

Diseño y métodos de un estudio de la historia natural de la neoplasia de cuello uterino en la población de una provincia rural de Costa Rica: el Proyecto de Guanacaste¹

Rolando Herrero,^{2,3,4} Mark H. Schiffman,⁴ Concepción Bratti,³ Allan Hildesheim,⁴ Ileana Balmaceda,⁵ Mark E. Sherman,⁶ Mitchell Greenberg,⁷ Fernando Cárdenas,⁵ Víctor Gómez,⁵ Kay Helgesen,⁸ Jorge Morales,⁵ Martha Hutchinson,⁹ Laurie Mango,¹⁰ Mario Alfaro,⁵ Nancy W. Potischman,⁴ Sholom Wacholder,¹¹ Christine Swanson⁴ y Louise A. Brinton⁴

RESUMEN

En este documento se informa sobre la fase de inscripción de un estudio de la historia natural de la neoplasia de cuello uterino basado en la población de Guanacaste, una provincia rural de Costa Rica con tasas constantemente elevadas de cáncer cervicouterino invasor. Las principales metas del estudio son investigar el papel de la infección por virus del papiloma humano (VPH) y otros factores relacionados con la etiología de la neoplasia cervicouterina de alto grado, así como evaluar las nuevas tecnologías de detección de cáncer de cuello uterino. Se comenzó por seleccionar una muestra aleatoria de segmentos censales y enumerar todas las mujeres de 18 años o más que residían en ellos, con ayuda de varios agentes de extensión del Ministerio de Salud de Costa Rica. De las 10 738 mujeres que reunían las condiciones exigidas para participar, se entrevistó a 10 049 (93,6%) que dieron su consentimiento informado por escrito. Una vez concluida la entrevista sobre los factores de riesgo de cáncer de cuello uterino, se les realizó un examen pélvico a las que declararon haber tenido actividad sexual previa. Dicho examen incluyó una determinación del pH vaginal y recolección de células del cuello de útero para diagnóstico citológico con tres técnicas diferentes. Se recolectaron otras células cervicouterinas para determinar la presencia y cantidad de ADN de 16 tipos diferentes de VPH y se tomaron dos imágenes fotográficas del cuello uterino, que fueron interpretadas en un establecimiento externo por un colposcopista experto. Por último, se tomaron muestras de sangre para inmunováloration y análisis de micronutrientes. Las mujeres con diagnóstico citológico anormal o cervigramas positivos, junto con una muestra de todo el grupo, se enviaron a otros servicios para colposcopia, y se tomaron biopsias en los casos en que se observaron lesiones. El tamizaje realizado para efectos de la inscripción servirá de base para un estudio de casos prevalentes y controles (testigos) y se realizará un activo seguimiento de los miembros de la cohorte sin enfermedad grave, a intervalos no mayores de un año, para estudiar la historia natural de la infección por VPH y los orígenes de las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado. Aquí se dan detalles de la operación realizada sobre el terreno, con referencia en particular a la realización de esta clase de estudio en un país en desarrollo. También se presentan datos descriptivos de la prevalencia de la enfermedad y la exposición a varios factores de riesgo.

¹ Este artículo se publicó en inglés en la *Revista Panamericana de Salud Pública/Pan American Journal of Public Health*, Vol. 1, No. 5, 1997, con el título "Design and methods of a population-based natural history study of cervical neoplasia in a rural province of Costa Rica: the Guanacaste Project". El proyecto de investigación fue apoyado por los contratos N01-CP-21081 y N01-CP-31061 del Instituto Nacional del Cáncer, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Maryland, EUA.

² La correspondencia y solicitudes de separatas deben enviarse al Dr. Rolando Herrero, Centro

Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer, 150 Cours Albert Thomas 69372 Lyon, Cedex 08, Francia.

³ Ministerio de Salud, San José, Costa Rica.

⁴ Instituto Nacional del Cáncer, Sección de Epidemiología Ambiental, Bethesda, Maryland, EUA.

⁵ Caja Costarricense de Seguro Social, San José, Costa Rica.

⁶ Universidad Johns Hopkins, Departamento de Patología, Baltimore, Maryland, EUA.

⁷ Hospital de Estudios Superiores, Departamento de Ginecología, Filadelfia, Pensilvania, EUA.

⁸ Information Management Services Inc., Rockville, Maryland, EUA.

⁹ Universidad de Tufts, Departamento de Patología, Boston, Massachusetts, EUA.

¹⁰ Neuromedical Systems, Nueva York, Nueva York, EUA.

¹¹ Instituto Nacional del Cáncer, Sección de Bioestadística, Bethesda, Maryland, EUA.

El cáncer de cuello uterino ocupa el segundo lugar entre las clases de cáncer más comunes en mujeres de todo el mundo, con un número de nuevos casos anuales que se estima en 471 000 (1). Las tasas de incidencia más altas notificadas provienen de países en desarrollo. Se han adquirido vastos conocimientos sobre los factores de riesgo de la enfermedad y estados precursores, como la neoplasia intraepitelial cervical (NIC) o las lesiones intraepiteliales escamosas (LIE). Desde hace mucho tiempo la observación de su relación constante con la actividad sexual parecía señalar que el cáncer de cuello uterino podía ser la secuela tardía de una enfermedad de transmisión sexual (2-4). En época reciente se ha determinado que la infección con ciertos tipos genitales de virus del papiloma humano (VPH) puede desencadenar la serie de acontecimientos que culminan en la neoplasia cervicouterina, incluido el cáncer (5). Por consiguiente, es posible que algún día puedan elaborarse vacunas contra esta enfermedad tan devastadora en todas partes del mundo (6).

La infección por VPH parece ser una condición necesaria para causar las manifestaciones de LIE de alto grado (LIEAG) y cáncer, pero es poco probable que las provoque por sí sola. Así que las investigaciones sobre su etiología se han centrado en determinar por qué solo un pequeño número de las mujeres expuestas a esta infección ostensiblemente común presentan estados precursores de alto grado y cáncer. Además, se siguen ignorando muchas otras cuestiones relacionadas con la transmisión, la historia natural y la respuesta del huésped a estos virus. Hasta que llegue el día de contar con vacunas eficaces, es indispensable optimar las actividades de detección tanto en las naciones carentes de recursos como en las más ricas.

Entre 1985 y 1987, el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los Estados Unidos de América y varios centros de investigación locales de cuatro países latinoamericanos realizaron un amplio estudio multicéntrico del cáncer cervicouterino invasor en un grupo de casos

y controles (testigos), el cual produjo abundante información sobre los factores de riesgo existentes en los lugares estudiados (7-10). Como continuación de esa actividad, sigue en marcha actualmente un estudio de la historia natural de la neoplasia de cuello uterino basado en la población de una provincia rural de Costa Rica. Este proyecto es parte de una amplia iniciativa del NCI para estudiar la epidemiología del cáncer de cuello uterino y, por lo tanto, es análogo en muchos aspectos a otras dos investigaciones financiadas por el mismo Instituto y ahora en marcha en el estado de Oregón (EUA) (11) y en Copenhague, Dinamarca (12). Además, el estudio aborda algunos de los mismos asuntos tratados en otras investigaciones importantes realizadas en las Américas (13, 14). Este artículo describe los elementos de diseño y aspectos metodológicos principales, y los resultados de análisis con una variable derivados de la fase de inscripción del trabajo realizado sobre el terreno como parte del Proyecto de Guanacaste. Incluye también datos descriptivos de la prevalencia de VPH y otros factores de riesgo de cáncer de cuello uterino, así como de la prevalencia de enfermedad cervicouterina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Vista general del diseño

El objetivo principal del estudio es investigar la función del VPH y otros factores relacionados con el huésped y el medio ambiente en la etiología de las LIE y del cáncer de cuello uterino. Otro objetivo es determinar la eficacia relativa de diferentes técnicas de detección de cáncer cervicouterino y sus estados precursores. Como muestra, se seleccionó al azar una quinta parte de la población femenina adulta de la provincia de Guanacaste en Costa Rica y se le invitó a participar en la fase de inscripción, que constó de una entrevista y un examen pélvico que comprendía determinación del pH vaginal, inspección visual del cuello uterino, preparación de un frotis con-

vencional de Papanicolaou, preparación de una extensión ThinPrep con base amortiguadora líquida, recolección de células adicionales para estudios del ADN de VPH y toma de un cervigrama (véase más adelante). Además, se tomó una muestra de sangre para estudios inmunológicos, nutricionales y genéticos. Se invitó a las mujeres con cualquier resultado anormal y a una pequeña muestra de toda la cohorte a someterse a una evaluación colposcópica, en la que se tomaron biopsias de sacabocado en los casos en que se estimó conveniente. Cuando fue necesario se efectuó una conización para aclarar algunas discrepancias citológicas-histológicas preocupantes. En todos los aspectos técnicos del estudio se contó con el apoyo de varios colaboradores expertos. Para poder estudiar la epidemiología del cáncer invasor en esa localidad, se incluyeron también en la muestra todas las residentes de Guanacaste que fueron diagnosticadas de cáncer cervicouterino invasor durante el período de inscripción.

