

Test de VPH (captura de híbridos II) en pacientes tratadas con radiofrecuencia

Miguel Castaño Ignacio,* Gabino Hurtado Estrada **

RESUMEN

Introducción: El virus del papiloma humano (VPH) es el más comúnmente transmitido por vía sexual. Existen métodos de biología molecular para la detección de este virus. De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-014-SSA2-1994, las pruebas moleculares como la captura de híbridos y la PCR han de utilizarse como complemento de la citología, tanto en el screening como en el seguimiento después de los seis meses de realizado el manejo. **Objetivo:** Conocer el porcentaje de negativización del test de VPH en las mujeres tratadas por lesiones preinvasoras del cervix en el Servicio de Colposcopia, del Hospital de Ginecología y Obstetricia del Instituto Materno Infantil del Estado de México. **Material y métodos:** Se incluyeron las pacientes con diagnóstico de lesión preinvasora del cervix tratadas con radiofrecuencia. A los seis meses se les hizo test de VPH (captura de híbridos II). Se obtuvo la muestra cervicouterina mediante el cervical sampler de QUIAGINE en la lesión colposcópicamente visible o en su defecto de la zona de transformación en donde estuvo dicha lesión. Una vez en procesamiento, se realizó liberación y desnaturización de los ácidos nucleicos. **Resultados:** Se estudiaron 80 pacientes con lesiones preinvasoras de cervix tratadas con radiofrecuencia. La negativización del test de DNA HPV HC II a los seis meses fue de 91.25%. **Conclusiones:** El porcentaje de test de VPH negativo alcanzado en nuestra investigación está dentro del nivel aceptado en los estándares internacionales. Es necesario realizar más estudios enfocados en este tema.

Palabras clave: Virus del papiloma humano, test de VPH, captura de híbridos II.

ABSTRACT

Introduction: Human papillomavirus (HPV) is the virus most commonly transmitted through sex. There are methods for detecting molecular biology of this virus. According to the Mexican Official Standard NOM-014-SSA2-1994, molecular tests such as Hybrid Capture and PCR be used as an adjunct to cytology in both the screening and in follow-up after six months after the management. **Objective:** To determine the percentage of negative HPV test in women treated for preinvasive lesions of the cervix in the Colposcopy Service at the Hospital of Gynecology and Obstetrics, Maternal and Child Health Institute of Mexico State. **Material and methods:** We included patients with preinvasive lesions of the cervix treated with radiofrequency. At six months were asked HPV test (Hybrid Capture II). Cervical sample was obtained by QUIAGINE Cervical Sampler colposcopically visible in the lesion or defect in the processing area where the injury was. Once processing is performed release and denaturation of nucleic acids. **Results:** We studied 80 patients with preinvasive lesions of the cervix treated with radiofrequency. Negativization HPV DNA Test HCII at six months was 91.25%. **Conclusions:** The percentage of negative HPV test achieved in our research is within the accepted level in international standards. Further studies are needed that focus on this issue.

Key words: Human papillomavirus, HPV test, hybrid capture II.

INTRODUCCIÓN

Durante la década de 1990 aparecieron numerosos estudios epidemiológicos apoyados en estudios moleculares que ponían de manifiesto el papel causal de algunos serotipos del virus del papiloma humano (VPH) en el desarrollo del cáncer cervical y sus lesiones precursoras.¹ En 1995, la International Agency of

* Exresidente de Ginecología y Obstetricia.

