la detección de lesiones CIN2+ fue superior con la prueba PreTec HPV Proofer que con cualquiera de las pruebas de HPV DNA evaluadas (E=89%-97% *versus* 67%-92%), pero la sensibilidad fue inferior (64%-86% *versus* 93%-100%). El único estudio que evaluó la determinación de HPV mRNA mediante la prueba Aptima mostró una sensibilidad elevada (S=92%, E=54%). Globalmente, la sensibilidad del PreTec HPV Proofer también fue inferior para el *triaje* de mujeres con citologías anormales (S=41%-86% *versus* 74%-99%). Un estudio comparativo de múltiples métodos de HPV DNA y HPV mRNA observó que la prueba Aptima constituye uno de los métodos con mayor sensibilidad y especificidad (S=95%, E=39%). Las pruebas de HPV mRNA mostraron mayor efectividad para identificar la progresión citológica de la enfermedad.

Discusión: en la actualidad, además de no existir ningún ensayo clínico publicado, los estudios transversales recuperados presentan importantes limitaciones metodológicas que afectan a la validez y la extrapolación de los resultados. Cabe citar que solo uno de los cuatro estudios que evalúan la utilidad en el cribado primario lleva a cabo una verificación histológica de las mujeres con citologías normales, y ninguno incluye una muestra consecutiva de mujeres de la población general cribada.

Conclusiones: 1) Los métodos de HPV mRNA no se pueden considerar como prueba de cribado primario debido a la baja sensibilidad observada en algunos estudios, 2) no existen evidencias suficientes para establecer que estas técnicas supongan una mejoría respecto a la citología o HPV DNA para el *triaje* de mujeres con resultados indeterminados o lesiones intraepiteliales de bajo grado, o para mujeres normales con resultados HPV (+); 3) se desconoce si técnicas de HPV mRNA que detectan un mayor número de genotipos o lo hacen de forma cuantitativa presentan mejores resultados.

Recomendaciones: se recomienda el diseño de ensayos clínicos para evaluar la efectividad de las pruebas de detección de HPV mRNA en diferentes aplicaciones clínicas en comparación con otras estrategias de cribado de cáncer de cérvix.

SUMMARY

Introduction: Human papillomavirus (HPV) is the principal causal agent of cervical cancer. Currently, diverse strategies are in use for identifying women infected with HPV who really have a high likelihood of suffering carcinogenic transformations and developing an invasive tumour. Among these strategies is identification of HPV E6/E7 mRNA oncogenes. Oncogenes E6/E7 are recognised as responsible for initiation of and progression to invasive tumours. For their detection, a series of techniques has been marketed which differ substantially in terms of the HPV genotypes assessed (5 or 14) and the method of analysis (quantitative or qualitative).

Objectives: The principal objective of this report was to assess the effectiveness of the various HPV E6 E7 mRNA detection methods in cervical cancer screening. The specific objectives were to assess the effectiveness of HPV E6 E7 mRNA detection methods in different clinical applications, i.e., when used: 1) as the primary screening method; 2) for triage of women with inconclusive results or low-grade intraepithelial lesions; and 3) for triage of women with positive results in HPV DNA tests.

Methods: In July 2009, a bibliographic search was made of papers published in the principal bibliographic databases, such as Medline (PubMed), Embase (Ovid) and Web of Knowledge (WoK), and in specific databases focusing on systematic reviews and ongoing research projects. Papers were selected in accordance with pre-established selection criteria, and quality was assessed using the QUADAS tool.

Results: A total of 11 studies were included in the systematic review. Of these, 9 furnished results on the diagnostic effectiveness (S, Sp, PPV, NPV) for detecting histological CIN2+/CIN3+ lesions. All of the studies were cross-sectional. With the exception of 2 studies, all used the PreTec HPV Proofer for determination of HPV mRNA and multiple HPV DNA methods.

The 4 studies that assessed diagnostic effectiveness in primary screening showed that, while specificity for detection of CIN2+ lesions was higher with the PreTec

HPV Proofer test than with any of the HPV DNA tests evaluated ($Sp=89\%-97\%$ versus $67\%-92\%$), sensitivity was lower ($64\%-86\%$ versus $93\%-100\%$). The only study that assessed HPV mRNA determination using the Aptima test displayed a high sensitivity ($S=92\%$, $Sp=54\%$). Overall, the sensitivity of the PreTec HPV Proofer was also lower for triage of women with abnormal cytologies ($S=41\%-86\%$ versus $74\%-99\%$). One study which compared multiple HPV DNA and HPV mRNA methods reported that the APTIMA test was one of the methods having greatest sensitivity and specificity ($S=95\%$, $Sp=39\%$). The HPV mRNA tests displayed greater effectiveness for identifying cytological disease progression.

Discussion: No clinical trial had been conducted to date and the cross-sectional studies retrieved displayed important methodological limitations which limit the validity and extrapolation of the results. It should be noted that only one of four studies which assessed usefulness in primary screening conducted a histological verification of women with negative lesions in cytology. Similarly, no study included a consecutive sample of women drawn from the general screened population.

Conclusions: 1) HPV mRNA methods cannot be regarded as a primary screening test owing to the low sensitivity displayed by these methods in many of the studies undertaken. 2) Despite the potential interest of these tests in triage of women with inconclusive results or low-grade intraepithelial lesions or normal women with HPV (+) results, there is not sufficient evidence to establish whether these techniques amount to an improvement with respect to cytology and/or HPV DNA. 3) The practical totality of the studies used the PreTec HPV Proofer test and it is not known whether techniques that detect a greater number of genotypes or do so quantitatively yield better results.

Recommendations: Clinical trials should be designed to assess the effectiveness of HPV mRNA detection tests versus other cervical cancer screening strategies in different clinical applications.

1. INTRODUCCIÓN

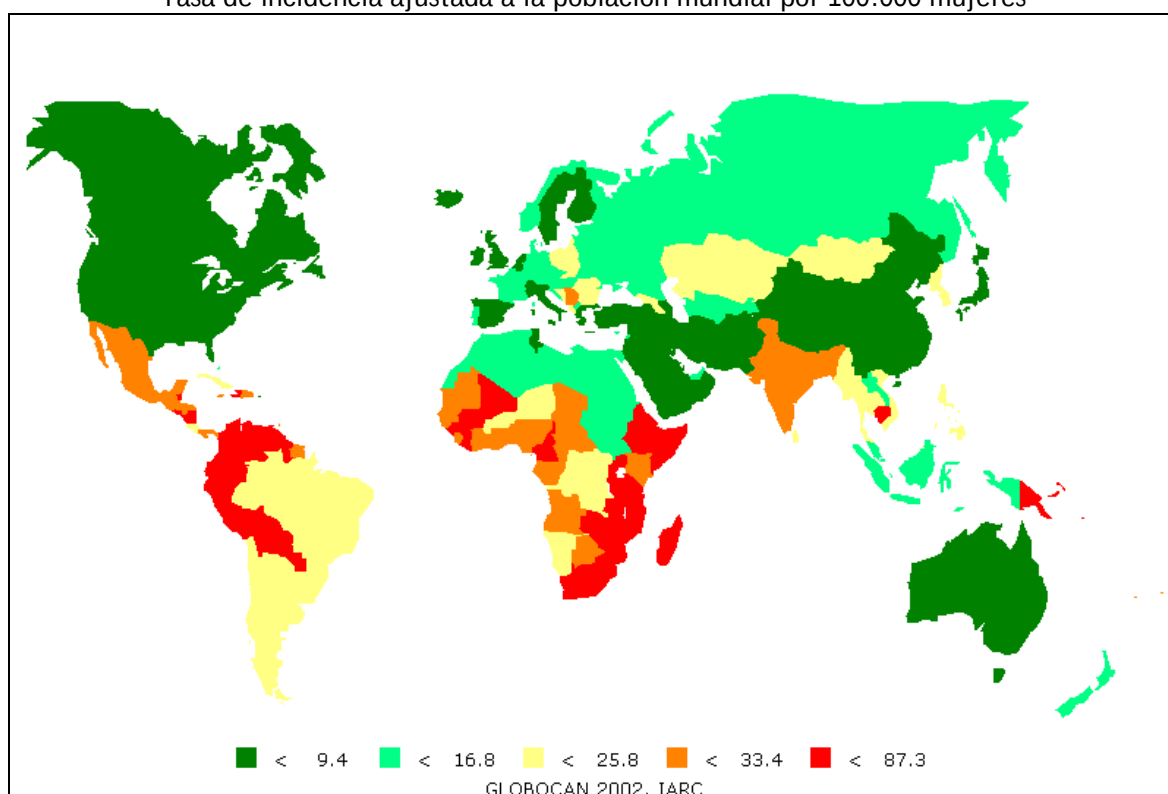
1.1. Epidemiología del cáncer de cérvix

1.1.1. Incidencia

A nivel mundial, el cáncer de cérvix es, después del cáncer de mama, el más frecuente entre las mujeres. Cada año se diagnostican aproximadamente unos 500.000 nuevos casos de cáncer de cérvix, aunque la mayor parte de ellos en países en vías de desarrollo (1). En Europa, la incidencia media es relativamente baja (menos de 15 casos por cada 100.000 mujeres) en comparación con la observada en un gran número de países de África, Sur América y Asia, donde se superan los 30 casos por cada 100.000 mujeres (tasas estandarizadas a la población mundial) (figura 1).

Figura 1. Mapa de la distribución mundial del cáncer de cérvix.

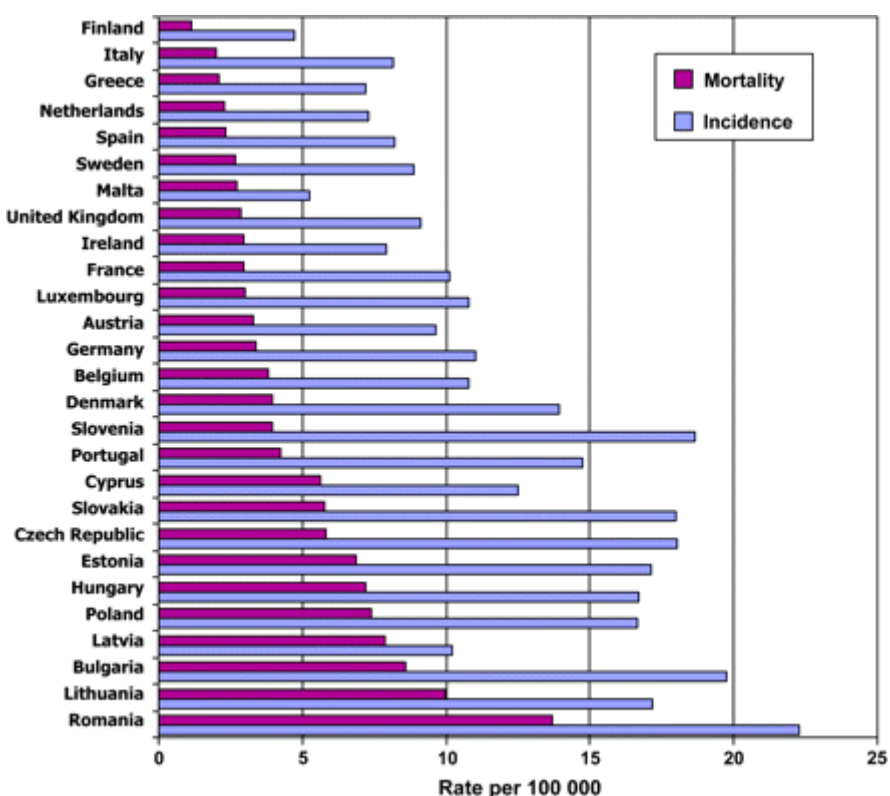
Tasa de incidencia ajustada a la población mundial por 100.000 mujeres



En Europa las tasas de incidencia son muy variables entre los distintos países y oscilan entre los 4,7 casos/100.000 mujeres en Finlandia y los 27,4 casos/100.000 mujeres en Serbia y Montenegro (1, 2). Engeneral, las tasas más elevadas se observan en los países del Sur y Este de Europa, Serbia y Montenegro, Bosnia, Albania, Rumanía y Bulgaria son los países con mayores tasas de incidencia. En cambio, las tasas más bajas se encuentran en los países del Norte.

En España la tasa de incidencia estimada en el 2004 era de 8,2 casos por cada 100.000 mujeres, lo que sitúa a nuestro país entre los de menor incidencia de la Unión Europea (UE), después de Finlandia, Malta, Grecia, Holanda e Irlanda (2). (Figura 2).

Figura 2. Tasas ajustadas de incidencia y mortalidad de cáncer de cérvix en los 27 Estados miembros de la UE (tasa ajustada a la población mundial por 100.000 mujeres)



1.1.2. Mortalidad

El cáncer de cérvix es responsable de alrededor de 280.000 muertes en el mundo. Aproximadamente, el 85% de ellas se produce en países en vías de

desarrollo. En la UE se estima que este tumor fue responsable de 16.200 muertes en el 2004 (3). España se encuentra entre los países europeos con menores tasas de mortalidad, con alrededor de 598 muertes en el 2006 (4). La tasa ajustada de mortalidad fue de 1,54 muertes/100.000 mujeres (tasa estandarizada por la población mundial).

