

Asociación entre presencia del virus del papiloma humano y hallazgos anatómo-patológicos

Drs. Henry Aguiar¹, Naikoa Goñi², Lucy Pinto³, M.Sc. Marifel Carrozza⁴, Lcda. Sandra Abou Orm⁵, Drs. Heriberto Correia⁶, Nancy Moreno⁷, Flor Herrera⁷

RESUMEN

Objetivo: Determinar por reacción en cadena de la polimerasa la presencia del virus del papiloma humano en pacientes femeninas, quienes acudieron a un tamizaje de lesiones en cuello uterino en la red ambulatoria del Municipio Francisco Linares Alcántara (Edo. Aragua) y asociar la presencia de virus del papiloma humano con hallazgos anatómo-patológicos.

Métodos: Luego de obtener el consentimiento informado se tomó una muestra de hisopado vaginal a 301 pacientes, a quienes se les realizó citología y colposcopia. Se aisló ADN para la genotipificación mediante ensayos de reacción en cadena de la polimerasa acoplados a digestión con enzimas de restricción. Se efectuaron pruebas estadísticas para analizar la relación entre la presencia de virus del papiloma humano y las variables: edad, inicio de relaciones sexuales, número de parejas sexuales y hallazgos citológicos y colposcópicos.

Resultados: Se obtuvieron 43 muestras positivas para virus del papiloma humano 17 fueron 16 (39,53 %), 3 virus del papiloma humano 18 (6,98 %), 1 virus del papiloma humano 33 (2,33 %), 14 muestras presentaron coinfección (32,56 %) y en 8 muestras (18,60 %) no ocurrió digestión con las enzimas utilizadas. Existen relaciones estadísticas significativas entre la presencia de virus del papiloma humano y las variables analizadas.

Conclusión: La presencia de genotipos de alto riesgo en el 48,84 % de las pacientes con virus del papiloma humano, es una situación preocupante, dada la vinculación de dichos genotipos al desarrollo de cáncer de cuello uterino.

Palabras clave: Genotipificación. Virus del papiloma humano. Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción. Reacción en cadena de la polimerasa.

SUMMARY

Objective: To determine by Polymerase Chain Reaction the presence of the human papillomavirus in female patients attending a screening for lesions of uterine neck in the outpatient network of Francisco Linares Alcántara Municipality and to relate the results to anatomopathological findings.

Methods: After obtaining informed consent from patients, samples of vaginal swabs were taken from 301 women that were used for cytology and colposcopy studies. Also, DNAs were isolated and they were used for Polymerase Chain Reaction test coupled to restriction enzyme digestion. Statistical tests were performed to analyze the relationship between the human papillomavirus positivity and the variables: stratus age, the onset of sexual activity, number of sexual couple, cytology and colposcopy findings.

Results: Out of 43 human papillomavirus positive samples, 17 (39.53 %) were genotype 16, 3 (6.98 %) genotype 18 and 1 (12.33 %) genotype 33; 14 (32.56 %) samples showed coinfection and 8 (18.60 %), samples were not digested with the restriction enzymes used. The relationship between the presence of human papillomavirus and the others studied variables (stratus age, the onset of sexual activity, number of sexual couple and cytological results) was statistically significant.

Conclusions: The presence of human papillomavirus genotypes, of so-called high risk in the 48.84 % of the women with a positive HPV test is a particular concern, because they are associated with the development of cervical cancer.

Key words: Genotyping. Human papillomavirus. RFLP. Polymerase Chain Reaction.

¹ Residente de Posgrado de Especialización de Obstetricia y Ginecología, Hospital Central Maracay, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, Universidad de Carabobo (FCSSA-UC).
² Residente Asistencial, Instituto Venezolano de los Seguros Sociales, Carabobo.
³ Médico Obstetra Ginecólogo, Profesora Titular Jubilada, FCSSA-UC.
⁴ MSc., Profesora de la Maestría de Ciencias Biomédicas (MCB), FCSSA-UC, Investigadora del BIOMED-UC.
⁵ Bioanalista, Profesora Instructora FCSSA-UC, Investigadora del BIOMED-UC,

⁶ Dr. Biología, Profesor Titular FCSSA-UC, Investigador del BIOMED-UC.