** Especialista en Ginecología y Obstetricia y en Oncología Ginecológica. Adscrito al Servicio de Colposcopia.

Hospital de Ginecología y Obstetricia. Instituto Materno Infantil del Estado de México.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/maternoinfantil>

Research on Cancer (IARC) catalogó los genotipos VPH 16 y 18 como carcinógenos humanos.² Posteriormente, en el 2003, nuevos estudios de la IARC incorporaron como carcinógenos a los tipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82 y como probablemente oncogénicos los tipos 26, 53 y 66.³ El VPM ha sido propuesto como la primera causa necesaria en un cáncer humano. Es decir, que el cáncer cervical no se desarrolla sin la presencia persistente del ADN del VPH.⁴

IMPORTANCIA DEL CÁNCER CERVICAL

El cáncer cervical es el séptimo cáncer más frecuente a nivel mundial y en las mujeres es el segundo después del cáncer de mama. Representa un 12% de todos los cánceres en mujeres. Los últimos datos estadísticos sobre la incidencia de cáncer a nivel mundial son del año 2002 y se publicaron en 2005.⁵ Se estima que durante el 2002 se diagnosticaron 493,000 nuevos casos de cáncer cervical y se produjeron 274,000 fallecimientos. Se calcula que alrededor de 1.4 millones de mujeres viven con un cáncer cervical invasivo.⁶ La incidencia es superior en países en desarrollo ya que el 83% de casos ocurre en dichos países y en ellos es la principal causa de mortalidad por cáncer en la mujer. Mientras que en los países en desarrollo el cáncer corresponde a un 15% del total de cánceres en las mujeres y un riesgo antes de los 65 años del 1.5%, en los países desarrollados corresponde a un 3.6% y un riesgo del 0.8%. Las mayores incidencias las encontramos en el África Subsahariana, Melanesia, América Latina, Caribe y Asia centrosur y sudeste. La edad media de las pacientes al diagnóstico es de 47 años en Norte América.

La mayoría de casos de cáncer cervical (83%) corresponde a carcinomas escamosos invasivos (CEI) y en una pequeña proporción se trata de un adenocarcinoma (17%).

Desde que en la década de 1990 se demostró que la infección por VPH era causa necesaria para el desarrollo del cáncer cervical se han ido introduciendo nuevos métodos de estudio para mejorar la sensibilidad y especificidad de los estudios citológicos. Actualmente se están introduciendo los estudios citológicos en capa fina y los estudios moleculares para detección de VPH.^{6,7}

PREVALENCIA DEL VPH

En un metaanálisis con una población de estudio a nivel mundial de 157,879 mujeres sanas sin alteraciones en los estudios citológicos se presentó una prevalencia de VPH positivo del 10.4%. La tasa era del 8.4% en los países desarrollados y del 13.4% en aquellos en vías de desarrollo. La prevalencia del VPH 16 entre aquellas mujeres fue del 2.6%. A nivel mundial, los cinco VPH más frecuentes fueron los genotipos

16, 18, 58, 51 y 52, mientras que en Europa fueron los 16, 18, 31, 33 y 58. La prevalencia en mujeres jóvenes se acercaba al 30%, disminuyendo en la temprana madurez y aumentando entre los 35 y 55 años. Este segundo pico de mayor prevalencia se da en América del Norte entre los 35 y 45 años, mientras que en Europa se produce entre los 45 y 55 años. Los motivos de esta discordancia se cree que son debidos más a factores de comportamiento sexual diferente en los dos grupos poblacionales que a factores relacionados con el propio VPH. Según datos aportados por este trabajo, se estiman 291 millones de mujeres portadoras de VPH a nivel mundial.⁸⁻¹⁴

La prevalencia del VPH es de aproximadamente un 50% en ASCUS y oscila entre el 20-50% en lesiones de bajo grado y el 70-90% en lesiones de alto grado, siendo más frecuente en CIN 3 que en CIN 2.^{15,16} La prevalencia del VPH 16 en SIL a Europa es de 51.8% mientras que a nivel mundial es de 45.4%. A continuación vienen los VPH 31, 33, 58 y 18.

La prevalencia del VPH en cáncer cervical⁹⁻¹² es de prácticamente el 100% y de éstos un 70% son causados por VPH 16 ó 18.