Melilla es una de las ciudades autónomas con mayores tasas de mortalidad (7,11 muertes/100.000 mujeres). A continuación, le siguen las comunidades autónomas (CCAA) de Canarias, Asturias, Baleares y Galicia, con tasas alrededor de 3 muertes/100.000 habitantes en el período 1996-2000 (4).

Durante las dos décadas anteriores, la mortalidad por cáncer de cérvix disminuyó en la mayor parte de los países de la UE. No obstante, en los países del Este experimentó un descenso mucho menos acentuado, e incluso se incrementó en países como Bulgaria, Letonia, Lituania y Rumanía. En España la mortalidad disminuyó significativamente durante el período 1976-2002 (Porcentaje de cambio anual = -4,9% IC95% -6,2 a -3,6) (5).

1.1.3. Supervivencia

Las tasas de supervivencia presentan importantes diferencias en el mundo. En Estados Unidos la supervivencia a los 5 años se sitúa en torno al 72% (6), en Europa en el 63% (7) y en África únicamente el 30,5% sobrevive a los 5 años (8).

En Europa la supervivencia es significativamente mayor en los países del Norte y notablemente inferior en Polonia, Portugal y España (7). Un análisis de los datos recuperados a través de 49 registros europeos durante el período de 1988 a 1999 muestra que la supervivencia a este tumor ha mejorado ligeramente en toda Europa. Globalmente, la supervivencia a los 5 años aumentó en este período desde el 64,8% hasta el 66,1%, aunque durante los últimos años se observó una ligera disminución ocasionada por el incremento del riesgo en las mujeres mayores (9).

1.2. Causas y factores de riesgo

En la actualidad se reconoce que la infección persistente por el virus del papiloma humano (HPV) es el agente causal del cáncer de cérvix. Se han descrito

más de 120 genotipos diferentes de HPV y alrededor de 40 infectan el tracto genital (10). Estos han sido clasificados de alto a bajo riesgo, dependiendo del potencial oncógeno. Entre los genotipos de alto riesgo destacan los HPV 16 y 18 por ser los que se encuentran con mayor frecuencia en los tumores; aunque también se ha hallado una clara asociación con otros 13 genotipos (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58, 59, 68, 73 y 82) (11). En España el HPV 16 es el tipo más prevalente en los tumores de cérvix (64,5%), seguido por el HPV 33 (6,1%), el HPV 18 (5,8%), el HPV 31 (3,6%) y el HPV 45 (3,5%). La distribución es bastante similar en las distintas provincias (12).

Los HPV son causa necesaria pero no suficiente para el cáncer de cérvix. Se estima que el 80% de la población mundial sufrirá un episodio de HPV a lo largo de su vida (13). Sin embargo, la mayor parte de estas infecciones no evolucionarán en cáncer. Existen muchos otros factores de riesgo que pueden influir en el proceso de la carcinogénesis. Estos pueden dividirse en tres grupos: factores exógenos o ambientales, factores virales y factores endógenos. Los principales factores exógenos son (14):

- Alta paridad: el riesgo de cáncer de cérvix aumenta con el número de embarazos llevados a término (RR=1,1 IC95% 1,08-1,1 por cada embarazo adicional) y con la menor edad en el momento del primer embarazo llevado a término (RR=1,07 IC95% 1,06-1,09 por cada año menos).
- Hábito tabáquico: el riesgo es superior en las mujeres fumadoras y aumenta con el número de cigarrillos consumidos al día (RR=1,98 IC95% 1,78-2,21 por cada incremento en 15 cigarrillos/día).
- Anticonceptivos hormonales: el riesgo aumenta con la duración del uso de los anticonceptivos y se asocia a un incremento de aproximadamente el doble a los 10 años de su utilización, comparado con las mujeres que nunca habían empleado anticonceptivos orales.

- Otros agentes de transmisión sexual: la coinfección con el herpes virus tipo 2, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la *chlamydia trachomatis* también se asocian con el cáncer de cérvix.

1.3. Cribado del cáncer de cuello de útero

1.3.1. Aspectos generales de los programas de cribado

Los programas de cribado son una estrategia de prevención en la que se aplica una prueba a personas asintomáticas para clasificarlas según su probabilidad de padecer una enfermedad. El objetivo de los programas de cribado es reducir la mortalidad e incidencia del cáncer a través del diagnóstico y tratamiento precoz.

Los 10 principios básicos para la puesta en marcha de un programa de cribado fueron desarrollados por Wilson y Junger en 1968. Desde entonces han sido ampliados y actualmente se consideran hasta 23 principios básicos que pueden clasificarse en 4 grupos (15-17):

- Criterios relacionados con la enfermedad: constituir un problema de salud importante, con una historia natural conocida, criterios diagnósticos bien establecidos y tratamiento en la fase precoz más efectivo que al realizar el diagnóstico habitual.
- Criterios relacionados con la prueba de cribado: segura, fiable, válida, aceptable para la población, con un coste asumible.
- Condiciones relacionadas con el tratamiento: eficaz, efectivo, factible, con rendimiento medible y con una adecuada relación entre el beneficio y el daño.
- Programa de cribado: demostrado efectivo por ensayos clínicos aleatorios de elevada calidad, evidencia de que es clínica, social y éticamente aceptable y que el beneficio supera el daño, coste-efectivo, existencia de personal e instalaciones adecuadas para la implantación del programa, información basada en la evidencia de las consecuencias del tratamiento.

Además, para la implantación de un programa de cribado se establece que es necesario sentar unas bases en las que se especifique la población objetivo, el sistema de citación, la prueba de cribado y el modo de evaluación y seguimiento (17).

Según las Recomendaciones del Consejo Europeo, el cribado debe ofrecerse a personas sanas si se ha demostrado que disminuye la mortalidad específica de la enfermedad o la incidencia de la enfermedad en estado avanzado, si se conocen bien sus beneficios y sus riesgos, y si la relación coste-eficacia resulta aceptable. En este marco del Consejo solo se recomienda la realización del cribado en los casos de cáncer de cérvix, mama y colon. Además, se aconseja que se implanten estos programas de cribado con arreglo a las guías europeas sobre buena práctica y que se facilite el desarrollo continuado de las mejores prácticas de cribado del cáncer de alta calidad en todos los Estados miembros.

1.3.2. Cribado de cáncer de cérvix

Los programas de cribado de cáncer de cérvix organizados comenzaron a implantarse en Europa en los años 60 en Finlandia, Luxemburgo y Suecia. La citología de Papanicolau (o citología convencional) fue la primera prueba diagnóstica empleada para la detección precoz del cáncer de cérvix y sigue siendo el método de referencia en la mayor parte de los países europeos (18). La citología de Papanicolau convencional consiste en la toma, observación e interpretación de una muestra de células del cérvix extraídas en diferentes ubicaciones. Esta prueba detecta cambios inflamatorios, infecciosos o la presencia de células anormales y neoplásicas. En Europa se emplean diferentes sistemas de clasificación para la citología cervical. El sistema más utilizado es el sistema Bethesda, que recoge la calidad de la muestra y establece categorías y subcategorías según la presencia y el grado de las lesiones epiteliales (ver anexo I). En la tabla 1 se presentan las conversiones de los distintos sistemas de clasificación de lesiones histológicas.

Tabla 1. Tabla de conversión para los diferentes sistemas de clasificación citológica

Sistema clasificación	Clasificación citológica							
Sistema Bethesda	Normal	Infección, reparación reactiva	ASCUS	Lesión intraepitelial escamosa (SIL)				Carcinoma escamoso
				Grado bajo (LSIL) Incluye (HPV)		Grado alto (HSIL)		
CIN (Richart)				Condiloma	Neoplasia intraepitelial cervical (CIN)			
					CIN I	CIN II	CIN III	
OMS (Reagen)		Atipia		Displasia leve		Displasia moderada	Displasia severa	
Papanicolau	I	II		III			IV	V

A pesar de que la eficacia del cribado mediante citología no ha sido nunca probada mediante ensayos clínicos aleatorios, su efectividad ha sido claramente demostrada en múltiples estudios longitudinales. Según los resultados de la revisión sistemática publicada por la IARC (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer), los programas organizados de cribado realizados mediante la citología de Papanicolau cada 3-5 años han llevado a reducciones del 70-80% en la incidencia y la mortalidad por cáncer de cérvix en muchos países industrializados (19). Un metaanálisis reciente, que incluye 8 estudios de cribado realizados en Norte América y Europa, muestra que la sensibilidad para la detección de lesiones CIN2+ es del 52% (IC95% 48,6%-57,4%) empleando ASCUS como punto de corte para un resultado positivo. No obstante, la sensibilidad es muy variable en los diferentes estudios: oscila entre el 18,6% y el 76,7% (20).

La mayor parte de las directrices internacionales, en las que se incluyen la Guía europea para el control de la calidad en el cribado de cáncer de cérvix (21) y la Guía de la Sociedad Americana del Cáncer (22), recomiendan la citología de Papanicolau como prueba primaria para el cribado de cáncer de cérvix. La Guía europea, de acuerdo con las recomendaciones del Consejo Europeo, establece que la prueba de cribado debe empezar, a más tardar, a los 30 años, y nunca antes de los 20. Además, debe realizarse a intervalos de entre 3 y 5 años hasta los 60-65 años de edad. La Guía de la Sociedad Americana del Cáncer recomienda empezar cuando comiencen las relaciones sexuales o a los 21 años, con un intervalo de 3 años.

A pesar de aconsejar la citología de Papanicolau como prueba de cribado, las diferentes guías ponen de manifiesto que la citología es una técnica poco reproducible, poco sensible para diagnosticar lesiones CIN1+ y que presenta una gran variabilidad en la sensibilidad en el caso de lesiones de alto grado CIN2+.

Actualmente, en algunos países como el Reino Unido, la citología líquida ya ha reemplazado a la citología convencional en los programas organizados de cribado (18). Aunque la sensibilidad y especificidad de la citología líquida parece ser similar a la de la citología convencional, el porcentaje de muestras insatisfactorias es generalmente inferior y la interpretación requiere un menor tiempo (21). En España, la citología de Papanicolau es la técnica de referencia en todas las CCAA. No obstante, en algunas se combina con la citología en fase líquida (23).

1.3.3. Virus del papiloma humano

El conocimiento de la existencia de una asociación causal del HPV con el cáncer de cérvix ha motivado el desarrollo de varias técnicas moleculares basadas en métodos de amplificación o hibridación de DNA. Las pruebas de detección de HPV DNA presentan un gran interés para el cribado de cáncer de cérvix, ya que permiten identificar las mujeres con un elevado riesgo de padecer esta enfermedad. Sin embargo, presentan el inconveniente de que detectan la totalidad de mujeres infectadas por HPV y no diferencian entre las infecciones transitorias y las que tienen potencial para transformar las células en malignas.

Existen diversas pruebas para la determinación de HPV DNA. Las más utilizadas son la captura híbrida 2 (HC2) y los sistemas basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La HC2 es una prueba que detecta 13 genotipos de alto riesgo. Utiliza sondas de RNA que, al reaccionar con el DNA, originan moléculas híbridas que son captadas por anticuerpos marcados con fosfatasa alcalina. Esta enzima produce una luminosidad determinada que se expresa en unidades relativas de luz. Las pruebas basadas en la PCR tienen en común que son métodos de amplificación de DNA molecular pero difieren sustancialmente en los cebadores utilizados y el número de pares del fragmento amplificado. Existen una serie de cebadores de consenso (GP5+/GP6+, MY09/11, SPF10) y algunos kits

comercializados (Amplicor[®], Linear Arrays[®], Clinical Arrays[®]). El kit Amplicor permite detectar 13 genotipos de alto riesgo; y los dos últimos, 34 genotipos de alto riesgo. En la actualidad el único aprobado por la FDA para el cribado de cáncer de cérvix es el HC2.

Tanto la Guía Europea para el control de la calidad en el cribado de cáncer de cérvix del 2008 (21) como la revisión sistemática del proyecto español DESCRIC del 2007 (24), concluyen que las pruebas de detección de HPV muestran un gran potencial para mejorar la efectividad del cribado y reducir el número de episodios de este, aunque recomiendan la realización de más estudios longitudinales antes de proponer esta técnica como método de cribado primario. Diversas investigaciones recogidas en estos documentos han mostrado que los sistemas de detección de DNA HPV presentan una sensibilidad superior a la citología líquida para detectar lesiones CIN2, CIN3 o cáncer, pero que la especificidad es baja. En la Guía europea las pruebas de detección HPV se aconsejan únicamente como primera prueba de elección para el *triaje* de resultados ASCUS. No obstante, la guía concluye que estas recomendaciones podrían cambiar cuando se disponga de los resultados de los ensayos clínicos en marcha. De recomendar las pruebas de HPV como prueba primaria de cribado, se deberán definir previamente el grupo de edad, el intervalo de cribado y los elementos básicos, para asegurar la calidad de la implementación del programa. En la Guía de la Sociedad Americana del Cáncer, las pruebas de detección de HPV DNA en combinación con la citología se proponen como una alternativa para el cribado en mujeres mayores de 30 años que hayan obtenido resultados negativos en las 3 anteriores citologías (22).