⁷ Dra. Biología, Profesora Titular Jubilada FCSSA-UC, Investigadora del BIOMED-UC.
Este estudio fue utilizado como Trabajo de Grado por Henry Aguiar y Naikoa Goñi para la obtención del título de Médico Cirujano en la Universidad de Carabobo
Financiamiento: Proyecto: Prevalencia de infección por VPH, usando métodos moleculares, en mujeres que asisten al programa de prevención y control del cáncer cérvico uterino del Estado Aragua (FONACIT- N° 2012000973)

INTRODUCCIÓN

Existen diversos tipos de virus del papiloma (VPH) clasificados de acuerdo a la capacidad de los virus de producir transformaciones celulares malignas o precancerosas en el epitelio infectado. Se conocen virus de bajo, alto o indeterminado riesgo cancerígeno. De los de alto riesgo, los VPH 16 y 18 son los más importantes y frecuentes en el mundo ya que se han encontrado en un 70 %-80 % de los cánceres cervicales (1), aunque algunos autores le asignan un porcentaje cercano al 90 %. Además se les atribuye la mayoría de los cánceres de vagina y ano (70 %-90 %), un 40 % de los cánceres de vulva y pene, un 20 % de los cánceres de orofaringe y un 10 % de los cánceres de la cavidad oral. Los de bajo riesgo causan verrugas genitales o condilomas acuminados, verrugas vulgares en piel y papilomas laríngeos, sobre todo en población joven (2).

Esta infección es hoy día la enfermedad de transmisión sexual más prevalente a nivel mundial y es posible por contacto directo de piel a piel, por soluciones de continuidad, o bien por contacto entre mucosas en el área genital mediante el acto sexual (3).

En un estudio retrospectivo a nivel mundial, fue detectado ADN de VPH en un 93 % de las biopsias de cuello uterino realizadas (2). En otro estudio se halló una asociación entre los genotipos de alto riesgo y el promedio de edad de aparición del cáncer de cuello uterino en las pacientes, siendo la edad de aparición menor cuando estaban implicados los serotipos de alto riesgo (4). En la población sexualmente activa, entre 20 y 30 años, el porcentaje de infección puede llegar hasta 46 % (5). También se relaciona la baja escolaridad, pobres hábitos higiénicos, la mayor paridad en la mujer y el uso prolongado de terapia hormonal anticonceptiva como factores de riesgo, aunque menosprecian el papel del tabaco y otras infecciones (p.e. *Chlamydia trachomatis*) (5).

La incidencia de muerte por cáncer cervical varía en diferentes países de acuerdo a las pruebas de rutina (citología, colposcopia o detección de VPH) que se hagan en los mismos para identificar la población en riesgo (6). El examen citológico de Papanicolaou tiene valores de sensibilidad que discrepan entre los laboratorios (7). Por otra parte, la colposcopia puede detectar la mayoría de los casos de NIC de alto grado pero tiene una especificidad y reproducibilidad limitadas en pacientes con anomalías leves en las células (8). Por estas restricciones y por el

hecho de que el ADN de VPH está presente en prácticamente todos los cánceres cervicales, se ha considerado que la detección molecular del genoma de VPH en una muestra cervical podría mejorar la eficacia de detección de este tipo de malignidad. Sin embargo, como más del 90 % de las infecciones de VPH son transitorias, el reto es identificar a las mujeres infectadas quienes podrían estar en riesgo de desarrollar cáncer, para no aplicar tratamientos innecesarios. Un primer paso para lograr este objetivo, sería genotipificar el VPH encontrado para determinar si es de alto riesgo.

Aunque existen trabajos realizados en Venezuela sobre la infección por VPH (9-20), los informes de la epidemiología nacional de la infección por este virus que avalen la prevalencia o incidencia de esta infección, son pocos. Esto conlleva a que tampoco se tenga información actual de la relación entre la infección por VPH y cáncer de cuello uterino. Sin embargo, como se conoce que existe una alta asociación entre infección por VPH y las patologías del cuello uterino (adenocarcinoma, cáncer invasor del cuello uterino, entre otros), se puede considerar que la infección viral puede causar cáncer que lleva a la muerte a un gran número de mujeres. En relación con este cáncer, Correnti y col. (10) han reportado que en Venezuela el cáncer de cuello uterino es un problema de salud pública. De hecho, las estadísticas oficiales de 2005 demostraron que los diferentes tipos de cáncer cervical ocuparon el primer lugar como causal de muerte por cáncer entre las mujeres y el cuarto puesto considerando ambos sexos (21).