En lo que se refiere al primer objetivo del estudio, la fase de inscripción generará información sobre la prevalencia de infección por los diferentes tipos de VPH y estadios de neoplasia de cuello uterino, incluso cáncer. Además, permitirá realizar un estudio de casos prevalentes y controles sobre los factores determinantes de la infección por VPH y los factores de riesgo en cada estadio de la enfermedad. Los posibles factores de estudio incluyen la edad, el grado de escolaridad, comportamiento sexual, número de embarazos, uso de anticonceptivos hormonales, tabaquismo, consumo de micronutrientes en la alimentación, exposición a plaguicidas, historia clínica, antecedentes familiares de cáncer, pH vaginal, concentraciones séricas de micronutrientes y haplotipos de antígenos específicos de leucocitos humanos (HAL). Con respecto al segundo objetivo, los resultados de cada prueba de detección se compararán con el diagnóstico definitivo para evaluar la eficacia de distintos métodos de tamizaje para el control del cáncer de

cuello uterino en lugares de alta incidencia.

La fase de seguimiento constará de repetición periódica del examen de detección en una subcohorte de 3 000 mujeres cuidadosamente seleccionadas al menos por 4 años para determinar el origen de las LIEAG, que es el principal resultado del componente prospectivo del estudio. Se determinará y comparará la incidencia de enfermedad en grupos expuestos a diferentes niveles de los factores citados.

Selección del sitio de estudio

Guanacaste es una provincia rural que bordea el Océano Pacífico en el noroeste de Costa Rica (figura 1). En 1993, la población total de la provincia se estimaba en 240 000 habitantes (8% de la población del país), 58% de los cuales tenían al menos 18 años de edad. Tiene una superficie de 12 241 km² (24% de la del país), con una den-

sidad de población de 20,5 habitantes por km². Las principales actividades económicas en la provincia son agricultura, ganadería y, últimamente, turismo. En 1990, la tasa de mortalidad general en Guanacaste fue de 3,7%, la de mortalidad infantil, de 14,6 por 1 000 niños nacidos vivos y la esperanza de vida, de 73,6 años.

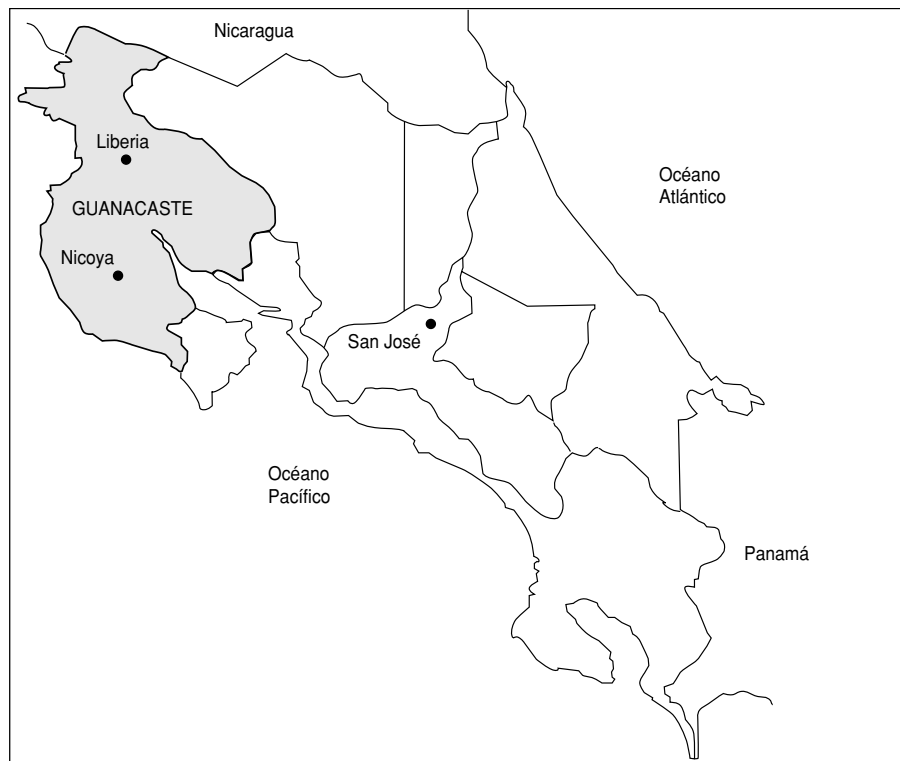
Se escogió a Guanacaste como sitio del estudio porque notifica tasas de incidencia de cáncer cervicouterino invasor constantemente elevadas. El cuadro 1 muestra los datos de incidencia del Registro Nacional de Cáncer de Costa Rica, basado en la población, que ha recibido informes obligatorios de todos los casos de cáncer conocidos en el país desde 1981 (15). Las tasas de incidencia ajustadas por edad en la provincia de Guanacaste han alcanzado un promedio de cerca de 33 por 100 000 en los últimos 12 años, cifra superior al promedio registrado en Costa Rica y alrededor de 4 a 5 veces mayor que las tasas comparables en

los Estados Unidos (16). En investigaciones previas se determinó que la diferencia entre las zonas de alta y baja incidencia de Costa Rica se relaciona más con la variación geográfica de la prevalencia de factores de riesgo que con las diferencias de intensidad del tamizaje (17).

Guanacaste, al igual que la mayoría de las provincias de Costa Rica, tiene una infraestructura de salud bien establecida, que incluye dos hospitales regionales, 11 dispensarios administrados por la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) y 95 puestos de salud administrados por el Ministerio de Salud. Hay 0,56 médicos por cada 1 000 habitantes. Los puestos de salud más pequeños tienen servicio de electricidad, instalaciones para examinar a los pacientes y salas de espera, y cuentan con un agente de extensión del Ministerio de Salud, que visita periódicamente todas las casas de la zona para promover los programas de vacunación, atención prenatal y otros cuidados preventivos. Como esos establecimientos de salud son empleados solo esporádicamente por equipos visitantes del Ministerio de Salud, estaban disponibles para uso en el estudio.

En esa zona se prestan servicios de detección de cáncer cervicouterino como parte del sistema general de

FIGURA 1. Mapa de Costa Rica



CUADRO 1. Incidencia de cáncer cervicouterino invasor en la Provincia de Guanacaste, Costa Rica, por año, 1982–1992

Año	Casos	Tasa bruta	Tasa ajustada ^a
1982	20	21,1	30,0
1983	24	25,0	37,0
1984	25	25,7	37,1
1985	23	23,3	35,4
1986	21	21,1	31,2
1987	19	18,9	26,3
1988	24	23,7	32,5
1989	34	33,3	45,1
1990	22	21,4	28,4
1991	25	24,2	33,7
1992	18	17,3	23,5

Fuente: Registro Nacional de Tumores, Ministerio de Salud, Costa Rica.

^a Incidencia por 100 000 mujeres, ajustada por edad a la población mundial.

atención de salud. Sin embargo, la cobertura del programa ha sido siempre baja y, por lo general, la población destinataria se ha limitado a las mujeres que acuden a los dispensarios de planificación familiar y atención prenatal. Además, los laboratorios tienen sistemas limitados de control de la calidad y hay dificultades para seguimiento y remisión de los casos detectados. Algunos de estos problemas, sumados a la alta prevalencia de factores de riesgo, tal vez expliquen las tasas persistentemente elevadas de cáncer cervicouterino en Guanacaste.

Organización del estudio

El estudio se realiza con arreglo a un contrato suscrito entre el NCI y la Fundación Costarricense para Docencia en Ciencias de la Salud (FUCODOCSA). Esta última es parte de la CCSS, que es el principal proveedor de servicios de salud pública con cobertura universal en el país. Además, se establecieron convenios de colaboración con el Ministerio de Salud para uso de sus instalaciones y con la Organización Panamericana de la Salud para exención de impuestos sobre el equipo y los materiales importados. También se recibió asistencia de otros organismos gubernamentales, incluso del Servicio Postal, que ofreció entrega gratuita de cartas como parte de la franquicia postal del Ministerio de Salud. Un período de planeamiento de más de un año dio tiempo para concluir esos convenios, seleccionar y adiestrar al personal y preparar el equipo y los materiales necesarios para el estudio.

Se estableció una sede central en San José, la capital de Costa Rica, y dos representaciones, una en cada uno de los hospitales regionales de Guanacaste en las poblaciones de Liberia y Nicoya, situadas a unos 250 y 300 km de San José, respectivamente (figura 1). El personal clave comprendió un investigador principal y uno adjunto, y un supervisor de operaciones con experiencia. Se dotó a cada sitio de estudio de una enfermera diplomada, una auxiliar de enfermería, un supervisor escogido entre los supervisores

nacionales del censo, con amplia experiencia en estudios sobre el terreno y administración de personal, tres entrevistadoras o más, un operador de computadora, un conductor y un gerente de oficina. Durante la parte más intensiva del estudio, un tercer equipo trabajó en la oficina local de Liberia. Para fomentar la participación en el estudio, se escogieron solo mujeres enfermeras, auxiliares de enfermería y entrevistadoras. Cada oficina tenía un vehículo de tracción trasera y delantera, un congelador con temperaturas de hasta -30°C para almacenar las muestras, un computador para apoyar el sistema de información y un congelador con temperaturas de hasta -20°C para almacenar paquetes de hielo. Además, una unidad móvil de colposcopia tenía un colposcopista, una auxiliar de enfermería y dos entrevistadoras y estaba dotada de un colposcopio Zeiss 2000 y un sistema computadorizado de producción de imágenes (véase más adelante). Los vehículos y oficinas del estudio se identificaron con logotipos de la Caja Costarricense de Seguro Social y se equiparon con un sistema de radiocomunicación de la red de dicha Caja. Los materiales y el equipo necesarios para los viajes diarios al terreno se transportaban todos los días a los dispensarios locales donde se efectuaron los procedimientos de estudio (véase más adelante). Para todos los procedimientos se prepararon manuales y se realizaron sesiones de adiestramiento detalladas con todos los miembros del personal. Las visitas locales hechas por colaboradores especializados fueron un componente de este adiestramiento. Information Management Services Inc. (IMS) de Silver Spring, Maryland, EUA, preparó un sistema de información computadorizado para registrar los datos de cada participante (citas, diagnóstico, muestras, etc.).