Desde la aparición de la Guía europea se han publicado algunos de los resultados de los grandes ensayos europeos que estaban en marcha y se han actualizado las revisiones sistemáticas y los metaanálisis patrocinados por la Comisión Europea (CE) y por el grupo Cochrane de Revisión de Cáncer Ginecológico para evaluar las 4 posibles aplicaciones clínicas de los métodos de detección HPV (HC2 y PCR) (25): 1) *triaje* de mujeres con resultados indeterminados o lesiones intraepiteliales de bajo grado, 2) seguimiento de mujeres con resultados citológicos anormales pero con resultados negativos en la colposcopia/biopsia, 3)

predicción de la respuesta terapéutica después del tratamiento de la neoplasia y 4) utilización como método primario de cribado, solo o en combinación con la citología de Papanicolaou.

Los resultados de la actualización de los 4 metaanálisis llevados a cabo para evaluar el rendimiento diagnóstico de las pruebas de detección de HPV DNA en las distintas aplicaciones clínicas se muestran en la tabla 2. En general, se encontró que los resultados fueron muy heterogéneos aún después de estratificar mediante el método de determinación (HC2 o PCR). El metaanálisis de los estudios que compararon los resultados de las pruebas de detección de HPV DNA con los de la citología (6 ensayos clínicos aleatorios) mostró que las pruebas de HPV DNA tienen una mayor sensibilidad que la citología. Por ese motivo, los autores la proponen como prueba de elección para el cribado primario de cáncer de cérvix, reservando la citología para el *triaje* de las mujeres con resultados positivos. El cribado primario que emplea la captura híbrida 2 (HC2) generalmente detecta más del 90% de las lesiones CIN2, CIN3 o casos de cáncer. Además, es aproximadamente un 25% más sensible que la citología (IC95% 15-36), aunque un 6% menos específico (IC95%: 4-7%) (25).

Tabla 2. Resultados de los metaanálisis llevados a cabo para evaluar las 4 posibles aplicaciones clínicas de los métodos de detección de HPV (HC2 y PCR) (25)

Aplicación	Prueba	Resultado	Nº estudios*	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)
Triaje ASCUS	HC2	CIN2+	22	93,1 (91,1-95,1)	62,3 (57,6-67,1)
		CIN3+	9	95,5 (92,7-98,2)	60,5 (52,9-68,2)
Triaje LSIL	HC2	CIN2+	11	97,2 (95,6-98,8)	30,6 (22,7-38,6)
		CIN3+	6	97,1 (94,0-100)	26,1 (15,1-37,1)
Predicción del fracaso del tratamiento	HC2/PCR	Recurrencia	16	94,4 (90,9-97,9)	75,0 (68,7-81,4)
	HC2	CIN2+	19	89,7 (86,4-93,0)	88,2 (86,2-90,1)
		CIN3+	10/9	90,3 (85,3-95,4)	90,6 (88,7-92,6)
Cribado primario	PCR	CIN2+	7	84,2 (77,0-91,5)	95,1 (93,4-96,8)
	HC2 y citología	CIN2+	8 ^a	99,4 (97,9-100)	88,2 (85,8-90,5)

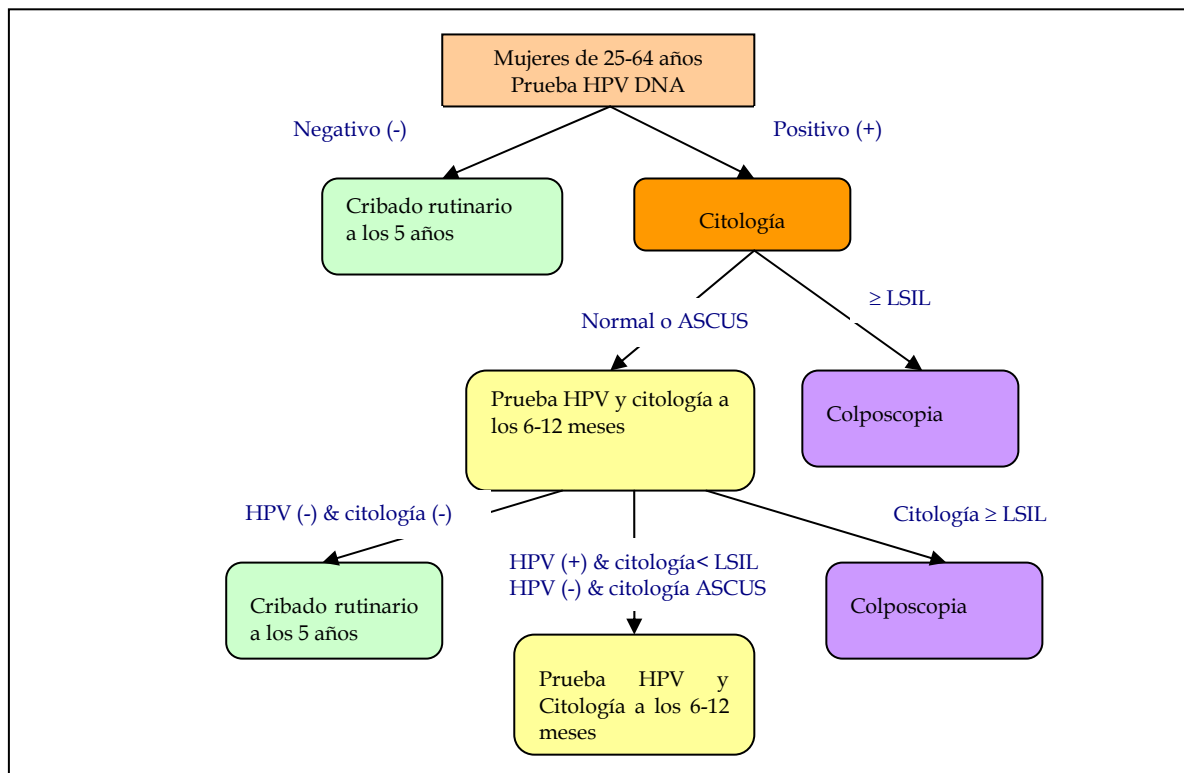
* Número de estudios incluidos en el metaanálisis

^a Exclusión de estudios realizados en la India y Zimbabwe

En función de los resultados de los estudios incluidos en los anteriores metaanálisis, los autores proponen un posible algoritmo diagnóstico (figura 1), pero consideran que puede ser necesario modificarlo para adaptarlo al marco local o a los resultados de otros nuevos métodos de detección de HPV (tipado

HPV16 y HPV18, mRNA, detección de la sobreexpresión del gen supresor de tumores p16^{INK4a} [CINtec p16^{INK4a}]). Existe la posibilidad de que los protocolos también puedan variar tras los resultados de los ensayos clínicos que están en marcha para evaluar la efectividad de la vacuna del *papillomavirus*. No obstante, en la actualidad el cribado se recomienda tanto en mujeres vacunadas como no vacunadas.

Figura 3. Algoritmo diagnóstico propuesto por el grupo de Cuzick et al (25)



1.3.4. Nuevos métodos de detección HPV

En la actualidad están en marcha diversas estrategias para identificar las mujeres HPV-DNA positivas que realmente tienen un alto riesgo de sufrir transformaciones carcinogénicas y desarrollar un tumor invasivo. Entre las más investigadas, destacan:

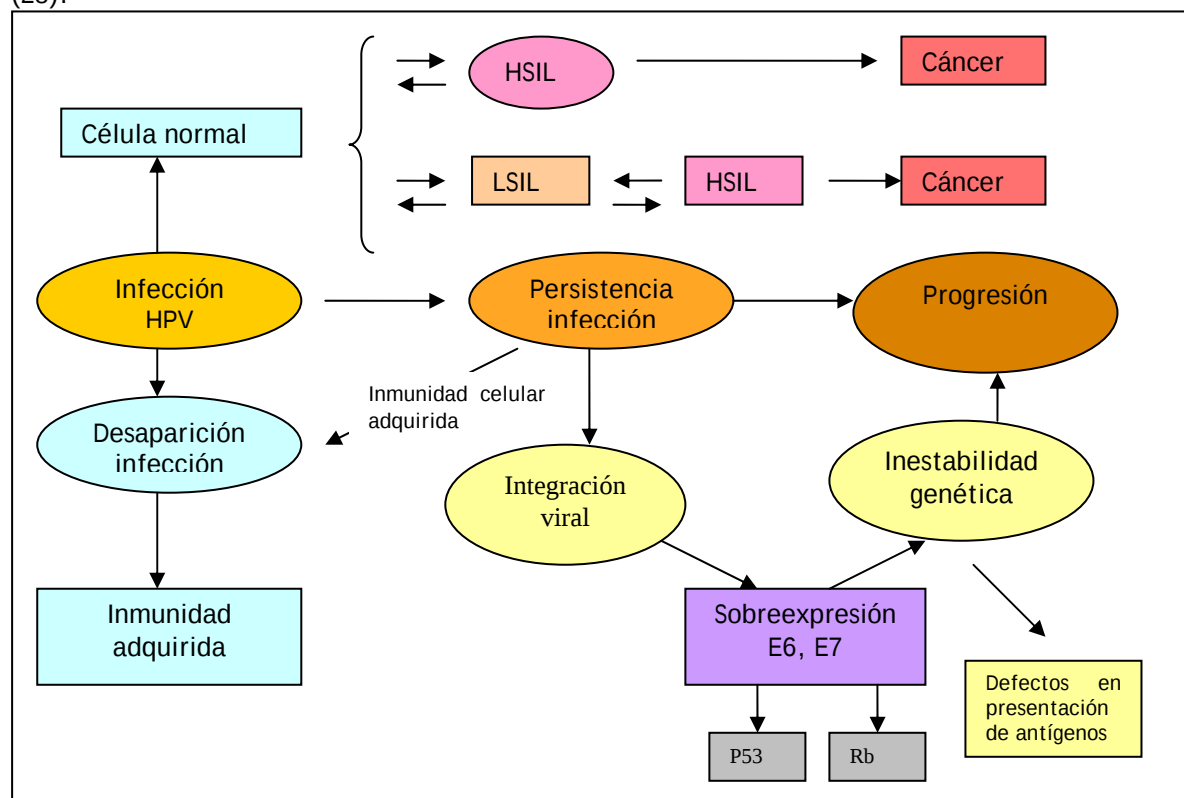
- *Análisis del HPV E6/E7 mRNA*
- *Tipado y subtipado para identificar los genotipos 16 y 18*
- *Análisis de la integración del genoma viral*

- Análisis de la expresión del gen supresor de tumores $p16^{INK4a}$ (CINtec $p16^{INK4a}$)

1.3.4.1. Análisis del HPV E6/E7 mRNA

La transcripción de los genes E6 y E7 de los genotipos HPV de alto riesgo y la producción de oncogenes funcionales E6 y E7 se reconocen como un paso necesario para la conversión de las células en malignas. Los oncogenes E6/E7 están presentes en la práctica totalidad de los carcinomas de cérvix (26, 27) y se los reconoce como responsables de la iniciación y la evolución en tumores invasivos. Estos oncogenes ocasionan la degradación de las proteínas supresoras de tumores p53 y Rb (gen de la retinoblastoma) e interfieren en la regulación del ciclo celular. En la figura 4 se ilustra la implicación de los oncogenes E6/E7 mRNA en la inducción del cáncer de cérvix mediante HPV (28).

Figura 4. Mecanismos de inducción de la carcinogénesis mediante HPV (28).



✓ Métodos de detección de HPV E6/E7 mRNA

Inicialmente la detección de HPV E6/E7 mRNA se realizaba mediante métodos de transcripción reversa de la PCR (RT-PCR) no validados. Estos eran poco

reproducibles ya que diferían en los cebadores, la naturaleza de los transcritos identificados, las condiciones de amplificación, etc. En la actualidad existen al menos 4 métodos de detección comercializados:

1. *PreTec HPV Proofer (Norchip)*

Es una prueba de detección molecular para los 5 genotipos más frecuentes en el cáncer de cérvix (HPV 16, 18, 31, 33 y 45). Se trata de una técnica cualitativa basada en la amplificación en tiempo real de los ácidos nucleicos (NASBA), y está diseñada para ser compatible con la muestra para citología líquida. Además, presenta un control interno y dispone de autorización para su comercialización en Europa (marcado CE).

2. *APTIMA HPV Assay® (GenProbe)*

Es también una técnica cualitativa pero está basada en la detección de 14 genotipos de HPV. Asimismo, es compatible con la muestra para citología y presenta un control interno. Esta prueba fue aprobada para su comercialización en Europa en mayo del 2008.

3. *NucliSENS EasyQ® HPV*

La prueba NucliSENS EasyQ® HPV permite la detección directa de la expresión de los factores de riesgo oncogénicos E6 y E7 de los 5 tipos de HPV más frecuentes. Es una técnica de amplificación en tiempo real y presenta marcado CE.