Reigosa y col. (13) detectaron y tipificaron el VPH en 58 mujeres asintomáticas que acudieron a un centro de medicina preventiva en Valencia, encontrando un 34,5 % de muestras positivas por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) al virus, mientras que el diagnóstico citológico tan solo pudo evidenciar 18,2 % de infección por VPH. Por otro lado, en un estudio realizado en 189 mujeres en el Estado Mérida quienes presentaban diagnóstico clínico previo de infección por VPH por citología, colposcopia o biopsia, se reportó que la técnica combinada PCR-polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) permitió detectar e identificar el virus. El 16,8 % de las muestras presentó VPH de alto riesgo (siendo el principal el genotipo 16), el 6,8 % presentó de riesgo intermedio y el 18 % de bajo riesgo (12).

Debido a la importancia de conocer la prevalencia de la infección de VPH en mujeres y que en el Estado Aragua hay poca información relacionada

con esta materia, salvo algunos estudios preliminares (9,20), en este trabajo se procedió, a diagnosticar molecularmente la presencia de VPH y luego genotipificar el virus en muestras de la población femenina del Municipio Francisco Linares Alcántara (MFLA), para determinar posibles asociaciones entre la positividad y tipo de VPH de la muestra, con variables vinculadas a los hallazgos obtenidos por colposcopia y citología. Asimismo, se planteó conocer otros aspectos sociodemográficos que contribuyan a establecer políticas de prevención y abordaje de las patologías de cuello uterino.

MÉTODOS

Muestra:

Estuvo integrada por pacientes femeninas (n=301) voluntarias a un llamado público y abierto para un tamizaje de lesiones en el cuello uterino, realizado durante el mes de marzo de 2012 en el Ambulatorio de Santa Rita. Como criterio de inclusión, se estableció que fueran sexualmente activas y la autorización de sus representantes si su edad era menor a 18 años. Las pacientes firmaron un consentimiento informado, aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco Triana Alonso" de la Universidad de Carabobo (CB-BIOMED-UC).

Es importante destacar que la obtención de las muestras pudo ser realizada por la participación activa de la comunidad. Este acercamiento se logró a través de charlas en consejos comunales, instituciones educativas y de salud en las cuales se informó que el VPH de alto riesgo es la causa de la mayoría de los cánceres de cuello uterino y se hizo énfasis en la importancia de pruebas de detección precoz del VPH para evitar el desarrollo, la progresión o muerte provocada por el cáncer. En consecuencia, durante un mes acudieron al ambulatorio un número tres veces mayor de mujeres para este tipo de consulta, en comparación con las atendidas rutinariamente.

Procedimiento

Para el examen colposcópico se utilizó un Colposcopio Digital 32K, espéculos desechables en tres tamaños estándar y una PC de escritorio para el registro de las imágenes y datos de las pacientes. La citología se recolectó mediante un estuche

proporcionado por las autoridades del ambulatorio, preservada con un fijador celular (Fixcell®) indicado para este propósito y luego se envió a la Dirección de Anatomía Patológica dependiente de CORPOSALUD, en el Edo. Aragua a través de la Dirección Municipal de Salud del MFLA. Por último, se tomó una muestra de hisopado vaginal, se preservó en un vial de vidrio con tapa de goma hermética, en solución salina al 0,9 %, y posteriormente llevado al BIOMED-UC para la detección y genotipificación del VPH.

Las muestras obtenidas se procesaron para extraer el ADN siguiendo el método modificado de fenol-cloroformo-y precipitación con etanol (22). La cuantificación se realizó mediante espectrofotometría y la integridad se verificó por electroforesis en gel de agarosa al 1 %.

La presencia de VPH fue detectada mediante un ensayo de PCR, en un volumen final de 25µL con la siguiente concentración final de reactivos según protocolo previamente optimizado en el laboratorio: Tampón de reacción 1X (Promega®); MgCl₂ 1,2 mM (Promega®); dNTPs 0,8 mM (Promega®); 0,2 mM de cada uno de los cebadores genéricos: MY09 y MY11 (sintetizados por Invitrogen); 0,5 U de la enzima ADN *Taq* Polimerasa (Promega®) y agua libre de nucleasas; a esta mezcla se añadieron 125 ng del ADN. La amplificación se llevó a cabo en el termociclador MJ Research, PTC200 DNA Engine Thermal Cycler PCR, durante 40 ciclos, con la siguiente programación: desnaturalización 94 °C por 30 s, hibridación 55 °C por 15 s y extensión 72 °C por 30 s y un paso de extensión final 72 °C por 4 min. Se realizó una desnaturalización inicial durante 4 min. Como control positivo se empleó VPH 18, obtenido en el BIOMED. En todos los ensayos se amplificó una secuencia de β-globina como control interno. El producto de PCR se refrigeró a 4 °C hasta su posterior utilización. La positividad del ensayo se considera en función de la presencia de una secuencia con un tamaño de 450 pb, correspondiente a una región altamente conservada del gen L1 viral.