En un excelente trabajo realizado en mujeres colombianas durante un periodo de más de cinco años, se demostró que el tiempo de aclaramiento de la infección con VPH (tiempo de resolución de la infección por VPH y que por tanto dejamos de detectar el virus mediante estudios moleculares de DNA) ocurre principalmente durante los dos primeros años después de la primera detección del VPH, con casi un 80% de aclaramiento durante el primer año. Posteriormente, al segundo año es muy raro que ocurra dicho aclaramiento. Otro dato muy interesante de dicho estudio es que la tasa de aclaramiento para VPH 16 es mucho menor que para el resto de VPH de alto o bajo riesgo, como también ya se había detectado en otros estudios.¹⁷⁻¹⁹

Las infecciones por VPH de bajo riesgo se resuelven de forma espontánea. Las lesiones que contienen virus de alto riesgo persisten más tiempo y progresan más rápido.²⁰ Algunas lesiones se iniciaron como lesiones de alto riesgo.

DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Entre los métodos que se han desarrollado para el diagnóstico de las infecciones por VPH genital destacan:

- Ensayo con base a reacción de polimerasa de cadena (PCR-based assay-Amplicor VPH; Roche Diagnostic, Basel, Switzerland), disponible actualmente en Europa. Identifica a 30 genotipos, incluyendo 13 de alto riesgo u onceogénicos.
- Reacción de polimerasa en cadena y ADN/ARN viral mediante la prueba de captura de híbridos 2 (Hybrid capture 2-HC"; Digene, Gathesburg, MD, EUA).

- Prueba rápida en lote (menos de dos horas) para detectar por lo menos 13 genotipos oncovíricos.
- El Programa para la Tecnología Apropriada para la Salud (PATH), en colaboración con Arbor Vita Corporation (EUA), está desarrollando una segunda prueba, una tira de flujo lateral, para la detección de la proteína E6 en los tipos oncovíricos de VPH, en menos de 20 minutos.²¹

El Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología ha publicado una guía para la utilización de estas técnicas y recomendaciones para la interpretación de resultados, en conjunto con resultados citopatológicos y tecnología en el diagnóstico celular.^{3,4}

MÉTODOS DE DETECCIÓN DEL VPH

La detección de la infección por VPH puede realizarse mediante distintos métodos, los que podemos clasificar, básicamente, en tres grupos:

1. Diagnóstico morfológico. Identificación morfológica de las alteraciones citopáticas producidas por el virus VPH en las células escamosas, las cuales pueden observarse tanto en el examen citológico como en el estudio histológico.^{2,9,22}
2. Detección de proteínas del VPH (método inmunohistoquímico).^{2,18,23}
3. Detección de secuencias genómicas del VPH (técnicas de biología molecular).

Estas técnicas consisten en un análisis cualitativo del DNA. Todas ellas se basan en la detección específica de secuencias de DNA del VPH en tejido o bien en tomas de material procedente del área a estudiar (cervix), y permiten, por tanto, identificar el tipo de virus presente en la lesión. Básicamente, todas ellas consisten en enfrentar el DNA de una determinada muestra con un fragmento conocido de un ácido nucleico cuya secuencia es complementaria a la secuencia de DNA que intentamos detectar. Dicho fragmento se denomina *sonda* y el proceso *hibridación*.^{2,17,18}

Existen numerosas técnicas de análisis cualitativo del DNA y una gran diversidad de variaciones y modificaciones de estas técnicas. Estas técnicas presentan diferencias en cuanto a su sensibilidad, complejidad y reproductibilidad. Algunas se encuentran disponibles comercialmente. Las técnicas más empleadas en el estudio de VPH son:

- a) **Hibridación *in situ*.** Consiste en aplicar sondas complementarias marcadas con sustancias radiactivas o con colorantes que permitan su posterior visualización sobre un corte del tejido problema o sobre una extensión citológica.²³⁻²⁵
- b) **Reacción en cadena de polimerasa (PCR).** Su fundamento consiste en aplicar un proceso que multiplica el número de copias de un segmento de

DNA si está presente en la muestra. Este proceso, que se conoce como amplificación, se produce mediante la reacción en cadena de la polimerasa; es una técnica extraordinariamente sensible capaz de detectar la presencia de muy pocas copias de DNA del virus (entre 10 y 100 en cada muestra), aunque estén presentes en una sola célula de entre varias miles.^{26,27}