4. *HPV OncoTect® (Labco)*

El HPV OncoTect® es un método que emplea la técnica de hibridación *in situ*, que permite cuantificar la expresión de los oncogenes E6 y E7. Usa sondas marcadas con fluoresceína (FISH), el análisis de la hibridación se realiza mediante la citometría de flujo y cubre todos los tipos de virus oncógenos. Actualmente no dispone de marcado CE.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos principales

- Evaluar la efectividad de los métodos de detección de HPV E6/E7 mRNA en el cribado de cáncer de cérvix.

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar la efectividad de los métodos de detección de HPV E6/E7 mRNA en diferentes aplicaciones clínicas: 1) utilización como método primario de cribado, 2) *triaje* de mujeres con resultados indeterminados o lesiones intraepiteliales de bajo grado y 3) *triaje* de mujeres con resultados positivos en las pruebas de HPV DNA.

3. MÉTODOS

3.1. Búsqueda bibliográfica

Para intentar dar una respuesta a los objetivos de esta revisión sistemática, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica en julio de 2009 de los artículos publicados en las siguientes bases de datos bibliográficas:

Bases de datos especializadas en Revisiones Sistemáticas: HTA (Health Technology Assessment), DARE (Database of Abstracts of Reviews of Effectiveness), NHS EED (Economic Evaluation Database del National Health Service) o la Biblioteca Cochrane Plus.

Bases de datos generales: Medline (PubMed), Embase (Ovid) y Web of Knowledge (WoK).

Con la finalidad de identificar proyectos de investigación en marcha se revisaron las bases de datos del Instituto Nacional de Salud de EEUU (ClinicalTrials.gov), de la Organización Mundial de la Salud (International Clinical Trials Registry Platform Research Portal) y los registros de la CCT (Current Controlled Trials).

Se elaboraron estrategias de búsqueda concretas para cada base de datos. La estrategia de búsqueda incluía, entre otros, los términos “Uterine Cervical Neoplasms”, “E6/E7 mRNA” y “E6, E7 mRNA”. En el Anexo B figuran las estrategias de búsqueda utilizadas en cada una de las bases de datos.

Todo este proceso se completó mediante una búsqueda general en Internet (organizaciones, sociedades científicas...), con el fin de explorar otra información de interés, y una revisión manual de la bibliografía de los artículos seleccionados.

3.2. Selección de los estudios

Tras la lectura de los resúmenes de los artículos resultantes de la búsqueda, se procedió a la selección de los estudios potencialmente relevantes. Estos artículos fueron seleccionados con base en unos criterios de inclusión/exclusión previamente establecidos y leídos a texto completo para valorar su inclusión

definitiva en la revisión sistemática. Los criterios de selección se detallan a continuación.

3.2.1. Según el tipo de publicación

Criterios de inclusión: revisiones sistemáticas, metaanálisis, ensayos clínicos, estudios de cohortes, estudios de casos y controles, estudios transversales y series de casos.

Criterios de exclusión: revisiones narrativas, cartas al director, editoriales, comentarios, estudios con un solo caso y comunicaciones a congresos.

3.2.2. Según la población

Criterios de inclusión: mujeres de la población general asintomáticas que son sometidas a un cribado (rutinario u oportunista).

Criterios de exclusión: mujeres con síntomas o mujeres procedentes de una población de riesgo.

3.2.3. Según el tipo de intervención

Criterios de inclusión: estudios que evalúan los diferentes métodos de detección de HPV mRNA.

Criterios de exclusión: estudios que evalúan otros métodos de detección diferentes o pruebas que no sean de cribado.

3.2.4. Según la medición de resultados

Criterios de inclusión: estudios que evalúan la efectividad de las pruebas de HPV mRNA (S, E, VPP, VPN) en el cribado de cáncer de cérvix, empleando la colposcopia o la biopsia como prueba de referencia, en al menos las muestras positivas. También ensayos que estudian la efectividad para identificar la persistencia/regresión de las lesiones citológicas.

Criterios de exclusión: estudios que evalúan únicamente la frecuencia de aparición de los oncogenes en mujeres que presentan cáncer de cérvix o mujeres que presentan infecciones por *papillomavirus*.

3.2.5. Según el idioma

Criterios de inclusión: estudios en castellano, francés e inglés.

3.3. Extracción de datos y síntesis de información

Los datos de los estudios incluidos en la búsqueda primaria se compilaron en tablas de evidencia. Estas fueron diseñadas para cubrir todos los aspectos relevantes relacionados con las características generales de los estudios, de los pacientes y de la técnica (anexo C).

3.4. Evaluación de la calidad

La calidad de los estudios fue evaluada utilizando la herramienta QUADAS (29, 30). Esta consiste en una lista de comprobación de 14 ítems cuantitativos, que deberán ser puntuados como “sí”, “no”, “no está claro”. De estos ítems, 9 hacen referencia a aspectos relacionados con los posibles sesgos, 2 aluden a la variabilidad y 3 a la presentación de resultados.

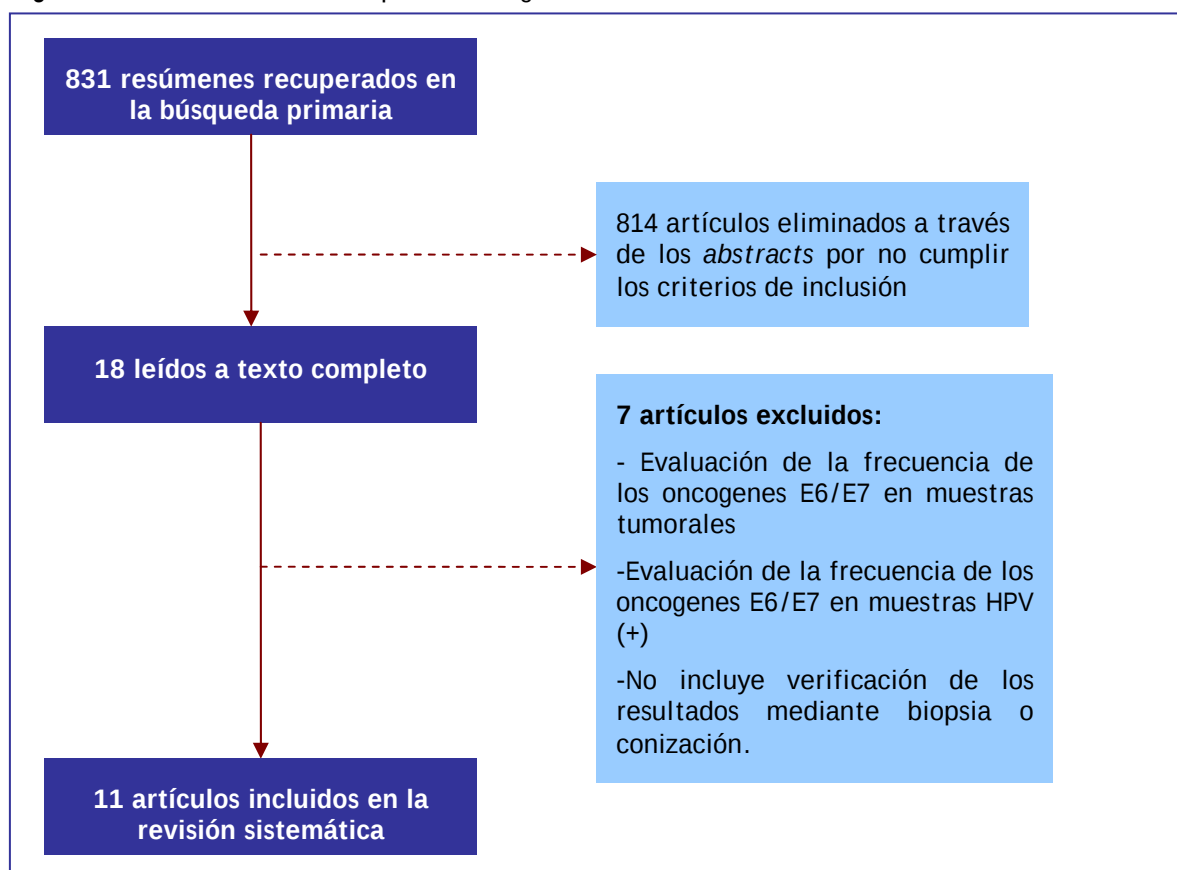
4. RESULTADOS

4.1. Resultados de la búsqueda bibliográfica

Después de eliminar duplicados, la búsqueda primaria en las bases de datos de la literatura biomédica proporcionó un total de 831 referencias bibliográficas. Tras la lectura de los resúmenes se seleccionaron 18 artículos para que fuesen leídos a texto completo. De estos, 11 cumplieron los criterios de selección previamente establecidos. Además, han sido publicados a partir del 2004 y proceden en la práctica totalidad de países europeos: Noruega (4), Reino Unido (3), Hungría (1), Suecia (1) y Alemania (1). Se recuperó también un artículo procedente de Estados Unidos.

En la figura 5 se detalla el proceso de selección de los artículos. La relación de los que han sido excluidos tras la lectura a texto completo y las causas de exclusión se recogen en el anexo D.

Figura 5. Resultados de la búsqueda bibliográfica



4.2. Resultados de los estudios

De los 11 estudios recuperados en la revisión sistemática, 9 evaluaron la efectividad diagnóstica del HPV mRNA para detectar lesiones histológicas CIN2+/CIN3+ y los otros 2 investigaron la efectividad para evaluar la progresión citológica de las lesiones. A su vez, otro ensayo evaluó ambos aspectos. Todos los estudios que evaluaron la efectividad diagnóstica fueron de carácter transversal, mientras que los 2 ensayos que evaluaron la efectividad pronóstica fueron de carácter longitudinal.

Los estudios que evaluaron la efectividad diagnóstica de los métodos de detección de E6/E7 mRNA lo hicieron para 3 aplicaciones clínicas diferentes: 1) método primario de cribado (solo o en combinación con la citología), 2) *triaje* de mujeres con resultados positivos en la prueba de HPV DNA, 3) *triaje* de mujeres con citologías anormales. A continuación se detallan los resultados de estos estudios según las diferentes aplicaciones clínicas.

4.2.1. Utilización como método primario de cribado

La revisión sistemática identificó 4 estudios transversales que investigaron la validez diagnóstica de las pruebas de detección de HPV mRNA en muestras cervicales procedentes de mujeres evaluadas mediante citología líquida o convencional (31-34). El método PreTec HPV Proofer fue empleado como método de detección en 3 de los 4 estudios, y se compararon los resultados con los obtenidos mediante diferentes pruebas de HPV DNA (31, 32, 34). Solo uno de los estudios utilizó el APTIMA HPV Assay (GenProbe) para la determinación de HPV mRNA (33). Los principales resultados de los ensayos se describen en la tabla 3.

El estudio de Molden et al incluyó 4.154 mujeres mayores de 30 años procedentes de una población general cribada en Noruega (31) y llevó a cabo un seguimiento histológico de 25 mujeres con citologías HSIL. La S, calculada en función de los resultados obtenidos en estas mujeres, fue del 85,7% para la prueba HPV mRNA (PreTec HPV Proofer) y del 92,9% para la prueba HPV DNA (GP5+/GP6+). La E fue del 88,9% y 66,7%, respectivamente.

La investigación de Keegan et al (34) se llevó a cabo en 299 muestras citológicas obtenidas de una clínica en Dublín. Utilizando los resultados histológicos de las mujeres que presentaron citologías de alto grado (HSIL), la S para detectar lesiones histológicas CIN2+ fue del 74,5% con el método PreTec HPV Proofer y del 100% con la prueba de HPV DNA (HC2).

Tropé et al incluyeron 764 mujeres con resultados normales en la citología y 655 mujeres con confirmación histológica de neoplasia cervical intraepitelial (32). Según los resultados presentados, el PreTec HPV Proofer fue positivo en el 50,4% de las mujeres CIN2, 67,5% de las mujeres CIN3/ACIS y en el 76,9% de las mujeres con carcinomas invasivos. El test HPV DNA (Amplicor) fue positivo en el 95,6% de las mujeres con histología CIN2, 97% de las CIN3 y 84,6% de los casos de tumores invasivos. La sensibilidad global estimada para estas pruebas en este estudio fue del 64,1% y del 96,4%, respectivamente. La especificidad fue ligeramente superior con el PreTec HPV proofer (96,7 *versus* 91,7).

Castle et al (33) evaluaron 540 muestras de mujeres que participaron en un cribado rutinario en el Sur de Carolina. Según los resultados de este estudio, la prueba Aptima fue positiva en un 40% de las mujeres sin lesiones histológicas/sin biopsia, 70% de las CIN1, 90% de las CIN2, 94% de las CIN3 y en el 100% con cáncer cuando se empleó un punto de corte de 125.000. La S y la E para la prueba Aptima calculadas en función de estos valores fueron del 92,3% y 53,9%. Con un punto de corte superior (175.000 RLU) se observó una disminución significativa de los positivos en mujeres sin lesiones/sin biopsia (40% *versus* 34%) y en mujeres con lesiones histológicas CIN1 (70% *versus* 60%). El grado de concordancia entre la prueba de HPV mRNA (Aptima) y la prueba de HPV DNA (HC2), calculada en un subgrupo de 85 mujeres, fue del 89%. El porcentaje de positivos en mujeres sin lesiones o mujeres CIN1 fue inferior con la prueba Aptima que con la prueba HC2 ($P<0,05$).