Para la genotipificación del VPH, se utilizó la técnica de RFLP; para ello se realizó una digestión de los productos de PCR que presentaron solo una banda neta del fragmento de 450 pb, con la enzima *Rsa* I (Promega®), para identificar los genotipos: 18, 33 y 35; en esta digestión los genotipos 16 y 56 tienen el mismo perfil (310, 72 y 70 pb) y para diferenciarlos se empleó la enzima *Dde* I (Promega®), en este caso en el genotipo 16 no ocurre digestión, mientras que en el genotipo 56 sí la hay. La incubación se llevó a

ASOCIACIÓN ENTRE PRESENCIA DEL VPH Y HALLAZGOS ANATOMO-PATOLÓGICOS

cabo de acuerdo a las instrucciones del fabricante y los fragmentos de la digestión enzimática se observaron en geles de agarosa al 2 %, revelados con bromuro de etidio, y visualizados en un equipo de fotodocumentación marca BioRad.

La identificación de los hallazgos colposcópicos se realizó basada en la nomenclatura del Consenso de Río de Janeiro 2011 (23), para identificación de imágenes colposcópicas. Las citologías fueron estandarizadas siguiendo los criterios de Bethesda (23).

Con el fin de realizar el análisis estadístico se elaboró una base de datos en Microsoft Excel®, que posteriormente fue exportada al paquete estadístico Epi Info® versión 3.5.4 para Windows® y finalmente se depuró para corregir errores de digitalización. Se procesó la información, mediante un análisis descriptivo de una sola variable, se elaboraron tablas, utilizando para ello las variables estadísticas de tendencia central y dispersión según el nivel de medición de las variables. Para las variables cuantitativas se calculó la media, la mediana y la desviación estándar y para las variables cualitativas se obtuvo la distribución porcentual de frecuencias para el análisis de datos epidemiológicos. En otro apartado se realizó la elaboración de tablas de contingencia para la comparación y obtención de relación de dependencia entre la presencia de VPH de alto riesgo y los hallazgos anatómo-patológicos obtenidos. Esta comparación se basó en dos factores: a) las infecciones persistentes con VPH de alto riesgo constituyen el factor de mayor peligro para desarrollar cáncer de cuello uterino ya que su ADN se encuentra prácticamente en todos los tumores y b) la detección de hallazgos anatómopatológicos pueden ser indicativos de la presencia de la enfermedad en etapas no iniciales. Es por ello que la detección de ADN viral de alto riesgo por PCR se utilizó como prueba de referencia para calcular la especificidad y sensibilidad de la citología y la colposcopia.

RESULTADOS

La procedencia de las pacientes se distribuyó entre los sectores de poblaciones más representativos de los municipios, de la siguiente manera: Santa Rita, 242 pacientes (80,4 %); La Morita, 31 (10,3 %); Francisco de Miranda, 15 (5,0 %); Paraparal, 9 (3,0 %) y otros sectores, 4 (1,3 %). La edad estuvo comprendida entre 13 y 73 años, con una media de edad de 35,61

años ($\sigma^2= 168,25$ y $\sigma= 12,97$). En cuanto al inicio de la actividad sexual, un 23,9 % fue posterior a los 18 años, mientras que 76,1 % la iniciaron antes de esta edad. El número de parejas sexuales varió de 1 hasta más de 5, obteniéndose que 25,9 % de la muestra refirieron solo una, 33,6 % dos, 24,6 % tres, 6,6 % cuatro y 9,3 %, cinco o más. Los hallazgos colposcópicos mostraron que el 34,2 % de las muestras se ubicaron en la condición Grado 1 (cambios menores, entre otros: epitelio aceto-blanco delgado, irregular, bordes geográficos, mosaico y puntilleo fino), solo el 1 % en la de Grado 2 (cambios mayores, entre otros: epitelio acetoblanco denso, mosaico, puntilleo y bordes gruesos) y el 16,9 % en Misceláneos (cambios atípicos) (Cuadro 1). De igual manera, el reporte citológico indicó que 24 muestras fueron normales, 143 tuvieron inflamación moderada y 95 severa, tal como se puede observar en el Cuadro 2.