Selección y censo de las muestras

La principal unidad muestral usada en este estudio fue el segmento censal y Guanacaste tenía 1 038 segmentos. Para el último censo nacional reali-

zado en 1984, la Oficina del Censo diseñó cada segmento censal de forma que comprendiera entre 40 y 60 familias. Sin embargo, desde 1984 han ocurrido cambios notables en el tamaño y la distribución de la población y algunos segmentos con nuevas urbanizaciones pueden tener ahora muchas más viviendas de lo que indica el recuento del censo y otras pueden haber perdido parte de su población. Había mapas con detalles de cada segmento, incluso con la localización de las viviendas (figura 2), aunque algunos eran algo anticuados, y se hizo un esfuerzo preliminar por determinar las regiones censales con nuevas urbanizaciones residenciales. Con el fin de mejorar la eficiencia del muestreo y la distribución de la carga de trabajo diaria, se redefinieron los límites de los segmentos antes de hacer la selección para crear segmentos de un tamaño más homogéneo en cuanto al número de casas. Luego se seleccionó una muestra aleatoria secuencial de los segmentos censales redefinidos, lo que dio como resultado 208 segmentos. Se esperaba que esta selección produjera una muestra focal constituida por 10 000 mujeres.

La enumeración se realizó en febrero y marzo de 1993 mediante visitas a cada vivienda en los segmentos seleccionados. Para ese fin, 95 agentes de extensión del Ministerio de Salud fueron adiestrados por los supervisores y el demógrafo del estudio en sesiones de un día que incluyeron práctica y evaluación. Los agentes se dividieron en tres grupos y realizaron el censo de sus zonas en aproximadamente 2 semanas cada una. Se enumeraron todas las mujeres de 17 años o más que declararon que vivían en casas localizadas dentro de los segmentos seleccionados; se registraron su nombre, fecha de nacimiento, dirección postal completa y cédula (número nacional de identificación), aunque se consideró que el nombre y la dirección bastaban para enviarles cartas de invitación. Casi todas las mujeres estaban en casa durante el día, pero a menudo las visitas domiciliarias se repitieron varias veces o se hicieron por la noche para asegurarse de que el censo fuera lo más

entrevistadoras realizaron una entrevista breve, estrictamente privada y normalizada (que duró 7,1 minutos en promedio) sobre los antecedentes socioeconómicos, demográficos, sexuales, reproductivos, clínicos y relacionados con el tabaquismo (las preguntas de la entrevista están a disposición de quienes las soliciten). Todas las entrevistas fueron revisadas por los supervisores asignados al terreno, codificadas y doblemente registradas con el Programa Keyentry III en la oficina central de San José. Se enviaron bases de datos electrónicamente por medio de la Internet a WESTAT Inc. en Rockville, Maryland, donde se hicieron verificaciones de amplitud y lógica para asegurarse de la precisión de los datos. En caso de cualquier discrepancia, se examinaban las copias impresas de los cuestionarios para resolverlas. No se trató de recuperar datos mediante nuevas visitas a los sujetos del estudio.

Examen pélvico y muestras biológicas

Un grupo de enfermeras especialmente capacitadas realizaron los exámenes pélvicos en las mujeres que declararon haber tenido relaciones sexuales. Primero observaron la vulva, la vagina y el cuello uterino para determinar si había anomalías obvias y, en caso afirmativo, enviaban a las pacientes al colposcopista del estudio para evaluación. (En las pacientes con signos de tricomoniasis, candidiasis o atrofia grave, el resto del examen se aplazó hasta después de tratar específicamente estas afecciones.)

Seguidamente se insertó un espéculo estéril sin lubricar y se colocó una tira pHHydrion (Micro Essential Laboratories, Nueva York) con una escala de pH de 3,0 a 5,5 contra la pared lateral de la vagina hasta que se humedeciera. El pH vaginal se determinó comparando el color adquirido por la tira con una escala colorimétrica y registrando la medida.

Una vez determinado el pH, se recogieron las células cervicouterinas exfoliadas por rotación firme de una esco-

billas Cervex (Unimar, Connecticut) cinco veces (1 800°) en las regiones ecto y endocervicales (18). Se preparó un frotis convencional y la muestra se roció inmediatamente con fijador Pap Perfect en aerosol a base de etanol y glicol polietilénico Carbowax (Meds-cand, Florida). Después de tomar el frotis, la escobilla Cervex se agitó en 20 mL de una solución de PreservCyt a base de metanol y luego se desechó. La solución se mantuvo refrigerada hasta su envío a los Estados Unidos a la temperatura ambiente para preparación de frotis de tejido cervicouterino de una sola célula de espesor (ThinPrep).

Se recolectaron otras células cervicouterinas para valoraciones virológicas con un escobillón de dacrón, que se empleó para frotar el ectocérvix y se hizo rotar en el conducto endocervical. Los escobillones se guardaron en tubos con medio Virapap de transporte de ADN, mantenidos en cajas refrigeradas sobre el terreno hasta su congelación a -30 °C en las oficinas regionales del estudio. Después de recolectar los materiales citados, se enjuagó el cuello uterino con una solución de ácido acético al 5% y se le tomaron dos fotografías (cervigramas). La película sin revelar se envió a los Laboratorios Nacionales de Prueba de Fenton, Misuri, junto con la hoja de apuntes sobre la paciente, para revelado, examen y evaluación. Por último, se pidió a cada participante que donara 15 mL de sangre. Estas muestras se recolectaron con procedimientos normales en tubos heparinizados y se mantuvieron a una temperatura de 1- 4 °C en cajas refrigeradas sobre el terreno. Las muestras se transportaron a diario a estaciones del terreno, se centrifugaron por 20 minutos a 900 G y luego se dividieron en partes alícuotas en frascos Nalge de 2 mL previamente rotulados que contenían plasma (por lo general, 5 partes alícuotas), células de la capa leucocitaria (una) y eritrocitos (una). Las partes alícuotas se congelaron a -30 °C en las estaciones del terreno y, junto con los tubos de Virapap, se transportaron semanalmente empacadas con hielo a San José, se almacenaron a -70 °C y se enviaron pe-

riódicamente en hielo seco al depósito del NCI.

Interpretación de las pruebas citológicas de detección y los cervigramas

Los frotis convencionales fueron teñidos e interpretados localmente por un equipo de citotecnólogos y citopatólogos. A causa de la variabilidad inicial, fue necesario normalizar el proceso de tinción a mediados del período de inscripción. Después de la interpretación en Costa Rica, que generalmente tomó una semana, se enviaron las extensiones a Neuromedical Systems en Nueva York para análisis computadorizado y preparación de videocintas PapNet, que fueron interpretadas en el Hospital Johns Hopkins en Baltimore, Maryland.

Los frascos con la solución de PreservCyt se enviaron semanalmente a la Universidad Tufts (Boston, Massachusetts), donde se prepararon extensiones con el método ThinPrep. Se envió un tercer diagnóstico citológico al terreno para registrarlo en la computadora. Los resultados fueron notificados por los tres laboratorios de citología en formularios de estudio normales y clasificados según el Sistema de Bethesda (19). La calidad de los frotis se clasificó como adecuada, adecuada pero limitada o inadecuada. Se indicó que el diagnóstico citológico pertenecía a una de las siguientes clasificaciones: normal, normal con cambios reactivos, células escamosas atípicas de importancia desconocida (CEA), lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG), lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIEAG), clasificada además como NIC 2 o NIC 3, carcinoma escamoso y adenocarcinoma.

Los cervigramas se interpretaron en el Hospital de Estudios Superiores de Filadelfia, Pensilvania. Las categorías de evaluación de los cervigramas fueron "negativo" (no se observó ninguna lesión), "atípico" (se observó una lesión, pero su sitio y morfología eran tales que no se recomendó colposcopia), "positivo" (se recomendó colpos-

copia) y "técnicamente defectuoso" (no es positivo y no puede evaluarse debidamente). La categoría "positivo" tuvo las siguientes clasificaciones: P0, variante probablemente normal, pero se prefiere realizar una colposcopia para descartar la posibilidad de cualquier caso de neoplasia grave; P1-P1A, compatible con enfermedad leve, pero se recomienda colposcopia porque parte de la lesión se extiende hasta el conducto; P1B, compatible con NIC 1; P2, compatible con enfermedad de alto grado (NIC 2 o NIC 3); P3, compatible con cáncer. Se enviaron informes de evaluación al terreno (generalmente en un lapso de 3 semanas) para entrada de los datos en computadora, junto con una fotografía en colores que incluía una marca en la región más importante para designar el sitio de biopsia recomendado al colposcopista. Con este sistema se buscaba recibir oportunamente todos los informes para que ello facilitara el manejo clínico.