De forma global, la concordancia entre la prueba de detección de HPV mRNA (PreTec HPV Proofer) y la citología convencional fue alta para mujeres con citologías normales y citologías de alto grado, y baja para lesiones de bajo grado (ASCUS/LSIL) (31, 34).

Tabla 3. Resultados diagnósticos de los estudios que evalúan la efectividad de las pruebas de HPV mRNA como método primario de cribado

Autor	Aplicación	N	Resultado	Detección HPV		Validez diagnóstica		
				Tipo	Método	S	E	VPP
Tropé ¹ et al (32)	Combinación con citología	1.419	CIN2+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	64%	97%	
				HPV DNA	Linear Array	98%		
					Amplicor	96%	92%	
Keegan et al (34)	Combinación con citología	299	CIN2+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	74%	93%	
				HPV DNA	Captura híbrida	100%	88%	
Molden et al (31)	Combinación con citología/lesiones HSIL	25	CIN2+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	86%	89%	92%
				HPV DNA	GP5+/GP6+	93%	67%	67%
Castle et al (33)	Combinación con citología	540	CIN3+	HPV mRNA	Aptima	92%	54%	33%

4.2.2. Triage de mujeres con citologías anormales

Se recuperaron 4 estudios de carácter transversal que evaluaron la utilidad de la prueba HPV mRNA en el *triaje* de mujeres con resultados positivos en la citología rutinaria (35-38). Todos emplearon el PreTec HPV Proofer como único método de determinación del HPV mRNA, exceptuando el estudio de Szarewski et al (36) que evaluó también el Aptima test (GenProbe). Los resultados fueron comparados con los obtenidos mediante distintos métodos de HPV DNA y otras pruebas de cribado (tabla 2).

En el ensayo de Szarewski et al (36), la población de estudio comprendió 953 mujeres con resultados citológicos anormales que fueron remitidas a colposcopia en una clínica de Londres. El estudio comparó 9 pruebas de cribado, entre ellas dos pruebas de HPV mRNA (PreTec HPV Proofer y Aptima), 2 pruebas de detección de HPV DNA (HC2 y Amplicor y Aptima), 2 pruebas de genotipado de HPV DNA (Linear Array y Clinical Array) y una prueba de detección del gen supresor de tumores p16^{INK4a} (CINtec p16^{INK4a}) (tabla 4). De estas pruebas, 4 mostraron una sensibilidad superior al 95% para diagnosticar lesiones histológicas CIN+3: citología líquida de repetición, captura híbrida, Amplicor, Aptima y Linear Array. De ellas, la prueba Aptima fue la que mostró la mayor especificidad (39%). De forma global, la mayor especificidad se consiguió con el método PreTec HPV Proofer y el CINtec p16^{INK4a}. El Amplicor mostró una especificidad en torno al 20%. Los resultados fueron similares cuando el estudio se restringió a mujeres con citologías de bajo grado.

Andersson et al (37) incluyeron 80 mujeres consecutivas con citologías anormales procedentes de una población general cribada en Estocolmo. Empleando la biopsia como método de diagnóstico, se encontró que el 14% de las mujeres sanas presentaban expresión E6/E7 mRNA (PreTec HPV Proofer). El 18% de las mujeres con lesiones histológicas CIN2+ y el 59% de las mujeres con lesiones histológicas CIN3+ dieron positivo en la prueba PreTec HPV Proofer. Empleando la PCR entiendo real para la determinación de HPV DNA, el porcentaje de positivos fue del 71% en mujeres sanas, del 65% en mujeres CIN2+ y del 74% en mujeres CIN3+. El antígeno p16^{INK4a} se expresó en el 17% de las mujeres sanas y en el 87% de las mujeres CIN3+. Los valores de la S y la E calculados en función de estos valores se muestran en la tabla 4.

La investigación de Lie et al (35) se basó en 383 mujeres remitidas a colposcopia o conización como consecuencia de una citología anormal. La prueba PreTec HPV Proofer fue positiva en el 22% de las mujeres con histología < CIN2 y en el 77% de mujeres con histología CIN2+ (S=77%, E=78%). La prueba HPV DNA (HC2) fue positiva en el 64% de las mujeres sanas y el 94% de las mujeres CIN2+ (S=94%, E=35%). El grado de concordancia entre las dos pruebas fue del 72%.

En el estudio de Molden et al (38), la población comprendió exclusivamente mujeres con diagnóstico LSIL/ASCUS. La sensibilidad para la detección de lesiones CIN2+ en mujeres con citologías ASCUS/LSIL fue la misma para ambas pruebas (85,7%). La especificidad fue superior para la prueba de HPV mRNA que para la prueba de HPV DNA (84,9% *versus* 50%).

Tabla 4. Resultados diagnósticos de los estudios que evalúan la efectividad de las pruebas de HPV mRNA en el *triaje* de mujeres con citologías anormales

Autor	Aplicación	N	Resultado	Prueba de cribado		Validez diagnóstica		
				Tipo	Método	S	E	VPP
Szarewski et al (36)	Triaje mujeres con citologías anormales	953	CIN2+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	74%	73%	52%
					Aptima	95%	42%	40%
				HPV DNA	Captura híbrida 2	99%	28%	36%
					Amplicor	99%	22%	33%
					Linear Array	98%	33%	38%
					Clinical Arrays	81%	37%	33%
				Citología líquida	Citología primaria	93%	15%	31%
					Citología de repetición	94%	58%	47%
				CIN P16 ^{INK4a}	Inmunocitoquímica	83%	67%	52%
			CIN3+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	82%	70%	41%
					Aptima	97%	66%	42%
				HPV DNA	Captura híbrida 2	99%	25%	26%
					Amplicor	99%	20%	24%
					Linear Array	99%	30%	27%
					Clinical Arrays	84%	36%	24%
				Citología líquida	Citología primaria	93%	14%	22%
					Citología de repetición	96%	53%	34%
				CIN P16 ^{INK4a}	Inmunocitoquímica	93%	66%	42%
Andersson et al (37)	Triaje mujeres con citologías anormales	80	CIN2+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	41%	66%	59%
				HPV DNA	PCR entiendo real	70%	39%	55%
				CIN P16 ^{INK4a}	Inmunocitoquímica	75%	76%	75%
			CIN3+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	59%	71%	48%
				HPV DNA	PCR entiendo real	74%	38%	33%
				CIN P16 ^{INK4a}	Inmunocitoquímica	87%	64%	46%
Lie et al (35)	Triaje mujeres con citologías anormales	383	CIN2+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	77%	78%	92%
				HPV DNA	Captura híbrida	93%	35%	82%
Molden et al (38)	Triaje lesiones LSIL/ASCUS	77	CIN2+	HPV mRNA	PreTec HPV Proofer	86%	85%	37%
					Gp5+/Gp6+	86%	50%	15%

4.2.3. Triaje de mujeres con resultados positivos en la prueba HPV DNA

Tres estudios investigaron la detección de HPV mRNA en mujeres con resultados positivos en las pruebas de HPV DNA (39, 40). Uno de ellos, realizado por el grupo de investigación de Varnai et al (40), empleó el método PreTec HPV Proofer para la detección de HPV mRNA y los otros emplearon métodos de detección no comercializados. Este estudio incluyó 66 mujeres procedentes de una población general cribada con resultados citológicos desde normales a alto grado. La S, la E, el VPP y el VPN para la detección de lesiones CIN2+ fueron del

81%, 33%, 85% y 29%, respectivamente. Estos valores aumentaron para la detección de lesiones CIN3+: 95%, 55%, 81% y 86%.

El estudio de Cuschieri et al (41) incluyó muestras de 54 mujeres con citologías normales y con resultados HPV DNA positivos. Cuando las mujeres fueron seguidas durante dos años y se les realizó una nueva citología líquida se observó que 11 de ellas habían desarrollado anormalidades citológicas. La infección HPV DNA persistió en 23 mujeres y, de estas, 10 presentaron citologías anormales (43%). De las 43 mujeres con citologías normales después del seguimiento, 8 habían dado positivo en la expresión de los oncogenes E6/E7 (18,6%). Estos habían persistido en 11 mujeres, de las cuales 6 mostraron anormalidades citológicas en el seguimiento (55%).

Sotlar et al (39) llevaron a cabo un seguimiento prospectivo de 779 mujeres con infecciones HPV. Un análisis de la actividad transcripcional de los oncogenes E6 y E7 en las 459 mujeres que presentaron resultados citológicos e histológicos concordantes reveló la presencia de oncogenes E6/E7 en un 33,8% de las mujeres con citología normal, un 76,1% de las mujeres CIN1, un 90% de las CIN2 y un 95,3% de las CIN3. Cuando se investigó la progresión de la enfermedad en mujeres que no habían sido sometidas a cirugía (n=39), la S y la E para detectar progresión citológica de la enfermedad *versus* regresión/persistencia fue del 77,7% y 60%, respectivamente. Las 9 pacientes que experimentaron progresión de la enfermedad presentaron persistencia de la infección de HPV DNA a los 18 meses, aunque 2 fueron negativos en el HPV PreTec HPV Proofer.

Tabla 5. Resultados diagnósticos de los estudios que evalúan la efectividad diagnóstica de las pruebas de HPV mRNA en el *triaje* de mujeres HPV DNA positivas

Autor	Aplicación	N	Resultado	Detección HPV		Validez diagnóstica		
				Tipo	Método	S	E	VPP
Varnai et al (40)	Triage mujeres HPV DNA (+)	66	CIN2+	mRNA	PreTec HPV Proofer	81%	33%	85%
			CIN3+			95%	60%	81%
Sotlar et al (39)	Triage mujeres HPV (+)	1.699	CIN1+	mRNA	PRC entiempro real	66%	95%	88%

4.3. Calidad de la evidencia

Los estudios incluidos presentaron múltiples deficiencias metodológicas que afectan a la validez diagnóstica y a la aplicabilidad de los resultados. Cabe

destacar que la mayor parte de los estudios no incluyeron una muestra consecutiva de mujeres procedentes de la población general ni tampoco emplearon la prueba de referencia en toda la muestra de pacientes, sino únicamente para verificar los resultados anormales (sesgo de verificación).

En la tabla 6 se presentan las puntuaciones otorgadas a los diferentes ítems de calidad recogidos en la herramienta QUADAS para los estudios incluidos en la revisión sistemática.

Tabla 6. Puntuación otorgada a los diferentes ítems de calidad recogidos en la herramienta QUADAS (29, 30)

Ítems	Estudio									
	Tropé	Keegan	Szarewski	Varnai	Castle	Andersson	Molden	Lie	Cuschieri	Sotlar
1. ¿El espectro de pacientes es representativo de los que reciben la prueba en la práctica habitual?	X	X	X	√	√	√	√	X	X	X
2. ¿Los criterios de selección fueron descritos adecuadamente?	X	X	X	X	X	X	√	X	X	X
3. ¿La prueba de referencia clasifica correctamente la enfermedad?	√	X	√	√	√	√	√	√	X	√
4. ¿El período de tiempo entre el test y la prueba de referencia se considera adecuado para estar seguros de que no cambia el estado de la enfermedad?	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
5. ¿Se empleó la prueba de referencia en toda la muestra o en una selección aleatoria de pacientes?	X	X	√	X	√	√	X	√	X	√
6. ¿Los pacientes recibieron la misma prueba de referencia con independencia de los resultados de la prueba objeto de estudio?	X	X	√	X	√	√	X	√	X	√
7. ¿La prueba de referencia fue independiente de la prueba objeto de estudio?	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
8. ¿Se describe en suficiente detalle cómo se realizó la prueba objeto de estudio?	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
9. ¿Se describe en suficiente detalle cómo se realizó la prueba de referencia?	√	X	X	x	X	√	X	X	X	X
10. ¿Los resultados de la prueba objeto de estudio fueron interpretados sin conocimiento de los resultados de la prueba de referencia?	√	NC	√	NC	NC	NC	NC	√	NC	NC
11. ¿Los resultados de la prueba de referencia fueron interpretados sin conocimiento de los resultados de la prueba de estudio?	√	X	√	NC	√	NC	NC	√	NC	NC
12. ¿La información clínica disponible durante la interpretación de resultados sería la misma que la disponible en la práctica habitual?	NC	√	√	√	X	NC	√	NC	NC	NC
13. ¿Se documentan los resultados indeterminados/muestras no válidas?	X	X	√		X	√	√	X	√	X
14. ¿Se explican las retiradas del estudio?	X	X	√	X	X	√	X	X	√	X

√=Sí; X=No; NC= No consta/No está claro.