- c) **Captura de híbridos.** En esta técnica se utilizan sondas de RNA capaces de detectar varios tipos de VPH. Cuando la muestra presenta infección vírica se produce un híbrido RNA-DNA que es capturado por un anticuerpo específico contra híbridos y detectado mediante una reacción tipo ELISA que utiliza un compuesto quimiluminiscente para revelar la reacción y que proporciona incluso información sobre la cantidad de DNA viral presente en la muestra, que parece tener relación con la presencia de lesiones de alto grado.²⁸ La técnica dispone de dos sondas: una para virus de bajo riesgo y otra para virus de alto riesgo, aunque una práctica habitual consiste en aplicar únicamente la sonda para detección de virus de alto riesgo, con lo cual se reducen notablemente los costos. El test Hybrid Capture II permite detectar cinco virus de bajo riesgo (6, 11, 42, 43, 44) y 13 tipos de riesgo alto o intermedio (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68), involucrados en el 90% de casos de carcinoma de cervix.²⁹

La identificación del VPH en prácticamente la totalidad de las lesiones premalignas y malignas del cervix uterino y la existencia de algunos tipos específicos asociados casi constantemente a las lesiones de alto grado e infiltrantes, han despertado el interés por los diferentes métodos de detección e identificación del mismo y su posible aplicación en el estudio y seguimiento de estas lesiones, incluso como método de cribado poblacional.

Las técnicas de alta sensibilidad para la detección del VPH como la PCR o la captura de híbridos son capaces de detectar la presencia de cantidades mínimas de DNA viral y aumentan la sensibilidad de los métodos de cribado clásicos, al poner de manifiesto algunas lesiones de alto grado no detectadas con la citología. Como contrapartida, estas técnicas detectan un número elevado de casos con infecciones no progresivas y con infección latente cuya evolución desconocemos, pero que probablemente se resuelvan en gran parte de forma espontánea.^{6,30} Estas técnicas, cada vez más sencillas y específicas, parecen tener un importante futuro como complemento de la citología, al menos en algunos grupos escogidos de pacientes y ya han sido comercializados métodos que permiten realizar estudio citológico y virológico en la misma muestra.³¹ Sin embargo, el gran inconveniente de estos métodos es su elevado precio. La detección y tipificación de VPH por métodos como la PCR o la captura de híbridos podrían ser utilizados en forma selectiva en los siguientes casos:

- Clarificación de los casos con citología atipia de significado incierto (ASCUS).
- Seguimiento de pacientes tratados por lesiones cervicales.
- Detección de mujeres mayores o mujeres con factores de riesgo que, tras repetidas citologías negativas, no necesitan continuar con el programa de cribado.

Algunos estudios han planteado la utilidad de la determinación del VPH en el cribado poblacional, como método de detección primario, aunque son necesarios más estudios para demostrar su verdadera utilidad y costos.

La NOM-014-SSA-1994, modificada en octubre de 2007, menciona que en las pacientes con diagnóstico histopatológico de LEIBG y en quienes se realizó tratamiento conservador (criocirugía, electrocirugía, laserterapia), se puede llevar seguimiento por pruebas de biología molecular a los 6, 12 y 24 meses.³²

ELECTROCIRUGÍA

La electrocirugía es la aplicación de electricidad por medio de radiofrecuencia sobre un tejido para obtener un efecto clínico deseado; principalmente, cortar el tejido. Esta electricidad genera calor en el mismo tejido, es decir, no es necesario aplicar calor desde una fuente externa para calentar el tejido sino que la electricidad hace que el tejido se caliente debido a su propia impedancia. Este método presenta una gran ventaja y es que el paciente sangra en mucha menor cantidad que en las cirugías donde se utilizan instrumentos cortantes tradicionales; también implica menor duración de las cirugías y facilidades para el médico que al mantener limpia el área de trabajo puede realizar el procedimiento con mayor facilidad.