El diagnóstico mediante PCR mostró un total de 43 muestras positivas para VPH (14,3 %). Al comparar la relación entre el hallazgo positivo al

Cuadro 1
Resultados de la colposcopia

Característica	Número	Porcentaje	IC 95 %
Sano	144	47,8 %	42,1 %-53,6 %
Grado 1	103	34,2 %	28,9 %-39,9 %
Grado 2	3	1,0 %	0,3 %-3,1 %
Misceláneos	51	16,9 %	13,0 %-21,8 %

IC: Intervalo de Confianza.

Cuadro 2
Resultados de la citología

Característica	Número	Porcentaje	IC 95 %
Normal	24	8,0 %	5,3 %-11,8 %
Inflamatorio leve	14	4,7 %	2,7 %-7,9 %
Inflamatorio moderado	143	47,5 %	41,7 %-53,3 %
Inflamatorio severo	95	31,6 %	26,4 %-37,2 %
LIE Bajo grado	1	0,3 %	0,0 %-2,1 %
LIE Alto grado	1	0,3 %	0,0 %-2,1 %
Muestra insatisfactoria	23	7,6 %	5,0 %-11,4 %

IC: Intervalo de Confianza. LIE: Lesiones intraepiteliales escamosas.

VPH y las otras variables estudiadas, edad por estratos, inicio de relaciones sexuales, N° de parejas sexuales y resultados de citología, se obtuvieron valores estadísticamente significativos, con un nivel de significancia de 5 %, entre ellas y la positividad al VPH. La edad con el mayor número de casos fue entre 20-39 con un 56 %; con respecto al inicio de las relaciones sexuales, el 93 % de las muestras VPH positivas fueron en mujeres que iniciaron actividad sexual antes de 18 años y en relación con el número de parejas sexuales el 58 % de positividad se encontró cuando la mujer había tenido más de 3 parejas.

En el Cuadro 3 se expresan los resultados de la genotipificación, los genotipos de alto riesgo (16, 18 y 33) representan el 48,84 % de la muestra, 14 muestras presentaron coinfección (32,56 %). En 8 muestras (18,60 %) no se logró genotipificar porque no ocurrió digestión de los productos de PCR con las enzimas utilizadas.

Se determinó que hubo una asociación estadísticamente significativa entre los datos de la citología y la positividad al VPH (Cuadro 4) y dicha

Cuadro 3
Genotipificación de las muestras positivas a VPH

Tipos de VPH	Número de casos	%
16	17	39,53
18	3	6,98
33	1	2,33
NI	8	18,60
Coinfección	14	32,56

NI: No identificado.

asociación también se observó entre los hallazgos citológicos y el genotipo de VPH de alto riesgo (especificidad del 10,1 % y una sensibilidad del 94,7 %) (Cuadro 5). Se encontró que los genotipos 16 y 18 están relacionados con los informes de resultado inflamatorio moderado y severo; por otro lado, el único caso de lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) de alto grado reportado se relaciona con el genotipo 33. Asimismo, una citología normal se corresponde con una ausencia del virus. En estos resultados no se tomaron en cuenta las muestras con genotipos no identificados, coinfección (total: 22) ni muestras insatisfactorias para la citología (total: 23).

También, se demostró asociación significativa entre los resultados de la colposcopia y los genotipos de VPH de alto riesgo (especificidad de 58,5 % y una

Cuadro 5

Hallazgos citológicos y genotipos de alto riesgo del VPH

Citología	Genotipificación de VPH				Total
	VPH negativo	16	18	33	
Normal	24	0	0	0	24
IL	13	0	0	0	13
IM	123	7	1	0	131
IS	76	8	2	0	86
LIE Bajo grado	1	0	0	0	1
LIE Alto grado	0	0	0	1	1
Total	237	15	3	1	256

IL: Inflamatorio leve. IM: Inflamatorio moderado. IS: Inflamatorio severo. LIE: Lesiones intraepiteliales escamosas. (P= 0,000).

Cuadro 4

Hallazgos citológicos y positividad en la detección de VPH

Resultado PCR	Normal	IL	IM	IS	LIE		MI	Total
					Bajo grado	Alto grado		
Negativo para VPH	24 (9,3 %)	13 (5,0 %)	123 (47,7 %)	76 (29,5 %)	1 (0,4 %)	0 (0 %)	21 (8,1 %)	258
Positivo para VPH	0 (0,0 %)	1 (2,3 %)	20 (46,5 %)	19 (44,2 %)	0 (0,0 %)	1 (2,3 %)	2 (4,7 %)	43

IL: Inflamatorio leve. IM: Inflamatorio moderado. IS: Inflamatorio severo. LIE: Lesiones intraepiteliales escamosas. MI: Muestra insatisfactoria. (P= 0,05).