5. DISCUSIÓN

5.1. Discusión del método

5.1.1. Discusión de la búsqueda

La búsqueda en las bases de datos de la literatura médica fue diseñada con el fin de obtener la máxima sensibilidad al tratarse de una técnica nueva de desarrollo reciente. Se elaboraron estrategias de búsqueda poco específicas, con múltiples términos, aun a expensas de obtener un gran número de artículos no relevantes. De esta forma, existe una posibilidad mínima de haber perdido algún artículo, ya que se comprobaron manualmente todas las referencias de los estudios incluidos.

5.1.2. Discusión de los criterios de inclusión y exclusión

No se incluyeron revisiones narrativas por considerar que estas, a diferencia de las revisiones sistemáticas, no son objetivas o reproducibles. Tampoco se añadieron cartas al editor, editoriales o actas de congresos al estimar que estos estudios no proporcionan suficiente información metodológica para poder valorar la calidad del estudio.

Se excluyeron estudios que consideraban mujeres con síntomas de enfermedad, ya que este es uno de los principios básicos del cribado. La razón de excluir estudios que evalúan la expresión de los oncogenes E6/E7 únicamente en muestras tumorales se fundamenta en el hecho de que no aportan información adecuada para evaluar la utilidad de estas pruebas en el diagnóstico precoz de cáncer de cérvix.

5.2. Discusión de resultados

Los estudios encontrados no permiten esclarecer el papel que pueden desempeñar las pruebas de HPV mRNA en el algoritmo diagnóstico de detección precoz del cáncer de cérvix. Aunque la mayor parte de los autores ponen de manifiesto el potencial interés de estas pruebas debido a la mayor especificidad que parecen presentar en relación a las pruebas de HPV DNA, su uso como prueba de cribado primario no se puede considerar debido a que no existen estudios de calidad; y los que existen muestran una gran heterogeneidad en los resultados, con una sensibilidad muy baja en algunas investigaciones.

Según las Recomendaciones del Consejo Europeo, no está científicamente justificado ofrecer a personas sanas, en el marco de un programa organizado de base demográfica, ninguna prueba de cribado distinta a las recomendadas sin que se haya demostrado previamente, en ensayos clínicos aleatorios, que disminuye la mortalidad específica de la enfermedad o la incidencia de la misma en estado avanzado. Actualmente la prueba recomendada para el cribado primario por el Consejo Europeo es la citología de Papanicolau, pero los resultados de varios ensayos clínicos aleatorios apuntan a que el HPV DNA tiene una mayor sensibilidad que la citología líquida para diagnosticar lesiones de alto grado; y por tanto, podría contribuir a disminuir la incidencia de la enfermedad. No obstante, esto debe ser confirmado por estudios longitudinales ya que las pruebas de HPV DNA presentan una especificidad baja: detectan la totalidad de sujetos con infecciones HPV pero no diferencian entre las infecciones transitorias y las que tienen potencial para transformar las células en malignas. Esta es una importante limitación puesto que existe un riesgo de sobrediagnóstico y sobretratamiento, de ahí el gran interés por encontrar nuevas pruebas que realmente permitan identificar las mujeres infectadas por HPV con riesgo de progresión.

Muchos autores mantienen la hipótesis de que las mujeres con expresión de los oncogenes E6/E7 son realmente las que son susceptibles de desarrollar estos tumores. Diversos estudios han mostrado que los oncogenes E6/E7 se expresan en la práctica totalidad de los tumores invasivos (26, 27, 42), de ahí la consideración de que su presencia sea necesaria para la conversión de las células en malignas. No obstante, dado que en los estudios localizados las pruebas de HPV mRNA presentan una sensibilidad inferior a las pruebas de HPV DNA para la detección de lesiones CIN2+ y que no existen resultados de seguimiento para verificar que realmente las lesiones CIN2+/CIN3+ no diagnosticadas son lesiones transitorias, esta técnica no podría sustituir a las técnicas de HPV DNA en el cribado primario de cáncer de cérvix.

El principal interés de las pruebas de HPV mRNA podría residir en el *triaje* de mujeres con resultados citológicos indeterminados (ASCUS) o lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL) en la citología. Actualmente se recomienda la prueba de HPV DNA para el seguimiento de las mujeres con resultados ASCUS

porque presenta una mayor sensibilidad que la citología, pero se plantean serias dudas para su utilización en el caso de mujeres con lesiones LSIL. En este colectivo, la prevalencia de infección por HPV es muy elevada, aunque un número importante de lesiones remite y genera considerables falsos positivos. Esto conlleva importantes efectos negativos en la mujer, además de un aumento del número de pruebas de confirmación y de los gastos.

Identificar realmente cuales de las mujeres con citologías ASCUS/LSIL presentan un elevado riesgo de progresión es un importante reto ya que disminuiría en gran medida el número de pacientes sometidas a seguimiento y a pruebas adicionales. En la presente revisión, únicamente dos estudios evaluaron la detección de las pruebas HPV mRNA en este subgrupo de mujeres, y los resultados no son concordantes. El ensayo de Molden et al (38) es el único que concluye que esta prueba ofrecería una mejoría importante en el *triaje* de mujeres ASCUS o LSIL en relación con la prueba de HPV DNA dado que ofrece la misma sensibilidad y una especificidad superior. No obstante, la sensibilidad podría estar sobrevalorada debido a que el seguimiento se llevó a cabo a través de un registro nacional de cáncer y la verificación de los resultados se realizó únicamente en aquellas mujeres que mantuvieron un resultado citológico ASCUS/LSIL a los seis meses (n=7).

Algunos autores sugieren que la combinación de las pruebas de HPV mRNA con las pruebas HPV DNA también podrían constituir una alternativa para el seguimiento de las mujeres con resultados normales en la citología. Poder identificar realmente a las mujeres con alto riesgo de padecer cáncer mejoraría en gran medida la efectividad del cribado, se incrementaría el período de cribado y se evitaría el seguimiento innecesario de las mujeres con lesiones de bajo riesgo. De especial interés podría ser el cribado de mujeres con citologías normales y HPV (+). No obstante, los 3 estudios que han llevado a cabo un seguimiento de estas mujeres para evaluar la progresión de la enfermedad presentan un tamaño muestral muy pequeño. A su vez, uno de ellos está basado en los resultados de pruebas de detección no comercializadas. Estas pruebas, como la transcripción reversa de la PCR (RT-PCR) no emplean un control interno y no serían adecuadas para el cribado debido a su complejidad (43).

Actualmente se comercializan varias pruebas de detección de HPV mRNA para evaluar los oncogenes E6/E7. Estas difieren considerablemente en el método de análisis (cuantitativo o cualitativo) y en los genotipos detectados, lo que hace probable que también sean distintas en la detección de lesiones preinvasivas. El método PreTec HPV Proofer, empleado en la práctica totalidad de los estudios recuperados, es un método cualitativo que detecta únicamente 5 genotipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33 y 45). Aunque varios estudios recientes sugieren que estos 5 genotipos son los responsables de la gran mayoría (>98%) de los carcinomas de cérvix que aparecen en el mundo (44-46), existen variaciones geográficas importantes y no se puede descartar que la falta de detección de otros genotipos asociados al cáncer de cérvix (11), sea parcialmente responsable de la baja sensibilidad observada en algunos estudios. Recientemente han salido al mercado otras pruebas, como el APTIMA HVP Assay (Norchip) y la prueba OncoTect, que aumentan la detección de genotipos de HPV de alto riesgo, pero se desconoce el valor adicional de las mismas. En la presente revisión se localizó un solo estudio que compara el PreTec HPV Proofer con el APTIMA test (36). Estemuestra que la sensibilidad del APTIMA test es superior al 95% pero la especificidad muy baja ($\approx 40\%$) y similar a la de otras pruebas de HPV DNA. Estudios como el de Schiffman et al (47) sugieren que aumentar los genotipos de HPV disminuye la especificidad sin aumentar prácticamente la detección de lesiones CIN3+, ya que la mayor parte de las infecciones detectadas podrían ser clínicamente irrelevantes. Evaluar la validez diagnóstica de las diferentes pruebas de detección de HPV podría ser importante para determinar su verdadero valor diagnóstico.

De forma general, a pesar de lo prometedoras que parecen las técnicas de HPV mRNA para identificar mujeres con un elevado riesgo de padecer cáncer de cérvix, se desconoce si realmente estas técnicas supondrían una mejoría en la efectividad del cribado en comparación con la citología o técnicas de HPV DNA en alguna de las aplicaciones clínicas evaluadas. En la actualidad no existe ningún ensayo clínico realizado que permita comparar las distintas estrategias. Además, los estudios transversales recuperados presentan importantes limitaciones metodológicas que afectan a la validez y la extrapolación de los resultados.

En cuanto a las limitaciones metodológicas cabe citar que solo uno de los cuatro estudios que evalúan la utilidad en el cribado primario en combinación con la citología lleva a cabo una verificación histológica de las mujeres con lesiones negativas en la citología (sesgo de verificación) (33). Asimismo, solo dos documentan haber realizado un estudio histológico sin conocimiento de los resultados de HPV (32, 33). Para que los resultados de un estudio sean válidos es fundamental que la prueba de referencia sea fiable, se utilice en la totalidad de la población y su interpretación sea independiente y ciega a la de la prueba por valorar. Cuando se comprueban sólo los casos positivos podría haber una mala clasificación de los verdaderos negativos; y, por lo tanto, una sobrevaloración de la sensibilidad.

La heterogeneidad de la población objeto de estudio es otro aspecto que limita la aplicabilidad de los resultados en un ámbito de cribado poblacional. La mayoría de los estudios incluyen mujeres que acuden a consultas ginecológicas por diferentes motivos. Uno de los principios básicos del cribado es que la prueba se ofrezca a una población que no ha acudido a consulta como consecuencia de síntomas relacionados con la enfermedad objeto de cribado (48). No obstante, de los estudios incluidos únicamente cuatro documentan haber incluido a mujeres procedentes de una población general cribada (31, 37, 38, 40), y de estos solo el de Molden et al (31) superó el tamaño muestral de 100. Este estudio, aunque de gran valor, adolece de que el seguimiento no fuese llevado a cabo de forma estructurada, ya que fue realizado a través del registro nacional de cáncer, donde sólo se recogen los diagnósticos CIN2+.

A la hora de evaluar la utilidad de esta prueba es necesario tener en cuenta que también existen otros métodos para identificar las lesiones relevantes y aumentar la especificidad de las pruebas de HPV DNA. Entre los más estudiados están las pruebas de genotipado del HPV16 y HPV18 y las pruebas de detección de la sobreexpresión del gen supresor de tumores p16^{INK4a} (CIN p16^{INK4a}). Algunos estudios incluidos sugieren que la sensibilidad del método CIN p16^{INK4a} podría ser superior a la obtenida con la prueba HPV mRNA (36, 37); hecho que deberá ser investigado con estudios adecuadamente diseñados que comparen ambas técnicas en diferentes aplicaciones clínicas.

En resumen, el cribado es un proceso global cuyo objetivo es reducir la incidencia y mortalidad del cáncer de cérvix. Es un proceso complejo en el que influyen muchos factores, entre ellos la efectividad de la prueba o pruebas, la población diana y el intervalo de cribado. Antes de poder recomendar una prueba de cribado es necesario disponer de ensayos clínicos aleatorios que demuestren la disminución en la incidencia de lesiones CIN3 o cáncer, además de investigaciones adecuadas para concretar todos los otros condicionantes del cribado. Actualmente no existen estudios de calidad ni información adecuada para poder recomendar las pruebas de HPV mRNA en el contexto de un cribado poblacional para ninguna de las aplicaciones clínicas propuestas.

6. CONCLUSIONES

1. Actualmente no existen estudios de calidad ni información adecuada para poder recomendar las pruebas de HPV mRNA en el contexto de un cribado poblacional para ninguna de las aplicaciones clínicas propuestas.
2. Los métodos de HPV mRNA no se pueden considerar como prueba de cribado primario debido a la baja sensibilidad que presentan estos métodos en muchos de los estudios realizados.
3. El principal interés de las pruebas de HPV mRNA podría radicar en el *triaje* de mujeres con resultados indeterminados o lesiones intraepiteliales de bajo grado, pero no existen evidencias suficientes para establecer si estas pruebas realmente supondrían una mejoría en la eficacia del cribado en comparación con la citología o técnicas de HPV DNA convencionales.
4. La combinación de las pruebas de HPV mRNA con las pruebas HPV DNA también podría constituir una alternativa para el *triaje* de las mujeres con resultados HPV (+) y citologías normales, pero existen pocos estudios que evalúan esta aplicación clínica y son de mala calidad.
5. Actualmente existen varias pruebas de detección de HPV mRNA comercializados para evaluar los oncogenes E6/E7, pero la práctica totalidad de los estudios emplean la prueba PreTec HPV Proofer. No se conoce la validez diagnóstica de otras pruebas que detectan un mayor número de genotipos o lo hacen de forma cuantitativa, como, por ejemplo, OncoTect.
6. No existen estudios que comparen la efectividad de las pruebas mRNA con la de otras pruebas que también podrían identificar mujeres con infecciones HPV que tienen una elevada probabilidad de evolucionar en cáncer (carga viral, genotipado, p16^{INK4a}).