Visita a los dispensarios de colposcopia

Todas las pacientes con resultados anormales en cualquiera de los tres frotis de Papanicolaou (CEA o una clasificación peor) o con cervigramas positivos (P0, P1, P2, P3) se enviaron a otros servicios para colposcopia y biopsia de cualquier lesión visible. Además, se hizo lo mismo con cualquier paciente que necesitara una evaluación urgente a partir de la inspección visual y con un grupo control formado por mujeres seleccionadas al azar a razón de 1 por cada 50. Se realizó una segunda entrevista en el momento de la colposcopia, que cubrió el mismo período de la historia de la paciente abordado en la entrevista de inscripción e incluyó preguntas más extensas sobre la historia clínica, antecedentes familiares de cáncer ginecológico, hábitos de ducha vaginal, detalles de la historia sexual, comportamiento sexual de su pareja, consumo de alcohol, historia laboral y exposición a plaguicidas. También se incluyó un cuestionario sobre la frecuencia del

consumo de las 42 fuentes más comunes de ciertas vitaminas en la alimentación de la población de Guanacaste.

Después de la entrevista, el colposcopista del proyecto realizó un examen colposcópico para determinar la presencia de lesiones cervicouterinas y su posible naturaleza y, en caso de detectarse, tomar biopsia de las regiones pertinentes para confirmación histológica. Para ayudar al colposcopista en este proceso se prepararon cervigramas en los que se marcaron las regiones importantes. Con un sistema previamente codificado, el colposcopista registró las características y la topografía de la zona de transición y empleó un índice de Reid modificado (20) para describir la gravedad de las lesiones basándose en los márgenes distales, color del blanqueado con ácido acético, patrones vasculares y tinción con yodo. También marcó y describió la localización de la lesión en un diagrama cuadrículado y registró cinco imágenes del examen con un sistema de imagerie digital asistido por computadora (Den-Vu). Las imágenes registradas fueron de poca ampliación antes y después de la aplicación de ácido acético, mucha ampliación después de la aplicación de ácido acético, mucha ampliación después de la tinción con yodo, y sitio de la biopsia en los casos en que se tomó una.

Además, se recogieron más células para valoraciones virológicas con un escobillón de dacrón y se obtuvo una segunda muestra de 15 mL de sangre heparinizada. Aparte de las partes alícuotas preparadas durante la visita inicial, se prepararon otras tres partes alícuotas: una para conservación de la vitamina C, que constaba de 250 μ L de plasma y 1 mL de solución de ácido metafosfórico al 6%, y dos partes alícuotas para conservación del folato en sangre entera, que constaban de 100 μ L de sangre entera y 1 mL de una solución amortiguadora de ácido ascórbico al 1%. Esta última también requiere determinaciones de microhematocrito, que fueron realizadas con sangre de los tubos Vacutainer.

Las biopsias se fijaron en una solución amortiguadora de formalina al

10%, se enterraron en parafina y se cortaron, tiñeron y leyeron en un laboratorio local en Costa Rica. Las extensiones y los bloques de parafina se enviaron al Hospital Johns Hopkins para análisis por un patólogo. Todos los demás materiales obtenidos durante los procedimientos ulteriores (como conización e hysterectomía) también se recuperaron para análisis. Se trazó un mapa de las conizaciones para seguir la evolución de las lesiones con el tiempo y correlacionar la histopatología con la cervicografía.

Diagnóstico definitivo y tratamiento de casos

La histología sola no debe considerarse el patrón de oro porque se puede tomar una biopsia de una región que no es la más representativa o grave y cualquier lesión puede haber desaparecido en el momento de tomar la biopsia. Por ende, se crearon distintas categorías de diagnóstico (cuadro 2) basándose en un protocolo que incluyó análisis de todos los datos disponibles de citología y patología de todos los casos (es decir, extensiones de citología y biopsia, conizaciones e hysterectomías).

Todas las mujeres con LIEAG confirmadas por examen histológico y aquellas que tenían pruebas citológicas de LIEAG en dos informes por lo menos fueron tratadas por médicos de la Caja Costarricense de Seguro Social según los protocolos de tratamiento locales, en su mayoría con excisión de la zona de transición con electrodos de circuito cerrado (LLETZ o LEEP, del inglés *large loop excision of the transformation zone* y *loop electrosurgical excision procedure*) o crioconización (el equipo de LEEP fue donado por Utah Medical). Los materiales de diagnóstico de las mujeres con solo un informe citológico de LIEA que tuvieron una colposcopia normal o cuya biopsia fue LIEBG o menos se enviaron para análisis patológico; los que se juzgaron como posibles casos de LIEAG también se enviaron para tratamiento. Como medida de precaución, los casos llamados LIEAG en un principio, clasificados

CUADRO 2. Definición de las categorías de diagnóstico empleadas para clasificar muestras de tejido cervicouterino en el Proyecto de Guanacaste

Categoría	Definición
Cáncer	Cáncer invasor con confirmación histológica
LIEAG	LIEAG (NIC 2 or NIC 3) con confirmación histológica
LIEAG2	LIEAG definidas por citología analizada y confirmada, sin confirmación histológica
LIEBG	LIEBG (NIC 1 y atipia colicitótica) con confirmación histológica
LIEBG2	LIEBG definidas por citología analizada y confirmada después del análisis, sin confirmación histológica
LN/LIEAG	LIEAG frente a resultado negativo en el análisis final (la atrofia grave contribuyó a esta categoría de diagnóstico)
PAP-EQ	LIEBG definidas por citología convencional solamente, otras pruebas son normales
THIN-EQ	LIEBG definidas por citología ThinPrep solamente, otras pruebas son normales
CERV-EQ	Cervigrama positivo solamente, sin confirmación citológica ni histológica
LN/LIEBG	CEA (LIEBG frente a resultado negativo) en el análisis final
NORMAL2	Caso enviado a colposcopia por un resultado de CEA en la clasificación citológica, pero normal después del análisis
NORMAL	Todos los resultados de la detección son normales

LIEAG = lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado.

NIC = neoplasia intraepitelial cervical.

LIEBG = lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado.

LN = lesión negativa.

EQ = equívoca; lesiones sugeridas por la técnica empleada pero no confirmadas.

CEA = células escamosas atípicas de importancia desconocida.

como LIEBG, CEA o normales después de análisis más detallado, también se enviaron al sistema local y se excluyeron del seguimiento ulterior hecho como parte del estudio.

Muestra suplementaria de casos de cáncer invasor

Los datos de incidencia del Registro Nacional de Cáncer indicaron que en una población de 10 000 mujeres solo era de esperar un pequeño número de casos de cáncer invasor. Por lo tanto, con objeto de ampliar el tamaño de la muestra, se estableció un sistema de detección rápida para inscribir a todos los casos de cáncer cervicouterino invasor diagnosticados entre junio de 1993 y noviembre de 1994 en mujeres residentes en Guanacaste. El personal de los Departamentos de Estadística de tres hospitales regionales y tres de atención terciaria de San José (San Juan de Dios, Calderón Guardia y México) realizaron análisis diarios del diagnóstico al ingreso y egreso y visitaron varios pabellones de oncología y ginecología en busca de posibles casos. Además, el Registro Nacional de Tumores y el laboratorio de citolo-

gía que presta servicios a la región informaron inmediatamente de cualquier caso nuevo al grupo de investigadores. Una vez hecha la notificación, este visitó los hospitales, determinó si los casos reunían los requisitos establecidos, examinó y resumió cuadros, hizo las entrevistas de inscripción y de la consulta de colposcopia y recolectó los especímenes biológicos (tubos con Virapap y 15 mL de sangre, examinados con un protocolo similar al de las muestras de sangre para colposcopia). El grupo obtuvo en los hospitales especímenes de biopsia pertinentes para confirmación histológica.

Detección de VPH

Como técnica primaria para detectar VPH en las muestras tomadas con escobillones de dacrón durante la visita de inscripción se empleó el método de captación de híbridos (Digene) (21). En breve, con esta técnica, los especímenes se hibridan primero con una sonda de longitud completa de ARN del genoma del VPH. El híbrido resultante ARN:ADN se capta en la superficie de un tubo recubierto

con un anticuerpo antihíbrido de ARN:ADN. Los híbridos inmovilizados se hacen reaccionar luego con un anticuerpo antihíbrido conjugado a fosfatasa alcalina y la luz emitida se mide en unidades de luz relativas (RLU, del inglés *relative light units*) en un luminómetro. La intensidad de la luz emitida es proporcional a la cantidad de ADN objetivo que contiene el espécimen. Según un análisis de su respectiva relación con el cáncer (22), los tipos de VPH se agruparon como VPH 16 y otros de riesgo alto (VPH 18, 45 y 56), riesgo intermedio (VPH 31, 33, 35, 39, 51, 52 y 58) y bajo (VPH 6, 11, 42, 43 y 44). Se han seleccionado 3 000 especímenes para someterlos a la técnica de detección más sensible de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a base de activador de la región de consenso L1 (23).

Selección de sujetos para seguimiento activo

Todas las mujeres en quienes se detectaron LIEAG en cualquiera de las pruebas, independientemente del diagnóstico definitivo, fueron excluidas del seguimiento y enviadas a los servicios de salud de la Caja Costarricense de Seguro Social para tratamiento según los protocolos locales.