Los objetivos del estudio fueron: conocer el porcentaje de negativización del test de VPH en las mujeres tratadas por lesiones preinvasoras del cervix en el Hospital de Ginecología y Obstetricia del Instituto Materno Infantil del Estado de México; y comparar el panorama epidemiológico de las mujeres que salieron negativas vs positivas del test de VPH tratadas por lesiones preinvasoras del cervix.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, descriptivo y transversal. Se incluyeron las pacientes con diagnóstico de lesión preinvasora del cervix tratadas con radiofrecuencia en el Servicio de Colposcopia del Hospital de Ginecología y Obstetricia del Instituto Materno Infantil del Estado de México. El estudio se realizó del 1 de julio al 30 de octubre de 2010.

Se obtuvo la muestra cervicouterina mediante el Cervical Sampler de QUIAGINE en la lesión colposcópicamente visible o en su defecto de la zona de transformación en donde estuvo dicha lesión; se depositó en el medio de transporte (Specimen Transport Medium) de QUIAGINE. Se transportó en medio frío —como preferentemente suele hacerse: a 4 °C hasta su procesamiento—. La duración fue de dos horas y media.

Una vez procesada la muestra, se realizó liberación y desnaturaleza de los ácidos nucleicos. Se dispuso de una sonda con RNA para formar un híbrido con DNA extraído; en una fase sólida se capturaron los híbridos RNA-DNA, los cuales pasaron a una reacción híbrida con múltiples conjugados de anticuerpos, los que posteriormente, y para finalizar, pasaron a una detección mediante quimioluminiscencia amplificada para determinar negatividad o positividad hacia el virus.

Los datos se recabaron en una hoja recolectora de datos previamente diseñada para el estudio.

Se analizaron los datos con SPSS versión 15 para Windows; se obtuvo estadística descriptiva, con medidas de tendencia central y dispersión, para variables cuantitativas media y desviación estándar y para variables cualitativas nominales frecuencia y porcentajes.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Enseñanza, Investigación, Capacitación y Ética del Hospital de Ginecología y Obstetricia del IMIEM.

RESULTADOS

Se estudiaron 80 pacientes con lesiones preinvasoras de cervix tratadas con LEEP, de las cuales siete (8.75%) eran HPV (+) y 73 (91.25%) HPV (-). El rango de edad más frecuente de estas pacientes fue de 41 a 50 años

Cuadro I. Distribución de la población según la edad.

Edad	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
20-30	2	2.50	20	25.00	22	27.50
31-40	1	1.25	18	22.50	19	23.75
41-50	2	2.50	25	31.25	27	33.75
51-60	2	2.50	8	10.00	10	12.50
Más de 60	-	-	2	2.50	2	2.50
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00

Cuadro II. Características sociodemográficas de la población.						
Característica	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
Estado civil						
Soltera	5	6.25	22	27.50	27	33.75
Casada	2	2.50	51	63.75	53	66.25
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00
Educación	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
Básica	2	2.50	14	17.50	16	20.00
Media	3	3.75	45	56.25	48	60.00
Superior	2	2.50	14	17.50	16	20.00
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00
Tabaquismo	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
Fumadora	5	6.25	14	17.50	19	23.25
No fumadora	2	2.50	59	73.75	61	76.25
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00
Procedencia	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
Urbano	2	2.50	19	23.75	21	26.25
Rural	5	6.25	54	67.50	59	73.75
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00

Cuadro III. Características ginecológicas y obstétricas de la población.						
Característica	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
Edad primera relación sexual	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
< 17	-	-	14	17.50	14	17.50
17-18	-	-	17	21.25	17	21.25
19-20	5	6.25	34	42.50	39	48.75
> 20	2	2.50	10	12.50	12	15.00
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00
Número de parejas de la mujer	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
1	2	2.50	13	16.25	15	18.75
2-3	4	5.00	39	48.75	43	53.75
> 4	1	1.25	21	26.25	22	27.50
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00
Número de partos	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
1	2	2.50	7	8.75	9	11.25
2-3	4	2.50	43	53.75	47	58.75
> 4	1	1.25	23	28.75	24	30.00
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00
Anticonceptivos	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
Sí	1	1.25	12	15.00	13	16.25
No	6	7.50	61	76.25	67	83.75
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00

(33.75% y el menos frecuente en mayores de 60 años (2.5%) (*Cuadro I*).