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda el diseño de ensayos clínicos para evaluar la efectividad de las pruebas de detección de HPV mRNA en diferentes aplicaciones clínicas en comparación con otras estrategias de cribado de cáncer de cérvix.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002. Cancer incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase No, version 2.0. Lyon: IARC Press. 2004.
2. Arbyn M, Raifu AO, Autier P, Ferlay J. Burden of cervical cancer in Europe: estimates for 2004. *Annals Oncol.* 2007;18:1708-15.
3. Arbyn M, Autier P, Ferlay J. Burden of cervical cancer in the 27 member states for the European Union: estimates for 2004. *Annals Oncol.* 2007;18:1423-5.
4. Mortalidad por cancer y otras causas en España. Año 2006. Area de Epidemiología Ambiental y Cáncer. Centro Nacional de Epidemiología [Internet]. Madrid: Instituto de Salud Carlos III; 2005 [citado 7 ago 2009]. Disponible en: <http://www.isciii.es/htdocs/pdf/mort2006.pdf>
5. Arbyn M, Raifu AO, Weiderpass E, Bray F, Anttila A. Trends of cervical cancer mortality in the member states of the European Union. *Eur J Cancer.* 2009;45:2640-8.
6. Horner MJ, Ries LAG, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Howlander N, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2006. Bethesda (MD); National Cancer Institute; 2009 [citado 7 ago 2009]. Disponible en: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/browse_csr.php
7. Sant M, Allemani C, Santaquilani M, Arnold K, Marchesi F, Capocaccia R, et al. EURO CARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer.* 2009;45:931-91.
8. Gondos A, Chokunonga E, Brenner H, Parkin DM, Sankila R, Borok MZ, et al. Cancer survival in southern African urban population. *Int J Cancer.* 2004;112:860-4.
9. Verdecchia A, Guzzinati S, Francisci S, De Angelis R, Bray F, Allemani C, et al. Survival trends in European cancer patients diagnosed from 1988 to 1999. *Eur J Cancer.* 2009;45:1042-66.
10. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomavirus. *Virology.* 2004;324:17-27.
11. Muñoz N, Bosch FX, Silvia de Sanjosé MD, Herrero R, Castellsagué X, Keerti VS, et al. Epidemiological classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Eng J Med.* 2003;348:518-27.
12. Cortés Bordoy JC, García de Paredes M, Muñoz Zato M, Martínón Torres F, Torné Blade A, García Rojas A, et al. Vacunas profilácticas frente al virus del papiloma humano: documento de consenso 2008. *Semergen.* 2009;35(1):20-8.
13. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol.* 2005;2005(Suppl 1):S16-24.
14. Muñoz N, Castellsagué X, Berrington de González A, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine.* 2006;24S3.

15. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. Public Health Paper Number 34. Geneva: WHO, 1968.
16. Committee UNS. Criteria for appraising the viability, effectiveness and appropriateness of a screening program [Internet]. London: UK National Screening Committee; 2009 [citado 5 nov 2009]. Disponible en: <http://www.screening.nhs.uk/criteria>
17. Cerdá T. Programas de cribado: Características y condiciones para su puesta en marcha. *Medicine*. 2003;8(118):6312-7.
18. Ronco G, Anttila A. Cervical cancer screening in Europe-changes over the last 9 years. *Eur J Cancer*. 2009;45:2629-31.
19. World Health Organization. International Agency for Research on cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human papillomavirus. Volume 90. Lyon: IARC; 2007.
20. Cuzick J, Clavel C, Petry K-U, Meijer CJLM, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2006;119:1095-101.
21. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. 2ª ed. Luxemburg: Office for official publications of the European Communities; 2008.
22. Smith RA, Cokkinides V, Brawley OW. Cancer screening in the United States, 2009: a review of current American Cancer Society guidelines and issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin*. 2008;59:27-41.
23. Sala M, Queiro T, Castells X, Salas D, eds. Capítulo I. Situación del cribado de cáncer de cérvix en España. En: Ministerio de Sanidad y Consumo. Descripción del cribado de cáncer en España Proyecto DESCRIC. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. Agència d'Avaluació de Tecnologia i Recerca Mèdiques de Catalunya; 2007.
24. Castells X, Sala M, Ascunce N, Salas D, Zubizarreta R, Casamitjana M, et al., eds. Descripción del cribado de cáncer en España. Proyecto DESCRIC. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. Agència d'Avaluació de Tecnologia i Recerca Mèdiques de Catalunya; 2007. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, AATRM núm. 2006/01.
25. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine*. 2008;26 Suppl 10:K29-41.
26. Nakagawa S, Yoshikawa H, Yasugi T, Kimura M, Kawana K, Matsumoto K, et al. Ubiquitous presence of E6 and E7 transcripts in human papillomavirus-positive cervical carcinomas regardless of its type. *J Med Virol*. 2000;62(2):251-8.
27. Kraus I, Molden T, Holm R, Lie AK, Karlsen F, Kristensen GB, et al. Presence of E6 and E7 mRNA from human papillomavirus types 16, 18, 31, 33, and 45 in the majority of cervical carcinomas. *J Clin Microbiol*. 2006;44(4):1310-7.

28. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2002;55:244-65.
- (29) Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PMM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Method*. 2003.
- (30) Whiting P, Rutjes AWS, Dinnes J, Reitsma JB, Bossuyt PMM, Kleijnen J. Development and validation of methods for assessing the quality of diagnostic accuracy studies. *Health Technol Assess*. 2004;8(25).
- (31) Molden T, Kraus I, Karlsen F, Skomedal H, Nygard JF, Hagmar B. Comparison of human papillomavirus messenger RNA and DNA detection: a cross-sectional study of 4,136 women >30 years of age with a 2-year follow-up of high-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(2):367-72.
- (32) Trope A, Sjoborg K, Eskild A, Cuschieri K, Eriksen T, Thoresen S, et al. Performance of human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing strategies in women with and without cervical neoplasia. *J Clin Microbiol*. 2009.
- (33) Castle PE, Dockter J, Giachetti C, Garcia FA, McCormick MK, Mitchell AL, et al. A cross-sectional study of a prototype carcinogenic human papillomavirus E6/E7 messenger RNA assay for detection of cervical precancer and cancer. *Clin Cancer Res*. 2007;13(9):2599-605.
- (34) Keegan H, Mc Inerney J, Pilkington L, Gronn P, Silva I, Karlsen F, et al. Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTect HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens. *J Virol Methods*. 2009;155(1):61-6.
- (35) Lie AK, Risberg B, Borge B, Sandstad B, Delabie J, Rimala R, et al. DNA- versus RNA-based methods for human papillomavirus detection in cervical neoplasia. *Gynecol Oncol*. 2005;97(3):908-15.
- (36) Szarewski A, Ambroisine L, Cadman L, Austin J, Ho L, Terry G, et al. Comparison of predictors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(11):3033-42.
- (37) Andersson S, Hansson B, Norman I, Gaberi V, Mints M, Hjerpe A, et al. Expression of E6/E7 mRNA from high risk human papillomavirus in relation to CIN grade, viral load and p16^{INK4a}. *Int J Oncol*. 2006;29:705-11.
- (38) Molden T, Nygard JF, Kraus I, Karlsen F, Nygard M, Skare GB, et al. Predicting CIN2+ when detecting HPV mRNA and DNA by PreTect HPV-proofer and consensus PCR: A 2-year follow-up of women with ASCUS or LSIL Pap smear. *Int J Cancer*. 2005;114(6):973-6.
- (39) Sotlar K, Stubner A, Diemer D, Menton S, Menton M, Dietz K, et al. Detection of high-risk human papillomavirus E6 and E7 oncogene transcripts in cervical scrapes by nested RT-polymerase chain reaction. *J Med Virol*. 2004;74(1):107-16.

- (40) Varnai AD, Bollmann M, Bankfalvi A, Speich N, Schmitt C, Griefingholt H, et al. Predictive testing of early cervical pre-cancer by detecting human papillomavirus E6/E7 mRNA in cervical dysplasia cytologies up to high-grade squamous intraepithelial lesions: diagnostic and prognostic implications. *Oncol Reports*. 2008;19:457-65.
- (41) Cuschieri KS, Whitley MJ, Cubie HA. Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence--implications for cervical disease progression and monitoring. *J Med Virol*. 2004;73(1):65-70.
- (42) Sathish N, Abraham P, Peedicayil A, Sridharan G, John S, Chandy G. Human papillomavirus 16 E6/E7 transcript and E2 gene status in patients with cervical neoplasia. *Mol Diagn*. 2004;8(1):57-64.
- (43) Lie AK, Kristensen G. Human papillomavirus E6/E7 mRNA testing as a predictive marker for cervical carcinoma. *Expert Rev Mol Diagn*. 2008;8(4):405-15.
- (44) Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz NF, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003;88:63-73.
- (45) Munoz NF, Bosch FX, Castellsagué X, Diaz M, Hammouda D, Shah KV, et al. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen?. The international perspective. *Int J Cancer*. 2004;111:278-85.
- (46) Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2003;89:101-5.
- (47) Schiffman M, Khan MJ, Solomon D, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, et al. A study of the impact of adding HPV types to cervical cancer screening in triage trials. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(2):147-50.
- (48) World Health Organization. International Agency for Research on cancer. IARC Handbooks of cancer prevention. Volume 10. Cervix Cancer Screening. Lyon: IARC; 2005.
- (49) Crothers BA. The Bethesda System 2001: update on terminology and application. *Clin Obst Gynecol*. 2005;48(1):98-107.
- (50) Segawa T, Sasagawa T, Yamazaki H, Sakaike J, Ishikawa H, Inoue M. Fragile histidine triad transcription abnormalities and human papillomavirus E6-E7 mRNA expression in the development of cervical carcinoma. *Cancer*. 1999;85(9):2001-10.
- (51) Narimatsu R, Patterson BK. High-throughput cervical cancer screening using intracellular human papillomavirus E6 and E7 mRNA quantification by flow cytometry. *Anatomic Pathol*. 2005;123:716-23.
- (52) Molden T, Kraus I, Karlsen F, Skomedal H, Hagmar B. Human papillomavirus E6/E7 expression in women younger than 30 years of age. *Gynecol Oncol*. 2006;100:95-100.

- (53) Molden T, Kraus I, Skomedal H, Nordstrom T, Karlsen F. PreTect HPV-Proofer: real-time detection and typing of E6/E7 mRNA from carcinogenic human papillomaviruses. J Virol Methods. 2007;142(1-2):204-12.

GLOSARIO

Especificidad: probabilidad de que una prueba diagnóstica clasifique correctamente a una persona sana ($E = VN / (VN + FP)$).

Sensibilidad: probabilidad de que una prueba diagnóstica clasifique correctamente a un individuo enfermo. ($S = VP / (VP + FN)$).

VPP: probabilidad que tiene una prueba de detectar enfermos cuando da un resultado positivo. ($VPP = VP / (VP + FP)$).

VPN: probabilidad que tiene una prueba de detectar sanos cuando da un resultado negativo. ($VPN = VN / (VN + FN)$).