Durante la fase de seguimiento del estudio, se reexaminarán cada 6 meses las mujeres con pruebas histológicas o citológicas de LIEBG. Se reexaminará una vez al año a las mujeres con CEA, las que acusen resultados positivos en la prueba de detección de VPH mediante captación de híbridos y las que declaren que han tenido cinco parejas sexuales o más. Se incluirá asimismo una muestra de las mujeres con resultados normales. Los exámenes de seguimiento se basarán en los mismos procedimientos clínicos y recolecciones de especímenes biológicos que se realizaron en el momento de la inscripción. Se hará además una nueva entrevista centrada en los cambios de comportamiento durante el período de observación, con énfasis especial en las prácticas sexuales, tabaquismo y uso de anticonceptivos hormonales.

RESULTADOS

Selección y censo de muestras

Los datos del censo correspondientes a los segmentos originales seleccionados (antes de la redefinición, ya que no había datos del censo para los segmentos redefinidos) se compararon (en su conjunto) con los del censo de 1984 en toda la provincia de Guanacaste, con respecto a todas las variables del censo (por ejemplo, grupo de edad, provincia de nacimiento, nacionalidad, afiliación al sistema de seguridad social, provincia de residencia en los 5 años anteriores, grado de escolaridad, estado civil, participación en la fuerza laboral y número de hijos vivos). Según los datos de 1984, los segmentos conjuntos no dieron resultados diferentes de los de Guanacaste en ninguna de las variables examinadas.

La enumeración de todas las mujeres adultas en los 208 segmentos seleccionados se realizó entre febrero y abril de 1993, lo que produjo una muestra total de 14 750 mujeres. Sin embargo, este número fue sorprendentemente alto. Dicha muestra habría exigido más fondos de los disponibles. Por ende, se decidió excluir a suficientes mujeres para obtener una muestra final de unas 12 000. Esto se logró excluyendo al azar a uno de cada siete segmentos de la muestra y dejando un total de 178 segmentos y 11 742 mujeres.

Tasas de participación en la fase de entrevista

La inscripción comenzó en junio de 1993 y terminó en diciembre de 1994. De las 11 742 mujeres que integraron la muestra final (cuadro 3), 2,6% estaban embarazadas al comunicarse con ellas y no habrían cumplido 3 meses del puerperio al terminar la fase de inscripción; 1,6% tenían problemas mentales y de idioma o discapacidad física o habían muerto, y 4,4% se habían marchado de la zona, lo que dejó un total de 10 738 mujeres con posibilidades de participar. De ellas, 1,1% se negaron a hacerlo y 5,2% convinieron en ello en repetidas ocasiones cuando

CUADRO 3. Tasas de participación en la fase de inscripción del Proyecto de Guanacaste

	No.	%
Mujeres participantes en el censo	11 742	100,0
Mujeres no elegibles		
Embarazadas ^a	308	2,6
Con problemas mentales/de idioma	84	0,7
Con discapacidad física	56	0,5
Muertas	42	0,4
Trasladadas de Guanacaste a otro lugar	514	4,4
Total de mujeres elegibles para la entrevista	10 738	100,0
Rehusaron participar	120	1,1
No se presentaron	555	5,2
Otra razón	14	0,1
Entrevistadas	10 049	93,6 (de las elegibles)
Total de muestras de sangre tomadas	9 967	99,2 (de las entrevistadas)

^a Aplazamiento hasta una fecha pasado el período de inscripción.

el personal del estudio se comunicó con ellas pero nunca aparecieron en los dispensarios. Se entrevistó a 10 049 mujeres en total, cifra que corresponde a 93,6% de las elegibles.

Primero se dio cita por correo a todas las mujeres; las que no acudieron a la cita recibieron del personal del estudio una visita domiciliar para reprogramación, generalmente coincidente con la fecha prevista. Se hicieron varios intentos por fomentar la participación y a veces los agentes de extensión del Ministerio de Salud y aun las "damas voluntarias" del Hospital de Liberia participaron en este empeño.

Las tasas de participación de los grupos de edad extremos fueron un poco más bajas que las demás (cuadro 4); las correspondientes a las mujeres menores de 25 años fueron aproximadamente 90% de las del total de mujeres elegibles, mientras que las de mujeres mayores de 75, alcanzaron alrededor de 85% del total. Entre las mujeres más jóvenes hubo muchas difíciles de inscribir, sobre todo si todavía no habían tenido ninguna actividad sexual. Fue mucho más difícil movilizar de su casa a las mujeres de edad y muchas mujeres sencillamente no estaban interesadas.

La participación de las residentes del sector rural fue ligeramente mayor que la de las residentes de las zonas urba-

nas, donde las mujeres suelen trabajar más fuera de su casa y tener su propio médico. Las tasas de participación en la ciudad más grande (Liberia) se mantuvieron más bajas que en el resto de los cantones, aunque los equipos de estudio trataron de ampliarlas realizando otras actividades de reclutamiento.

CUADRO 4. Tasas de participación durante la fase de inscripción del Proyecto de Guanacaste, por edad

Grupo de edad	Mujeres elegibles	Entrevistadas ^a	%
18-19	461	417	90,5
20-24	1 263	1 147	90,8
25-29	1 474	1 396	94,7
30-34	1 463	1 407	96,2
35-39	1 267	1 210	95,5
40-44	1 051	1 004	95,5
45-49	847	802	94,7
50-54	651	614	94,3
55-59	584	544	93,2
60-64	497	470	94,6
65-69	430	385	89,5
70-74	321	309	96,3
75-79	191	169	88,5
80+	214	175	81,8
Desconocido	24	0	
Total	10 738	10 049	93,6

^a Esta composición por edad se basa en la edad de las mujeres en el momento del censo. La edad en el momento de la inscripción no es necesariamente la misma (véase el cuadro 10).

CUADRO 5. Tasas de participación en el examen pélvico durante la fase de inscripción del Proyecto de Guanacaste

	No.	%
Total de mujeres elegibles para el examen pélvico ^a	9 466	
Total de exámenes pélvicos realizados ^b	9 175	96,9 (de las elegibles)
Total de cervigramas	9 062	98,8 (de los exámenes hechos)
Total de análisis con Virapap	9 159	99,8 (de los exámenes hechos)
Total de diagnósticos definitivos	9 175	100,0 (de los exámenes hechos)

^a Excluye a 583 vírgenes.

^b Véanse detalles en el texto sobre la falta de participación en el examen pélvico.

De acuerdo con la evaluación hecha por los entrevistadores sobre la calidad general de las entrevistas, solo 0,2% de las participantes habían dado información poco fiable, 14,9% generalmente fiable y 84,9% sumamente fiable. Las cifras fueron similares con respecto a partes específicas de la entrevista.

Participación en los exámenes pélvico y de sangre

Un total de 9 466 de las 10 049 mujeres entrevistadas declararon haber tenido experiencia sexual previa y, por ende, reunían los requisitos para un examen de la pelvis (cuadro 5). Se realizó ese examen a 9 175 (96,9%). A 291 mujeres no se les hizo el examen porque se negaron específicamente a ello ($n = 213$) o tenían problemas médicos que impedían hacerlo, la mayoría relacionados con la vejez. Se obtuvieron resultados de la citología convencional y las mediciones del pH vaginal de casi todas las que fueron examinadas. Se consiguieron resultados (PapNet) con ayuda de computadora sobre solo 7 375 mujeres por haberse producido un atraso inaceptable en la notificación a mediados del período de inscripción. Es decir, se decidió excluir cierto número de frotis que se habrían notificado más tarde de lo conveniente. Además, se observó que esta técnica agregaba muy poco a la sensibilidad de la detección, al menos en parte porque la calidad general de los frotis convencionales era subóptima para la citología automatizada. En par-

titular, la tinción nuclear tendió a ser leve y una elevada proporción de los frotis mostró algún grado de inflamación y sangre, como es común en esta población. El proceso de tinción de los frotis se mejoró ofreciendo capacitación adicional en marzo de 1994.

El cuadro 6 muestra los resultados de cada una de las tres lecturas del frotis de Papanicolaou. Es evidente que existen importantes diferencias en el porcentaje de anomalías específicas y en la evaluación de la calidad de los frotis hecha con las distintas técnicas.

Al parecer, las técnicas convencionales y de ThinPrep llevaron a diagnosticar un porcentaje muy similar de anomalías (LIEAG o peores), en tanto que PapNet reveló porcentajes menores de estas. Sin embargo, esta comparación no ofrece información sobre la concordancia general de los resultados individuales y las diferencias pueden guardar relación con el intérprete o la técnica. Este asunto será objeto de un análisis detallado y el diagnóstico definitivo se empleará como patrón de oro.

Se tomó un cervigrama a casi 99% de las pacientes sometidas a examen pélvico y se estimó que un porcentaje similar de los cervigramas realizados habían sido adecuados desde el punto de vista técnico. Alrededor de 5% de los cervigramas se consideraron "positivos" o anormales (cuadro 7). En total, 99,2% de las mujeres entrevistadas dieron una muestra de sangre y se enviaron 89 877 partes alícuotas al depósito del NCI. Todos los envíos sobre hielo seco se recibieron congelados en los Estados Unidos, lo que refleja preparación y seguimiento muy cuidadosos de los envíos internacionales.