ASOCIACIÓN ENTRE PRESENCIA DEL VPH Y HALLAZGOS ANATOMO-PATOLÓGICOS

sensibilidad del 33,3 %) (Cuadro 6). Los resultados muestran que el tejido normal (66,6 %: 14/21) fue el que presentó la mayor proporción de VPH de alto riesgo. En estos resultados no se tomaron en cuenta las muestras con genotipos no identificados, coinfección (total: 22) ni muestras insatisfactorias para la colposcopia (total: 29).

Cuadro 6

Hallazgos colposcópicos y genotipos de VPH

Cambios colposcópicos	Genotipificación de VPH			
	Negativo	16	18	33
Normal	130	12	1	1
Grado 1	4	2	0	
97				
Grado 2	1	0	0	
2				
Total	229	17	3	1

P <0,05

DISCUSIÓN

La prevalencia de la infección por VPH se estimó en 14,3 % de la muestra aleatoria estudiada, tal resultado es inferior al esperado al comparar estadísticas mundiales, en su mayoría cercanas a 25 % (24,25); y también con respecto al reportado para muestras de mujeres de otras poblaciones venezolanas que oscilan entre 27 %-40 % (13,15,18,20). Recientemente, en un estudio preliminar realizado sobre el estado de la infección por VPH en un grupo de 43 estudiantes de la UC-Sede Aragua, en el cual el 98 % de la población estudiantil estuvo entre 17 y 30 años, se encontró un 34 % de positividad (20). Dichos resultados fueron comparados con los de este trabajo, específicamente, con los del grupo similar ≤ 30 años; los datos obtenidos indicaron que las muestras positivas a VPH de este grupo (20/121) representó el 16,5 %, resultado muy similar al de toda la muestra.

Este resultado fue sorprendente ya que se esperaba que las universitarias estuviesen más informadas y conscientes del problema que las mujeres del

barrio; estos datos pueden explicarse basándose en la hipótesis de la utilización de métodos diferentes para la prevención del embarazo. Existe mayor probabilidad que las universitarias utilicen anticonceptivos orales, el cual es un método que no ofrece protección para el contagio de VPH; mientras que las mujeres del barrio usarían métodos relativamente más económicos, como los de barrera (preservativos), en este sentido se ha reportado que los métodos como el uso del condón disminuyen el riesgo de infección por VPH (3).

En este trabajo, el 48,84 % de genotipos de alto riesgo hallados en las pacientes fue similar al encontrado en un estudio realizado en el Estado Carabobo (17) y diferente a otros estudios realizados en diferentes poblaciones venezolanas. En Mérida el 88 % de las pacientes estaban infectadas con VPH de alto riesgo (12); en estudiantes de la UCV, el 60,75 % de las pacientes presentaron infección por el virus y la mayoría fueron por genotipos de alto riesgo (11), en un estudio que comprendió varias poblaciones venezolanas se observó una alta presencia de VPH de alto riesgo oncogénico (70 %) siendo el principal el genotipo 16 (10). Esto podría explicarse, con excepción de Carabobo, porque las mujeres en estos estados fueron previamente seleccionadas con clínica presuntiva de cáncer de cuello uterino o estaban en control por infección previa por VPH. Sin embargo, un resultado distinto fue hallado en tres estudios anteriores en los estados Aragua (9,20) y Cojedes (15); el porcentaje de genotipos de alto riesgo obtenido (incluyendo uno de mujeres de Aragua con infección viral previa) fue inferior al de este trabajo. Los dos trabajos reportados en el Estado Aragua han sido realizados con un número pequeño de muestras (< 44) y podría no reflejar el patrón de genotipos que están circulando en el estado.

El grupo etario donde se encontró la mayor incidencia correspondió al segmento de 20 a 40 años, lo cual coincide con estudios internacionales (24). En el presente estudio se determinó que los factores de riesgo como el inicio de las relaciones sexuales temprana (<18 años) y más de una pareja sexual, tienen un basamento estadístico firme. Es decir, la infección por VPH está estrechamente relacionada con el comportamiento sexual de las personas. Por tanto, es una necesidad la promoción de campañas de educación sexual en la población y, aunque el empleo del método de barrera (preservativo) para disminuir la transmisión no es totalmente seguro, puede brindar más protección que el uso de anticonceptivos orales (3).