Las características sociodemográficas las podemos observar en el *cuadro II*. El mayor número de

casos de enfermedad residual se encontró dentro del grupo de las pacientes solteras (71.4% de la enfermedad residual), ocupando el 6.25% de la población total, coincidiendo en cifra con las pacientes fuma-

Cuadro IV. Distribución de la población según NIC en la población estudiada.						
NIC	HPV (+)	%	HPV (-)	%	Total	%
NIC I	4	5.00	23	28.75	22	33.75
NIC II	2	2.50	24	30.00	26	32.50
NIC III	1	1.25	26	32.50	27	33.75
Total	7	8.75	73	91.25	80	100.00

Cuadro V. Distribución de la población según la negativización del test de VPH de la población.

Tipo de VPH	Número	%
Negativo	73	91.25
Positivo	7	8.75
Total	80	100.00

doras (71.4% de la enfermedad residual). La mayoría de las pacientes provienen del medio rural (73.75%) y tienen un nivel educativo medio (60%).

En el cuadro III se muestran las características ginecológicas y obstétricas de la población estudiada. El 71.4% de las pacientes con enfermedad residual inició vida sexual entre los 19 y 20 años; no se encontró enfermedad residual en pacientes que iniciaron vida sexual antes de esta edad. El 57.1% de las pacientes con enfermedad recurrente tuvo dos a tres parejas sexuales y sólo 14.1% más de cuatro. El grupo de pacientes multíparas presentó el porcentaje de enfermedad residual más bajo con 14.1%. El 85% de las pacientes con enfermedad residual no tuvo el antecedente de estar bajo tratamiento con anticonceptivos.

La distribución de la NIC entre las pacientes estudiadas no tuvo diferencias significativas ya que se encontraron porcentajes muy similares de presentación en la población estudiada: NIC I 33.75%, NIC II 32.5%, NIC III 33.75%. El 57% de las pacientes con enfermedad residual tenía diagnóstico histológico de NIC I contra el 14.2% de NIC III (Cuadro IV).

La negativización del test de DNA HPV HC II a los seis meses fue de 91.25%, lo cual coincide con lo reportado en la literatura (75-95%), que apegados a los estándares de calidad podemos decir que estamos dentro de lo que marca la norma, así como los diferentes consensos (Cuadro V).

DISCUSIÓN

La detección del DNA de virus del papiloma humano ha demostrado gran utilidad en el seguimiento de las pacientes tratadas por lesiones preinvasoras del cervix; así mismo, se ha tomado también como

marcador de curación después del tratamiento. Esto se basa en el conocimiento de que si no se detecta el DNA del VPH en un grupo de pacientes, la probabilidad de recurrencia es muy baja. Las fallas en el manejo de las lesiones preinvasoras en términos medios puede llegar al 15% de enfermedad residual o recurrencia, lo que obliga a seguir estrictamente a éstas después de un tratamiento conservador.

El test Hybrid Capture II para VPH-AR es capaz de detectar con gran sensibilidad los casos de H-SIL o carcinoma con un 94.7% de casos positivos en nuestra experiencia (Cuadro II). Aunque la mayor parte de los estudios publicados corresponden ya sea a análisis de casos de ASCUS o bien a cribado poblacional primario, la sensibilidad referida en los mismos es similar a la de la presente serie, variando entre el 83.9 y 100%. Así, la sensibilidad de esta técnica para el diagnóstico de H-SIL es netamente superior a la sensibilidad de la citología convencional, que se sitúa en la mayoría de las series en alrededor del 70%. Resulta especialmente destacable el alto valor predictivo-negativo de esta técnica para la existencia de H-SIL o carcinoma, que en nuestra serie se ha situado en el 96.5%, porcentaje similar al de las series publicadas. Por tanto, la detección de VPH-AR mediante Hybrid Capture II puede ser de utilidad en la evaluación de pacientes referidas por lesiones citológicas, puesto que su negatividad permite excluir con un elevado grado de certeza la existencia de una lesión premaligna de alto grado o de un carcinoma invasor y remitir de nuevo a estas mujeres a la asistencia primaria.²¹