ANEXOS

Anexo A: Sistema de Clasificación BETHESDA (2001) (49)

- **Calidad de la muestra**

- Satisfactoria para evaluación
- No satisfactoria para evaluación (especificar razones)

- **Categorización general (Opcional)**

- Negativo para lesión intraepitelial o malignidad
- Anomalías en células epiteliales
- Otros

- **Interpretación/Resultados**

- Negativo para lesión intraepitelial o malignidad (especificar organismos o hallazgos no neoplásicos)

- **Anomalías en células epiteliales**

* EN CÉLULAS ESCAMOSAS

- *Células escamosas atípicas (ASC)*
 - de significado indeterminado (ASCUS)
 - no puede excluirse HSIL (ASCH)
- *Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL):*
 - displasia leve/CIN 1/HPV
- *Lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL):*
 - displasia moderada, severa y CIS/CIN 2 y 3
 - con características sugestivas de invasión
- *Carcinoma epidermoide/carcinoma de células escamosas*

* EN CÉLULAS GLANDULARES

- *Células glandulares atípicas (AGC)*

- endocervicales (NOS o especificar)
- endometriales (NOS o especificar)
- glandulares (NOS o especificar)

- *Células atípicas, sugestivas de neoplasia*

- endocervicales
- glandulares

- *Adenocarcinoma endocervical in situ (AIS)*

- *Adenocarcinoma*

- endocervical
- endometrial
- extrauterino
- no específico (NOS)

* OTRAS NEOPLASIAS MALIGNAS (*especificar*)

Anexo B. Estrategia de búsqueda

La revisión bibliográfica se realizó en julio de 2009, con una estrategia de búsqueda específica, en las siguientes bases de datos:

BASES DE DATOS GENERALES:

1. La estrategia empleada en estas bases de datos (Medline, Embase e ISI WoK) se presenta a continuación:

MEDLINE (PubMed)

#1. "Uterine Cervical Neoplasms"[Mesh] OR "Cervical Intraepithelial Neoplasia"[Mesh]) OR "Uterine Cervical Dysplasia"[Mesh] OR (("Cervix Uteri"[Mesh] OR cervi*[TI]) AND ("Neoplasms"[Mesh] OR cancer OR neoplas* OR carcinom* OR tumor OR tumors))

#2. "HPV test" OR "hibrid capture" OR "Hybrid capture" OR "PCR" OR "HPV testing" OR "HPV genotyping" OR "HPV oncotec" OR "HPV oncotec" OR "E6, E7 mRNA" OR "E6/E7 mRNA" OR "papillomavirus E6/E7" OR

#3. 1 AND 2

EMBASE (Ovid)

#1. "Uterine cervix cytology"/exp OR "Uterine cervix cancer"/exp OR cervi*.ti. OR ((uterus/ OR cervi*) AND (neoplasm/ OR (neoplasm* or cancer or tumor or tumour or carcinom*).mp. [mp=title, abstract, subject headings, heading word, drug trade name, original title, device manufacturer, drug manufacturer name])

#2. ("HPV test" OR "hibrid capture" OR "hybrid capture" OR "PCR" OR "HPV Testing") OR "E6, E7 mRNA" OR "E6/E7 mRNA" OR "papillomavirus E6/E7"

#3. #1 AND #2

Web of knowledge (WOK)

#1. TS=((Cervix OR Cervic*) AND SCREEN*)

#2. TS=((HPV genotyping) OR (HPV oncotec) OR (E6, E7mRNA) OR (E6/E7 mRNA) OR (HPV test) OR PCR OR (HPV testing))

#3. TS=(trial* OR blind* OR random* OR cohort*) OR TI=(trial* OR blind* OR random* OR cohort*)

#4. #1 AND #2 AND #3

BASES DE DATOS DE ENSAYOS CLÍNICOS:

Clinicaltrials.gov

#1. "HPV test" AND cervical neoplasms

#2. "hibrid capture" AND cervical neoplasms

#3. "Hybrid capture" AND cervical neoplasms

#4. "PCR" AND cervical neoplasms

#5. "HPV testing" AND cervical neoplasms

#6. "HPV genotyping" AND cervical neoplasms

#7. oncotec

#8. "HPV E6, E7 mRNA"

#9. "HPV E6/E7 mRNA"

International Clinical Trials Registry Platform Search Portal

#1. HPV AND test

#2. Hybrid AND capture

#3. PCR AND cervix

#4. HPV AND testing

#6. HPV AND genotyping

#7. oncotec

#8. "HPV E6, E7 mRNA"

#9. "HPV E6/E7 mRNA"

Current controlled trials:

#1. "HPV test" cervix

#2. "hibrid capture" cervix

#3. "Hybrid capture" cervix

#4. "PCR" cervix

#5. "HPV testing" cervix

#6. "HPV genotyping" cervix

#7. oncotec

#8. "HPV E6, E7 mRNA"

#9. "HPV E6/E7 mRNA"

El resultado de todas estas búsquedas fue volcado en el gestor de referencias bibliográficas Endnote X, con el fin de eliminar los duplicados de cada una de estas búsquedas.

Anexo C. Tablas de evidencia

Autor (año) (referencia)	Tipo de estudio	Población objeto de estudio	Pruebas investigadas	Prueba de referencia	Interpretación de resultados	Validez diagnóstica
Tropé et al (2009) Noruega	Transversal	-655 mujeres > 30 años con neoplasia cervical (135 CIN2, 493 CIN3/ACIS, 13 CIS) -764 mujeres > 30 años con citología normal	-HPV mRNA (PreTec HPV Proofer) -HPV DNA (Amplicor) -HPV DNA (Linear Array)	Citología (1.419) Análisis histológico en mujeres con citologías anormales (n=623)	-Citologías evaluadas sin conocimiento de los resultados HPV -Análisis histológicos ciegos	Detección de CIN2+ <i>PreTec HPV Proofer</i> : S=64,1%, E=96,7% <i>Amplicor</i> : S=96,4%, E=91,7% <i>Linear Array</i> : S=98,4%
Keegan et al (2009) Reino Unido	Transversal	-299 muestras clínicas hospitalarias (60 normales, 34 <i>borderline</i> , 121 CIN1, 60 CIN2, 24 CIN3)	-HPV DNA (captura híbrida) (HC2) -HPV mRNA (PreTec HPV Proofer)	-Citología (n=299) -Histología en casos de lesiones de alto grado (n=58)	Colposcopia solo en mujeres con lesiones de alto grado	Detección de CIN2+ <i>PreTec HPV Proofer</i> : S=74,5%, VPP=92,7% <i>HC2</i> : S=100%, VPP=87,9%
Swarewski et al (2008) Reino Unido	Transversal	-953 mujeres con citologías anormales remitidas a clínicas de colposcopia	-HPV mRNA (PreTec HPV Proofer) (n=918) -HPV mRNA (APTIMA) (n=949)- HPV -HPV DNA (captura híbrida II) (n=936) -HPV DNA (Linear Array) (n=932) -HPV DNA (Amplicor) (n=949) -CINtec p16 ^{INK4a} (n=524) -HPV DNA (Clinical Arrays) (n=737)	-Histología en todos los pacientes	Resultados de la citología disponibles durante la evaluación histológica Ciega a resultados de las otras pruebas	Detección de CIN2+ <i>PreTec HPV Proofer</i> : S=74%, E=73%, VPP=52% <i>APTIMA</i> : S=95%, E=42%, VPP=40% <i>HC2</i> : S=99%, E=28%, VPP=36% <i>Linear Array</i> : S=98%, E=31%, VPP=38% <i>Amplicor</i> : S=95%, E=22%, E=33% <i>CINtec p16^{INK4a}</i> : S=83%, E=69%, VPP=40% <i>Clinical Arrays</i> : S=81%, E=37%, VPP=33%

Autor (año) (referencia)	Tipo de estudio	Población objeto de estudio	Pruebas investigadas	Prueba de referencia	Interpretación de resultados	Validez diagnóstica
Varnai et al (2008) Hungría	Transversal con seguimiento de 18 meses para valorar la progresión de la enfermedad citológica	-66 mujeres de una población cribada con resultados de la citología desde normales hasta HSIL y prueba de HPV positiva (para al menos 1 de los 5 subtipos de HPV incluidos en la prueba HPV PreTec HPV Proofer)	-HPV mRNA (PreTec HPV Proofer) (n=66) -HPV DNA (Gp5+ /Gp6+) (n=66)	-Histología en mujeres con citologías anormales (33) -Citología de repetición (n=39) para valorar la progresión de la enfermedad en mujeres que no fueron sometidas a cirugía	No se documenta	<i>PreTec HPV Proofer</i> Detección de CIN2+ S=81%, E=33%, VPP=85%, VPN=29% Detección de CIN3+ S=95%, E=55%, VPP=81%, VPN=86% Detección de la progresión de la enfermedad citológica S=77,7%, E=60%, VPP=37%, VPN=90%
Castle et al (2007) California	Transversal	-540 muestras citológicas preservadas de mujeres que participaron en un cribado poblacional	-HPV mRNA (prueba Aptima) (n=535)	-Citología (528) -Histología (536)	-La prueba Aptima fue realizada de forma ciega a los resultados de la citología y la histología -Interpretación de la histología en función de los resultados de la citología	Detección CIN2+ <i>APTIMA (punto de corte 125.000)</i> S=92,3%, E=53,9%, VPP=33%, VPN=96,6% Detección CIN3+ <i>APTIMA (punto de corte 125.000)</i> S=94,4%, E=49,3%, VPP=17,4%, VPN=98,7%
Andersson et al (2006) Suecia	Transversal	-80 mujeres consecutivas con citologías anormales en un cribado poblacional	-HPV mRNA (PreTec HPV Proofer) (n=71) -HPV DNA (PRC entiendo real) (n=78)	-Histología (80)	-No se documenta	Detección de CIN2+ <i>PreTec HPV Proofer</i> : S=41%, E=66%, VPP=59% <i>PCR-TR</i> : S=70%, E=39%, VPP=55% Detección de CIN3+ <i>PreTec HPV Proofer</i> : S=59%, E=71%, VPP=48% <i>PCR-TR</i> : S=54%, E=38%, VPP=33%

Autor (año) (referencia)	Tipo de estudio	Población objeto de estudio	Pruebas investigadas	Prueba de referencia	Interpretación de resultados	Validez diagnóstica
Molden et al (2005) Noruega	Transversal	-4.136 mujeres de 30 a 69 años que acuden a un cribado (oportunistas) Edad media: 48,9	-HPV mRNA (PreTect HPV Proofer) (n=3.970) -HPV DNA (Gp5+/Gp6+) (n=4.136)	-Citología (4.136) -Resultados histológicos para mujeres con diagnóstico HSIL determinados a través de un seguimiento de 2 años del Registro Nacional de Cáncer	-Realización de la biopsia con conocimiento de los resultados de la citología	Detección de CIN2+ en mujeres con histología HSIL (N=25) <i>PreTect HPV Proofer</i> : S=85,7%, E=88,9%, VPP=92,3%, VPN=80% <i>GP5+/GP6+</i> : S=92,9%, E=66,7%, VPP=81,3%, VPN=85,7%
Molden et al (2005) Noruega	Transversal	-77 mujeres mayores de 30 años con diagnóstico ASCUS o LSIL en la citología (n=14)	-HPV mRNA (PreTect HPV Proofer) (77) -HPV DNA (Gp5+/Gp6+) (77)	-Resultados de la biopsia para las mujeres en las que persiste un diagnóstico LSIL/ASCUS determinados a través de un seguimiento de 2 años del Registro Nacional de Cáncer (N=77)	Realización de la biopsia con conocimiento de los resultados de la citología	Detección de CIN2+ en mujeres con histología LSIL/ASCUS (N=77) <i>PreTect HPV Proofer</i> : S=85,7%, E=84,9%, VPP=37,5%, VPN=98,3% <i>GP5+/GP6+</i> : S=85,7%, E=50%, VPP=15,4%, VPN=97,1%
Lie et al (2005) Noruega	Transversal	-383 mujeres con citologías positivas remitidas para colposcopia o conización Edad media: 35 años (19-85)	-HPV mRNA (PreTect HPV Proofer) (n=291) -HPV DNA (captura híbrida II) (n=291)	-Citología (383) -Histología (383)	-Citología ciega a los resultados HPV y resultados histológicos -Histología ciega	Detección CIN2 + <i>PreTect HPV Proofer</i> : S=77%, E=78%, VPP=91,8%, VPN=52% <i>HC2</i> : S=93%, E=35%, VPP=82%, VPN=67%
Cuschieri et al (2004) Escocia	Longitudinal	-54 mujeres (de una cohorte de 3.000 mujeres seleccionadas para un estudio de HPV) con resultados citológicos normales y resultados HPV DNA positivos	-HPV RNA (PreTect HPV Proofer) -HPV DNA (Linear Array)	-Resultados de la citología líquida a los 2 años de seguimiento	No se documenta	Detección de progresión de la enfermedad <i>PreTect HPV Proofer</i> : S= 72,7%, E=81,4% <i>Linear Array</i> : S= 90,9%, E=44,2%

Autor (año) (referencia)	Tipo de estudio	Población objeto de estudio	Pruebas investigadas	Prueba de referencia	Interpretación de resultados	Validez diagnóstica
Sotlar et al (2004) Alemania	Longitudinal	-1.699 mujeres HPV (+) que dieron el consentimiento informado para la realización de un cribado mediante colposcopia, citología, histología e investigación molecular	HPV RNA (transcripción reversa) (n=802) HPV DNA (PCR múltiple)	-Citología e histología coincidentes (459 mujeres)	No se documenta	Detección de lesiones CIN (CIN1-CIN3): <i>HPV RNA:</i> S=65,5%, E=95,2%, VPP=88,5%, VPN=83,1% <i>PCR múltiple:</i> S=90,3%, E=72,8%, VPP=65,1%, VPN=93%

* Transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa

¹ El genotipado realizado con el método HPV DNA se realizó en mujeres con citología normal y prueba HPV(+) y todas las mujeres confirmadas CIN2+.

Anexo D. Artículos excluidos

Autor y año	Razón de exclusión
Segawa et al (1999) (50)	Análisis de frecuencia de expresión de oncogenes en muestras tumorales.
Nakagawa et al (2000) (26)	Análisis de frecuencia de expresión de oncogenes E6/E7 en muestras tumorales
Sathish et al (2004) (42)	Análisis de frecuencia de expresión de oncogenes E6/E7 en muestras tumorales
Narimatsu et al (2005) (51)	No incluye verificación de los resultados positivos mediante colposcopia o biopsia.
Molden et al (2006) (52)	No incluye verificación de los resultados positivos mediante colposcopia o biopsia.
Kraus et al (2006) (27)	Análisis de frecuencia de expresión de oncogenes E6/E7 en muestras tumorales
Molden et al (2007) (53)	Análisis de frecuencia de expresión de oncogenes E6/E7 en muestras celulares HPV positivas.