En una revisión sistemática (26) y un metaanálisis (27) se ha demostrado que la detección del VPH de alto riesgo es más conveniente que la citología para tamizaje primario de cáncer cervical. De hecho, la *Food and Drug Administration* (FDA) en 2014 aprobó un ensayo para detectar 14 virus de VPH de alto riesgo el cual se utilizaría para tamizaje primario de cáncer cervical (28). En este trabajo se demostró asociación entre algunos resultados citológicos y la positividad al VPH de alto riesgo. Cuando la citología indicó un tejido normal, hubo 100 % correspondencia con una reacción negativa para PCR; es decir, ausencia de VPH. De la misma forma, una muestra con LIE alto grado resultó positiva a VPH 33, el cual es de alto riesgo. Esto significa que existe una asociación estadísticamente significativa muy fuerte entre estos dos métodos para detectar las pacientes sanas y con signos evidentes de enfermedad (sensibilidad del 94,7 %). Sin embargo, en los casos que presentaron inflamación, la asociación entre los dos métodos disminuyó. Esto se refleja en la baja especificidad (10 %) hallada en la citología. Asimismo, llama la atención el porcentaje relativamente alto de coinfección (32,6 %) que podría indicar la promiscuidad existente en algunas mujeres o sus parejas.

El resultado de la colposcopia, en el cual el tejido normal (66,6 %: 14/21) presentó la mayoría de los genotipos de alto riesgo, coincide con la evolución natural de la enfermedad porque, en los primeros estadios, se produce una infección sin cambios en el epitelio escamoso-glandular, hasta que el virus se integra en el ADN celular y logra la replicación viral, evento que dispara los cambios que pueden ser visualizados por la colposcopia (29). Esto se refleja en una baja sensibilidad (33 %) y una especificidad moderada (53,5 %) en relación con la detección de VPH por PCR.

La Sociedad Americana de Cáncer recomienda hacer un tamizaje para prevención de cáncer de cuello uterino utilizando la citología junto con diagnóstico por PCR a las mujeres > 30 años (30). Sin embargo, esta última prueba no se realiza en los centros públicos de salud de Venezuela de forma rutinaria ya que es costosa y necesita un personal muy calificado e infraestructura adecuada. Para disminuir esta limitación en el país, se podría realizar esta prueba solamente cuando la citología señale casos de inflamación severa. Esto impactaría positivamente en la supervivencia de las pacientes y podría ser sostenible por parte del estado y la comunidad.

AGRADECIMIENTO

A las comunidades del MFLA por su valiosa colaboración en la obtención de la muestra, asimismo al personal del Ambulatorio de Santa Rita, a la Dirección Municipal de Salud de MFLA y la Dirección de Anatomía Patológica dependiente de CORPOSALUD, en el Edo. Aragua. Gracias a los Licenciados: Angélica Jiménez, Elianeé Useche, Ana Fernández, César Pacheco y al TSU José Rivero por la colaboración en una parte del procesamiento de las muestras para el diagnóstico molecular de VPH.

Correspondencia: Flor Herrera flormhq@gmail.com

REFERENCIAS

1. Picconi MA. Detección de virus de papiloma humano en la prevención del cáncer cérvico-uterino. *Medicina* (Buenos Aires). 2013;73:585-596.
2. Bosch FX. Prevalence of Human Papillomavirus in Cervical Cancer: A Worldwide Perspective. *JNCI*. 1995;87:796-802.
3. Winer RL, Hughes J, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat N, Holmes K, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in Young women. *N Engl J Med*. 2006;354:2645-2654.
4. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: A retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010;11:1048-1056.
5. Castellsagué X, Díaz M, de Sanjosé S, Muñoz N, Herrero R, Franceschi S, et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: Implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98:303-315.
6. Adamopoulou M, Kalkani E, Charvalos E, Avgoustidis D, Haidopoulos D, Yapijakis CH. Comparison of Cytology, Colposcopy, HPV Typing and Biomarker Analysis in Cervical Neoplasia. *Anticancer Res*. 2009;29(8):3401-3409.
7. Lieu D. The Papanicolaou smear: Its value and limitations. *J Fam Pract*. 1996;42:391-399.
8. Huntington J, Oliver LM, St Anna L, Hill J. What is the best approach for patient with ASCUS detected on Pap smear? *J Fam Pract*. 2004;53:240-241.
9. Scuceces M, Paneccasio A. Lesión intraepitelial cervical asociada a virus papiloma humano. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2001;61:101-107.
10. Correnti M, Cavazza M, Alfonso B, Lozada C. La infección por el virus de papiloma humano: un problema de salud pública en Venezuela. *VITAE Academia Biomédica Digital* 2002; 13. Disponible