CUADRO 6. Resultados de las pruebas citológicas de tamizaje durante la fase de inscripción del Proyecto Guanacaste

Resultado	PapNet							
	Convencional		Antes ^a				ThinPrep	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Normal	5 338	58,7	5 065	93,5	1 859	94,8	5 391	62,0
Cambios reactivos	3 152	34,7	125	2,3	12	0,6	2 200	25,3
CEA	165	1,8	133	2,5	35	1,8	655	7,5
LIEBG	276	3,0	52	1,0	28	1,4	297	3,4
LIEAG	137	1,5	38	0,7	23	1,2	140	1,6
Cáncer invasor	25	0,3	2	0,0	3	0,2	11	0,1
Total evaluable	9 093	100,0	5 415	100,0	1 960	100,0	8 694	100,0
Inadecuado	70		59		2		241	
Resultado faltante	5 ^b		6 ^c		7 ^c		233 ^d	
No se hizo ^e	881		467		414		881	
No se interpretó	0		1 718 ^f		1		0	

^a El 7 de marzo de 1994 o antes. Después de esa fecha se mejoró la tinción del frotis de Papanicolaou.

^b Informes ya enviados a los Estados Unidos cuando se detectaron errores.

^c La mayoría representa un grupo de laminillas rotas durante el transporte.

^d La mayoría representa un grupo de laminillas perdidas durante el envío.

^e Incluye a 583 vírgenes y 298 mujeres que rehusaron el examen pélvico (291) o en quienes fue técnicamente imposible recoger muestras para el frotis de Papanicolaou (7) (véase el texto).

^f No se interpretó intencionalmente por causa de un atraso (véase el texto).

CEA= células escamosas atípicas de importancia desconocida; LIEBG = lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado; LIEAG = lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado.

CUADRO 7. Resultados de la evaluación de los cervigramas durante la fase de inscripción del Proyecto de Guanacaste

Resultado ^a	No.	%
Negativo	7 718	85,2
Atípico	857	9,5
P0 (probablemente normal)	146	1,6
P1 (LIEBG)	291	3,2
P2 (LIEAG)	32	0,3
P3 (cáncer)	18	0,2
Total evaluable	9 062	100,0
Técnicamente defectuoso	159 ^b	

^a Véase la definición de las categorías en el cuadro 2.

^b Corresponde a 1,7% de los cervigramas tomados.

Colposcopia

Se envió a un total de 2 199 pacientes a colposcopia; 1 736 a causa de anomalías en el frotis de Papanicolaou (CEA o peor) o el cervigrama (P0 o peor); 287 fueron referidas por las enfermeras a causa de resultados clínicos anormales, y 176 como controles. Estas últimas se seleccionaron al azar de toda la cohorte, independientemente del diagnóstico de tamizaje, para verificar si las pruebas de detección masiva habían identificado a todos los casos de neoplasia cervicouterina evidentes por colposcopia. De hecho, no se diagnosticó ninguna enfermedad en las 144 controles que habían tenido diagnósticos negativos en el tamizaje.

Se entrevistó en relación con la colposcopia a 2 134 pacientes (97% de las mujeres referidas por otros servicios) y se realizó el examen a 2 129 (96,8%). La mediana del período transcurrido entre la visita de inscripción y la consulta para colposcopia fue de 13 semanas, con un recorrido de 4 a 65 semanas. En el caso de las mujeres con diagnóstico definitivo de cáncer o LIEAG, la mediana fue de 9,7 semanas, con un recorrido de 1 a 50 semanas. A veces hubo grandes demoras en la notificación del diagnóstico citológico proveniente de los Estados Unidos, por lo que se demoró también el envío de las pacientes a evaluación colposcópica cuando esta se basaba en ese diagnóstico únicamente.

Muestra suplementaria de cáncer de cuello uterino invasor

Los informantes de los distintos hospitales notificaron 121 casos potenciales, 31 de los cuales reunieron los requisitos establecidos de residencia, diagnóstico histológico y fecha de diagnóstico. Se entrevistó a 27 (87%) de este grupo, se recolectó una muestra de 24 (77%) en tubos con medio Virapap, se recolectó un espécimen de sangre de 25 (81%) y se pudieron reparar los resultados de biopsias de 29 (94%) casos.

Diagnóstico definitivo y prevalencia de VPH

El cuadro 8 muestra la frecuencia y porcentajes de los diagnósticos definitivos. Según la definición de casos usada en el presente estudio, todos los tipos de cáncer se confirmaron con análisis histológicos, en comparación con 92% de las LIEAG y 39% de las LIEBG. Las lesiones no confirmadas con examen histológico se incluyeron en el grupo de diagnósticos específicos después de extenso análisis de los materiales disponibles, pero sería preciso analizarlos separadamente por diferentes subgrupos. Las categorías equívocas (véase el cuadro 8) indican lesiones

señaladas por diferentes técnicas, pero no confirmadas por relectura y estas serán también objeto de análisis individuales.

La prevalencia general de VPH en la población, determinada por la técnica de captación de híbridos, fue de 8,6%. La prevalencia de VPH 16 y de otros tipos de riesgo alto, intermedio y bajo fue de 1,7; 2,0; 5,4; y 1,7%, respectivamente. Estas cifras fueron similares cuando se excluyó a las mujeres con antecedentes de histerectomía ($n = 621$) y luego a las que habían tenido crioterapia, cauterización o cirugía del cuello uterino ($n = 322$). La prevalencia detectada se redujo acusadamente con la edad a un valor mínimo alrededor de los 40 años (cuadro 9). Sin embargo, se observó una recuperación parcial de la prevalencia después de los 60 años, lo cual puede relacionarse con un efecto de cohorte o la reaparición de infecciones latentes. Estas cifras de prevalencia no son directamente comparables con las de otros estudios latinoamericanos debido a diferencias en el diseño de la investigación y en las técnicas de detección de VPH. Actualmente se está reanalizando una muestra de esos especímenes con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), pero se necesitan más estudios comparativos.

CUADRO 8. Frecuencia (número y porcentaje) de diagnósticos^a de anomalías cervicouterinas

	No.	%
Cáncer	12	0,1
LIEAG	119	1,3
LIEAG2	11	0,1
LIEBG	74	0,8
LIEBG2	117	1,3
LN/LIEAG	12	0,1
PAP-EQ	192	2,1
THIN-EQ	155	1,7
CERV-EQ	201	2,2
LN/LIEBG	59	0,6
NORMAL2	738	8,0
NORMAL	7 485	81,6
Total	9 175	100

^a Véase la definición de las categorías en el cuadro 2.

CUADRO 9. Prevalencia de detección de VPH por captación de híbridos, por edad, en mujeres sexualmente activas,^a Provincia de Guanacaste, Costa Rica

Edad	Porcentaje de resultados positivos
18-19	24,0
20-24	14,7
25-29	9,7
30-34	8,4
35-39	6,2
40-44	5,3
45-49	5,8
50-54	5,3
55-59	5,2
60-64	7,4
65-69	9,1
70-75	10,5
75+	8,6

^a Excluye a las mujeres histerectomizadas; comprende todos los tipos de diagnóstico.

Características demográficas y sociales de la cohorte

Los cuadros 10 y 11 muestran algunas de las principales características demográficas de la cohorte inscrita en el estudio. La mediana de edad fue de 37 años, con un recorrido de 18 a 97. Casi 60% habían asistido únicamente a

CUADRO 10. Características demográficas de las mujeres de la cohorte,^a Provincia de Guanacaste, Costa Rica, 1993–1994

Característica	No.	%
<i>Edad (años)</i>		
18–19	229	2,5
20–24	917	10,0
25–29	1 301	14,2
30–34	1 358	14,8
35–39	1 167	12,7
40–44	972	10,6
45–49	780	8,5
50–54	591	6,5
55–59	517	5,6
60–64	443	4,8
65–69	355	3,9
70–74	277	3,0
75+	268	2,9
<i>Años de estudio</i>		
0	804	8,8
1–3	1 786	19,5
4–6	3 591	39,0
7–9	1 053	11,5
10–11	777	8,5
12–16	639	7,0
17+	524	5,7
<i>Nacidas en Guanacaste</i>		
Sí	7 300	79,6
No	1 875	20,4
<i>Edad en la fecha del traslado inicial a Guanacaste (si no nacieron allí)</i>		
0–9	778	41,7
10–19	483	25,8
20–29	391	21,0
30–39	136	7,3
40–49	53	2,8
50–59	14	0,7
60+	12	0,6
<i>Ingreso anual en dólares de los Estados Unidos</i>		
≤1 128	2 592	28,3
1 129–2 628	3 489	38,0
2 629–4 116	1 365	14,9
4 117–5 628	494	5,4
5 628–7 129	285	3,1
>7 129	368	4,0
No se sabe/sin respuesta	582	6,3

^a Limitado a 9 175 mujeres que recibieron un examen pélvico y un diagnóstico definitivo. Se excluyen los valores desconocidos de variables específicas.

la escuela primaria, 8,8% nunca habían asistido a la escuela y solo 12,7% habían hecho estudios postsecundarios. Ochenta por ciento de las mujeres habían nacido en Guanacaste y casi 90% de las nacidas en otros lugares se habían trasladado a Guanacaste antes de los 30 años. La mayoría de las participantes declararon un ingreso anual muy bajo. Más de 60% declararon ingresos inferiores al nivel de pobreza correspondiente a 1993, según el patrón costarricense (366 684 colones, equivalentes a US\$ 2 820). Sin embargo, muchas de esas pacientes desconocían el monto real del ingreso familiar y a veces recibían ingreso suplementario en especie. En lo que respecta a instalaciones familiares, 88,5% declararon que tenían servicio de electricidad en la casa, 62,4% refrigeradora, 67,4% sanitario en la casa, 80,8% televisión y 86,1% agua corriente (datos no incluidos en los cuadros). Casi todas esas mujeres dijeron que eran casadas o vivían como casadas. La mediana de la edad en el primer coito fue de 17 años y raras veces se inició la actividad sexual después de los 26 años. Cincuenta y cuatro por ciento declararon haber tenido solo una pareja sexual y casi 90%, tres o más. Noventa y cinco por ciento de las mujeres habían estado embarazadas, con una mediana de 19 años en el primer embarazo. Esta población tiene una elevada tasa de paridad y alrededor de 42% de las mujeres informaron que habían tenido cinco embarazos o más. Una proporción de 16,9% de las participantes declaró que se había sometido a cesárea y 6,8% a histerectomía. Solo 11,0% revelaron que habían fumado; en cambio, en 36,3% los esposos eran fumadores. Cabe señalar que un alto porcentaje declaró haberse sometido a un frotis Papanicolaou (87,8%).