La detección de VPH-AR usando esta técnica en los casos de L-SIL resulta en un elevado porcentaje de positividad, que en nuestra experiencia es del 86%, porcentaje muy semejante al observado en el estudio ALTS (82.9%) y al de Bergeron y cols.^{1,3} Parece claro, por tanto, que la mayoría de los casos de L-SIL en nuestro medio están causados por VPH-AR, y que esta técnica tiene una escasa utilidad en la práctica clínica para la selección de pacientes con L-SIL con riesgo-progresión.^{2,33}

La utilidad de las técnicas moleculares de detección del VPH-AR más contrastada en la literatura es la orientación clínica de las pacientes con citología de ASCUS. En nuestra experiencia, la negatividad del VPH prácticamente descarta la existencia de lesión cervical, mientras que la positividad permitió iden-

tificar a pacientes con alta probabilidad de lesión cervical (64% de lesiones intraepiteliales) y salvo una única excepción, todos los casos de H-SIL fueron positivos para VPH (valor predictivo negativo para este grupo de 98.2%).²⁵ Nuestros datos, similares a los de la literatura, apoyan la utilización de la técnica de captura de híbridos en el manejo de estas pacientes.

Por último, Hybrid Capture proporciona una cuantificación de VPH. En nuestra experiencia existe un incremento progresivo de carga viral evaluada en unidades lumínicas relativas (ULR), paralelo a la gravedad de la lesión. Niveles superiores a 100 ULR se asocian a lesión cervical en más del 90% de los casos y esta asociación fue prácticamente constante para niveles superiores a 1,000 ULR. Por el contrario, un elevado porcentaje de casos con determinaciones inferiores a las 10 ULR no presentan lesión cervical. Los resultados de las escasas series de la literatura en las que se evalúa este aspecto, concuerdan con nuestros datos. Sin embargo, la presencia de una baja carga viral no debe considerarse excluyente de lesión grave, puesto que un porcentaje significativo de pacientes con diagnóstico de H-SIL o carcinoma presenta niveles de detección inferiores a 100 ULR (30% de H-SIL y 46% de carcinomas invasores) o incluso inferiores a las 10 ULR (sólo un 8% de los H-SIL pero hasta un 15% de los carcinomas invasores). Es importante reseñar en este sentido que aunque los datos de carga viral obtenidos mediante la técnica Hybrid Capture son indudablemente orientativos, esta cuantificación solamente indica un número de copias virales que no puede ser corregida en función del número de células obtenida en la misma, sobre lo cual la técnica no aporta datos.^{2,21,23}

Un estudio³¹ de Ordóñez y cols. evidenció cuál era la mejor estrategia de seguimiento en las pacientes con lesiones de NIC; los autores compararon al test de VPH HCII contra el estado de los márgenes, así como la citología cervicovaginal, donde evidenciaron que el valor predictivo negativo para el primero alcanzó hasta el 98%, muy superior al de los otros dos métodos, en tanto que cuando se asocia con citología alcanza el 99%, por lo que tiene una gran aplicación clínica para descartar el riesgo de recurrencia o persistencia. Ello ha evidenciado que el esquema de seguimiento, con test de HPV, se realice a los seis meses, porque si los test de VPH son negativos a partir de los seis meses de tratamiento, el riesgo de persistencia de lesión es prácticamente nulo y en caso de ser positivo el riesgo de recurrencia es de 52%. No obstante, si un test es negativo y posteriormente se encuentra una recidiva lo más seguro es que se trate de una reinfección.