ASOCIACIÓN ENTRE PRESENCIA DEL VPH Y HALLAZGOS ANATOMO-PATOLÓGICOS

- en: <http://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeTrece/Articulos/Infectologia/HTML/>.
11. Alfonso B, Lozada E, Correnti M, Cavazza ME, Michelli P, Salma N. Detección del virus papiloma humano en muestras cervicales de una población de estudiantes de la Universidad Central de Venezuela. *Rev Fac Med*. 2003;26:120-126.
 12. Muñoz M, Mendoza J, Tellez L, Noguera M, Moret O, López M, et al. Detección de VPH-16 y 18 en muestras de cérvix de mujeres que acuden a centros asistenciales de la ciudad de Mérida, Venezuela. *Rev Biomed*. 2003;14:61-68.
 13. Reigosa A, Alvarez M, De Vasconcelo M, Cristin R, Salas W. Diagnóstico del virus papiloma humano en cuello uterino de mujeres que acuden a su consulta anual citológica. *Salus online*. 2004;8:33-42.
 14. Suárez C, Mijares A, Castillo L, Briceño J. Tipificación del VPH en cáncer de cuello uterino en la población venezolana. *Rev Venez Oncol*. 2006;18:221-225.
 15. Contreras L, Correnti M, Avila M, Guerrero A, León A. Virus del papiloma humano (VPH) en contexto ecológico venezolano.(I): diagnóstico citológico y molecular. *Salus*. 2008;12:68-77.
 16. Quintero M, Cruz J, Bastidas M, Márquez L JP. Detección y tipificación de virus del papiloma humano (VPH) mediante PCR- RFLP. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2008;68:25-31.
 17. Araujo E, Barroso S, Cendón A, Muñoz M, Ortunio M, Cardozo R, et al. Infección por virus de papiloma humano en mujeres: hallazgos paraclínicos. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2010;70:82-89.
 18. Somogyi L, Malpica C, Alvarado B, García M. Virus del papiloma humano (VPH) detección y tipificación en la consulta privada. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2010;70:160-166.
 19. Michelli E, Téllez L, Mendoza J-A, Jürgensen C, Muñoz M, Pérez S, et al. Comparative analysis of three methods for HPV DNA detection in cervical samples. *Invest Clin*. 2011;52:344-357.
 20. Sanoja LM. Detección y tipificación del virus del papiloma humano mediante reacción en cadena de polimerasa, en muestras cervicales de estudiantes. Universidad de Carabobo. Venezuela. *Cnud Salud*. 2013;11:1-10.
 21. Capote Negrin L. Aspectos epidemiológicos del cáncer en Venezuela. *Rev Venez Oncol*. 2006;18:269-281.
 22. Rivero J, Zoghbi N, Rubio-Palis Y, Urdaneta L, Herrera F. DNA degradation of *Anopheles darlingi* collected at high relative humidity and preserved in isopropanol. *Bol Malariol Sal Amb*. 2007;47:149-151.
 23. Bornstein J, Bentley J, Bosze P, Girardi F, Haefner H, Menton M, et al. 2011 Colposcopic terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol*. 2012;120:166-172.
 24. Franceschi S, Herrero R, Clifford G, Snijders P, Arslan A, Hoang Anh P, et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. *Int J Cancer*. 2006;119:2677-2684.
 25. Jiang Y, Brassard P, Severini A, Mao Y, Li Y, Laroche J, et al. The prevalence of human papillomavirus and its impact on cervical dysplasia in Northern Canada. *Infect Agent Cancer*. 2013;8:25.
 26. Huh W, Ault K, Chelmow D, Davey D, Goulart R, Garcia F, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: Interim clinical guidance. *Obstet Gynecol*. 2015;125:330-337.
 27. Bruni L, Diaz M, Castellsague´ X , Ferrer E, Bosch X, de Sanjose´ S. Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings. *JID*. 2010;202:1789-1799.
 28. U.S. Food and Drug Administration. 2014. FDA approves first human papillomavirus test for primary cervical cancer screening News & Events. Disponible en <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm394773.htm>.
 29. Zamudio A, Zepeda J, Rodríguez B, Tenorio R. Evaluación del Papanicolaou y la colposcopia en el diagnóstico de la infección por el virus del papiloma humano. *Rev Fac Med UNAM*. 2001;44:5-7.
 30. American Cancer Society. Cervical Cancer: Prevention and Early Detection. Copyright American Cancer Society. 2013. Disponible en: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003167-pdf>.