DISCUSIÓN

El Proyecto de Guanacaste es un extenso estudio de la historia natural de la neoplasia de cuello de útero en una comunidad rural de América Central, donde el cáncer cervicouterino sigue siendo un importante problema

CUADRO 11. Algunas características de las mujeres de la cohorte,^a Provincia de Guanacaste, Costa Rica, 1993–1994

Característica	No.	%
<i>Estado civil</i>		
Soltera	1 022	11,1
Casada o vive como casada	7 167	78,1
Separada o divorciada	518	5,7
Viuda	468	5,1
<i>Edad en el primer coito</i>		
<13	113	1,2
13–14	704	7,7
15–16	2 183	23,8
17–18	2 595	28,3
19–20	1 601	17,5
21–25	1 473	16,1
26–30	377	4,1
31+	122	1,3
<i>Número de parejas sexuales</i>		
1	4 948	53,9
2	1 960	21,4
3	1 182	12,9
4	473	5,2
5	250	2,7
6+	361	3,9
<i>Estuvo embarazada alguna vez</i>		
Sí	8 737	95,2
No	438	4,8
<i>Edad en el primer embarazo</i>		
<15	302	3,5
15–19	4 661	53,4
20–24	2 686	30,8
25–29	792	9,1
30–34	213	2,4
35–39	65	0,7
40+	11	0,1
<i>Número total de embarazos</i>		
1–2	2 599	29,8
3–4	2 490	28,5
5–6	1 343	15,4
7–8	789	9,0
9–10	597	6,8
11–12	432	5,0
13–14	257	2,9
15+	230	2,6
<i>Antecedentes de cesárea (en mujeres con nacimientos vivos o muerte prenatal)</i>		
Sí	1 463	16,9
No	7 215	83,1
<i>Tuvo una histerectomía</i>		
Sí	621	6,8
No	8 554	93,2
<i>Tuvo un frotis de Papanicolaou alguna vez</i>		
Sí	8 038	87,8
No	1 122	12,2
<i>Fumó alguna vez</i>		
Sí	1 013	11,0
No	8 157	89,0
<i>Su esposo fuma</i>		
Sí	2 956	36,3
No	5 191	63,7

^a Limitado a 9 175 mujeres que recibieron un examen pélvico y un diagnóstico definitivo. Se excluyen los valores desconocidos de variables específicas.

de salud pública, al igual que en casi todas las zonas en desarrollo. La fase de inscripción terminó en diciembre de 1994 y los análisis iniciales darán información sobre la prevalencia de VPH y otros factores de riesgo de neoplasia cervicouterina. Además, la inclusión de varias técnicas de detección permitirá hacer una evaluación precisa de la sensibilidad y especificidad de cada método y de combinaciones de estos. La segunda fase del estudio constará del seguimiento de 3 000 mujeres con resultados normales o anomalías leves para investigar el origen de las LIEAG y del cáncer en las mujeres con tipos específicos de VPH.

La investigación epidemiológica hecha en Guanacaste ha ofrecido una serie de ventajas difíciles de reunir en cualquier otro lugar, como la excelente participación de los sujetos de estudio, bajo costo y aplicabilidad directa de los resultados a una región donde el cáncer de cuello uterino es común. Guanacaste es una zona relativamente pobre de Costa Rica. Sin embargo, la infraestructura es adecuada para la logística de un estudio extenso como este. El sistema de atención de salud universal hace disponibles muchos dispensarios pequeños apropiados para atender a los procedimientos más básicos exigidos por el estudio. Además, las autoridades de salud locales reconocen la importancia de estas actividades y ofrecen plena colaboración; es posible conseguir personal instruido y entusiasta; la mayoría de los caminos están en buen estado, y hay un excelente sistema de comunicaciones telefónicas y radiofónicas.

Uno de los inconvenientes fue la escasez de investigadores y administradores con experiencia, particularmente en lo que respecta a negociación y administración de contratos. Esta situación obstaculizó el establecimiento del contrato e iniciación del desembolso de fondos. Otra grave dificultad fue la preparación de equipo y materiales, muchos de los cuales fueron importados de los Estados Unidos. El proceso de su importación y liberación oportuna de la aduana causó demoras y costo adicional. A veces fue difícil normalizar los procedimientos, parti-

cularmente los métodos de análisis de laboratorio desconocidos para el personal. El seguimiento y envío de miles de muestras biológicas fue una tarea casi abrumadora, dada la gran cantidad de licencias y requisitos establecidos por los gobiernos y aerolíneas. Por ejemplo, las muestras congeladas se envían en hielo seco, pero este se considera una sustancia peligrosa y solo las aerolíneas con personal adiestrado en ello están autorizadas para transportarlas.

A pesar de esas dificultades, la tasa de participación fue mayor de 93%, cifra raras veces obtenida en estudios realizados en países desarrollados. El éxito de esa fase del estudio se debió en gran parte a la disposición de las mujeres de Guanacaste a participar no solo en las entrevistas sino también en los exámenes y recolección de muestras. El "proyecto", como llegó a conocerse en la comunidad, adquirió la reputación de ser una oportunidad singular para lograr excelentes exámenes de detección de cáncer cervicouterino. Las mujeres locales no seleccionadas para formar parte de la muestra a menudo pidieron al personal que se les incluyera, pero lamentablemente hubo que denegar esas solicitudes. El personal del estudio desplegó un esfuerzo especial por mejorar la participación de las mujeres de la muestra, ya que algunos de los procedimientos realizados sobre el terreno pueden servir de modelo para futuros programas de detección en masa. De hecho, el sector de la salud de Costa Rica ha lanzado una iniciativa nacional de detección del cáncer de cuello uterino en la que se pondrán en ejecución algunos de los métodos operativos esenciales empleados en este estudio. La puesta en práctica de esa iniciativa se facilitará en Guanacaste, dada la gran sensibilidad creada por nuestro estudio en la comunidad y entre los trabajadores de salud.

En este estudio se procuraba obtener una verdadera muestra basada en la población para determinar la prevalencia de infección por el VPH y enfermedad cervicouterina, lo cual también puede ser útil para planear intervenciones preventivas, incluso la elaboración de vacunas. La existencia de una

oficina de censo y de divisiones políticas detalladas permitió seleccionar una muestra aleatoria de segmentos censales. El gran tamaño de la muestra, la similitud de los segmentos seleccionados dentro de la provincia y la elevada tasa de participación permiten afirmar que esta es una muestra verdaderamente basada en la población. El hecho de que tanto en los componentes de la entrevista como en las muestras biológicas hubiera tasas similares de participación elimina casi por completo la posibilidad de importantes sesgos relacionados con diferencias entre las mujeres que donaron especímenes y las que no lo hicieron.

Otro aspecto importante fue realizar un examen lo más minucioso posible para asegurar que la cohorte que se someterá a seguimiento estaba verdaderamente exenta de enfermedad al comenzar el estudio. Probablemente la detección con tres lecturas citológicas diferentes y el cervigramma constituyeron un examen general muy sensible. Es poco probable que tengan enfermedad grave las mujeres en quienes no se detectaron anomalías con ninguna técnica. Además, la participación en la evaluación colposcópica fue casi completa y se obtuvo un diagnóstico definitivo de todas las participantes.

En función de investigaciones etiológicas, la meta principal es determinar el origen de las LIEAG, dada una infección por VPH. En el estudio de casos prevalentes y controles, la comparación de casos de LIEAG o de cáncer con diferentes grupos de controles permitirá estudiar los factores de riesgo de progresión de un caso normal a LIEAG y de este a LIEAG o directamente de un caso normal a LIEAG, en particular en las mujeres infectadas por VPH. Este asunto se abordará con mayor exactitud de forma prospectiva durante la fase de seguimiento del estudio.

Con miras a investigar nuevas opciones para el control del cáncer cervicouterino, el estudio incluyó la evaluación de varias técnicas de detección. El frotis de Papanicolaou convencional, preparado por personal técnico e interpretado por expertos en cada localidad, constituye un ejemplo de citología opti-

mada dentro de las limitaciones físicas de un país en desarrollo. Cabe notar que la normalización de algunos aspectos técnicos (por ejemplo, los de fijación y tinción) fue particularmente difícil. El sistema PapNet entraña la selección por computador de las partes más importantes de un frotis preparado de forma convencional, las cuales se registran y se presentan al citotecnólogo en un monitor de computadora. Ese método ofrece la posible ventaja de una detección más minuciosa e interpretación más rápida por el citotecnólogo. Con la técnica de frotis de una célula de espesor, la muestra citológica se prepara completamente en condiciones controladas de laboratorio y ello garantiza uniformidad morfológica y elimina cualquier artefacto creado durante el examen. También se planea evaluar un sistema de detección totalmente automatizado (Neopath, Seattle, Washington). De comprobarse su costo-eficacia, el cervigramma es otro método que podría ser importante para fines de tamizaje, especialmente en ciertas zonas donde no es factible contar con los servicios de laboratorios de citología. Tendría la ventaja de ser una técnica sencilla que puede ser interpre-

tada en un establecimiento central después de ser realizada por personal relativamente inexperto en dispensarios con recursos limitados. Por último, otro instrumento potencial de tamizaje es la prueba de infección por VPH, que permitiría seleccionar a ciertos grupos de pacientes con riesgo máximo, ya sea para envío a colposcopia o a otros exámenes más intensivos. Hemos iniciado una evaluación formal de todas esas técnicas, incluso con análisis de costo-beneficio, para determinar su función potencial solas o junto con programas de detección en diferentes contextos socioeconómicos.

La participación activa en investigaciones de esta clase es común en las zonas en desarrollo (8) y en la fase de seguimiento se está logrando un grado de cumplimiento igualmente alto. Se espera, por lo tanto, que los resultados del estudio den respuestas que beneficien la salud de la mujer tanto en Guanacaste como en otros lugares.

Agradecimiento. Los autores agradecen la colaboración de los Dres. Fernando Berdugo, Pierre Gaby Bien-Aimé, Federico Di Paola, Francisco

Fuster, Seidy Herrera, Jaime Jenkins, Enrique Jiménez, Manuel Jiménez, Danilo Medina, Saeed Mekbel, Gabriel Odio, Jessie Orlich, Mario Pacheco, Vinicio Pérez, Álvaro Salas, Alfredo Santiesteban, Rafaela Sierra, Rodrigo Urcuyo, Gonzalo Vargas y Herman Weinstok, de los Lics. Aylin Carmona y Gonzalo Elizondo y de todo el personal de los dispensarios y hospitales de Costa Rica cuya ayuda permitió realizar este proyecto. El personal del estudio fue el siguiente: Manuel Barrantes, Fernando Cárdenas y Elmes Pérez (supervisores); Lidia Ana Morera, Iris Ugarte y Pacífica Valdés (enfermeras); Jenny Díaz, Lidia Pastrana, Dalila Peralta y Elizabeth Sánchez (auxiliares de enfermería); Sonia Ávila, Pricila Bolandi, Marta Chaves, Lucía González, María Gutiérrez, Franco Mainieri, Dorian Miranda, Minor Miranda, Roberto Monge, Ana Lieth Moreno, Maribel Obando, María A. Pizarro, Esperanza Ramírez, Rebeca Sibaja, Hugo Viales, Nidia Viales, Jorge Umaña y Kattia Umaña. En los Estados Unidos, ayudaron a interpretar las pruebas citológicas de detección y los cervigramas Deidra Kelly, Karen Plowden y el Dr. M. Campion.

REFERENCIAS

- Pisani P, Parkin DM, Muñoz N, Ferlay J. Cancer and infection: estimates of the attributable fraction for 1990. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [en prensa].
- Beral V. Cancer of the cervix: a sexually transmitted infection? *Lancet* 1974;110:37-40.
- Brinton LA, Hamman RF, Huggins GR. Sexual and reproductive risk factors for invasive squamous cell cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 1987;79:23-30.
- Herrero R, Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Tenorio F, de Britton RC, et al. Sexual behavior, venereal diseases, hygiene practices, and invasive cervical cancer in a high-risk population. *Cancer* 1990;65:380-386.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). *Monograph on the evaluation of carcinogenic risks to humans: human papillomaviruses*. Lyon, France: IARC; 1995. (IARC scientific publications, Vol 64).
- Dillner J. Immunobiology of papillomavirus; prospects for vaccination. *Cancer J* 1992;5(4): 181-187.
- Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Herrero R, Gaitán E, García M, et al. Parity as a risk factor for cervical cancer. *Am J Epidemiol* 1989;130(3):486-496.
- Brinton LA, Herrero R, Brenes MM, Montalván P, de la Guardia ME, Ávila A, et al. Considerations for conducting epidemiologic case-control studies of cancer in developing countries. *Bull Pan Am Health Organ* 1991;25(1):1-15.
- Reeves WC, Brinton LA, García M, Brenes MM, Herrero R, Gaitán E, et al. Human papillomavirus (HPV) infection and cervical cancer in Latin America. *N Eng J Med* 1989;320: 1347-1441.
- Herrero R, Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Tenorio F, de Britton RC, et al. Risk factors for invasive carcinoma of the uterine cervix in Latin America. *Bull Pan Am Health Organ* 1990;24(3):263-283.
- Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, Glass AG, Cadell DM, Rush BB, et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:958-964.
- Krüger Kjaer S, van der Brule AJC, Bock JE, Poll PA, Engholm G, Sherman ME, et al. Human papillomavirus—The most significant risk determinant of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 1996;65(5):601-606.
- Eluf-Neto J, Booth M, Muñoz N, Bosch FX, Meijer CJLM, Walboomers JMM. Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. *Br J Cancer* 1994;69:114-120.
- Muñoz N, Bosch FX, de San José S, Tafur L, Izarzugaza I, Gili M, et al. The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population-based case-control study in Colombia and Spain. *Int J Cancer* 1992;52:743-749.
- Parkin DM, Muir CS, Whelam SL, Gao Y-T, Ferlay J, Powell J, eds. *Cancer incidence in five continents, Volume VI*. Lyon, France: IARC; 1992. (IARC scientific publication 120).
- Ries LAG, Miller BA, Hankey BF, eds. *SEER Cancer Statistics Review: 1973-1991*. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 1994. (NIH Pub. 94-2789).
- Herrero R, Hartge P, Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM, Urcuyo R, et al. Determinants of the geographic variation of invasive cervical cancer in Costa Rica. *Bull Pan Am Health Organ* 1993;27(1):15-25.

18. Ferris DG, Berrey MM, Ellis KE, Petry LJ, Voxnaes J, Beatie RT. The optimal technique for obtaining a Papanicolaou smear with the Cervex brush. *J Fam Pract* 1992;34:276-280.
19. National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. *JAMA* 1989; 262:931-934.
20. Reid R, Herschman BR. A colposcopic index for differentiating subclinical papilloma viral infection from cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1984;149:815.
21. Schiffman MH, Kiviat N, Burk RD, Shah K, Daniel R, Lewis R, et al. Accuracy and inter-laboratory reliability of HPV DNA testing by hybrid capture. *J Clin Microbiol* 1995;33: 545-550.
22. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992;79:328-337.
23. Hildesheim A, Gravitt P, Schiffman MH, Kurman RJ, Barnes W, Jones S, et al. Determinants of genital human papillomavirus infection in low-income women in Washington, DC. *Sex Transm Dis* 1993;20:279-285.

Manuscrito recibido el 30 de noviembre de 1995. Aceptado para publicación en versión revisada el 15 de mayo de 1996.

ABSTRACT

Design and methods of a population-based natural history study of cervical neoplasia in a rural province of Costa Rica: the Guanacaste Project

This paper reports on the enrollment phase of a population-based natural history study of cervical neoplasia in Guanacaste, a rural province of Costa Rica with consistently high rates of invasive cervical cancer. The main goals of the study are to investigate the role of human papillomavirus (HPV) infection and its co-factors in the etiology of high-grade cervical neoplasia, and to evaluate new cervical cancer screening technologies. To begin, a random sample of censal segments was selected and enumeration of all resident women 18 years of age and over was conducted with the aid of outreach workers of the Costa Rican Ministry of Health. Of the 10 738 women who were eligible to participate, 10 049 (93.6%) were interviewed after giving written informed consent. After the interview on cervical cancer risk factors was administered, a pelvic examination was performed on those women who reported previous sexual activity. The pelvic examination included a vaginal pH determination and collection of cervical cells for cytologic diagnosis using three different techniques. Additional cervical cells were collected for determination of the presence and amount of DNA from 16 different types of HPV, and two photographic images of the cervix were taken and interpreted offsite by an expert colposcopist. Finally, blood samples were collected for immunologic and micronutrient assays. Women with any abnormal cytologic diagnosis or a positive Cervigram, as well as a sample of the whole group, were referred for colposcopy, and biopsies were taken when lesions were observed. The enrollment screening will serve as the basis for a prevalent case-control study, and the members of the cohort free from serious disease will be followed actively, at intervals of no more than a year, to study the natural history of HPV infection and the origins of high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL). Details of the field operation are outlined, with particular reference to the realization of this kind of study in developing countries. Descriptive data on the prevalence of disease and exposure to various risk factors are also presented.