En esta serie, en el periodo de estudio se obtuvo una muestra de 80 pacientes que tuvieron seguimiento posterior a la conización por una lesión preinvasora; cabe mencionar que en todas ellas el estado de los bordes eran negativos. En nuestro estudio en-

contramos que la edad promedio fue de 32.3 años, a diferencia de la serie presentada por Nanda y cols.²⁵ en la muestra, con una edad de 38.75 años. Kreimer y cols.² en 686 pacientes encontraron una edad media de 24.3 años, lo cual coincide con nuestra serie.

Cuando analizamos en nuestra investigación el número de gestaciones, concluimos que las secundigestas y las trigestas son las poblaciones con mayor predominio en las pacientes con test de VPH negativo, al igual que lo reportado por Solom³⁶ con dos gestaciones. Así mismo, el inicio de la vida sexual se presentó con mayor frecuencia en la población de 18 a 19 años y en menor proporción en las pacientes con inicio de vida sexual menor a los 17 años. Podemos también evidenciar que el tabaquismo fue un factor con mayor presencia en las pacientes con test de VPH positivos. Aquí, dentro de los factores de riesgo que encontramos también está el medio geográfico de donde provienen las pacientes, ya que el test de VPH positivo fue más común en las pacientes de población rural, al igual que lo manifestado en el estudio de Díaz y cols.⁹ donde 57.47% de las pacientes VPH positivas al test provenían de este medio.

Cuando vemos la distribución en nuestra serie de los resultados del test de VPH positivo de acuerdo al grado de NIC mostramos que la NIC I fue la más frecuente, a diferencia de la serie de Nanda²⁵ donde la NIC I fue la de más bajo porcentaje, con un 5.2%. La explicación a ello es que nosotros tratamos también con radiofrecuencia a las lesiones de bajo grado, siendo la principal causa la falta de apego por parte de la paciente; dicho autor muestra en su serie hasta un 63.6% del total de casos de NIC III, mientras que en nuestra serie de estudio el porcentaje fue el más bajo.

De los resultados obtenidos podemos manifestar, basándonos en las recomendaciones de los diferentes consensos en nuestro país, como el Consenso Mexicano de expertos en Colposcopia en la última edición en 2008, que el test de VPH es una forma de seguimiento posterior a un tratamiento conservador indispensable como factor pronóstico de la evolución de la enfermedad. El consenso europeo para el seguimiento de las lesiones, marca como un estándar de control de calidad el tener un 85% o más de negatividad del test de VPH, por lo que al conseguir nosotros el 91.25% podemos asegurar que estamos cumpliendo con un estándar de calidad e idoneidad en lo que se refiere a clínicas de colposcopia.

CONCLUSIONES

1. El porcentaje de test de VPH negativo alcanzado en nuestra investigación está dentro del nivel aceptado en los estándares internacionales.
2. Las lesiones clasificadas como NIC I son las más frecuentes en nuestro medio, y presentan la mayor frecuencia de positividad, por lo cual debemos tener un seguimiento más estrecho de las mismas,

- aun cuando en otros medios éstas no sean tratadas como en el nuestro.
3. La radiofrecuencia con escisión completa de la zona de transformación es un método de tratamiento eficaz en las lesiones preinvasoras de cervix.

Es necesario realizar más estudios enfocados a esta temática con el fin de tener una muestra más grande y poder predecir, mediante el test de VPH, el pronóstico en la evolución de las lesiones preinvasoras del cervix.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALTS Group. Human papillomavirus testing for triage of women with cytologic evidence of low-grade squamous intraepithelial lesions: baseline data from a randomized trial. The atypical squamous cells of undetermined significance/low-grade squamous intraepithelial lesions triage study (ALTS) group, *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 397-402.
2. Kreimer AR, Katki HA, Schiffman M, Wheeler CM, Castle EP. Viral determinants of human papillomavirus persistence following loop electrical excision procedure treatment for cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 11-16.
3. Bergeron C, Jeannel D, Poveda J, Cassonnet P, Orth G. Human papillomavirus testing in women with mild cytologic atypia, *Obstet Gynecol* 2000; 95: 821-827.
4. Bosch FX, de Sanjósé S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality, *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 3-13.
5. Castle PE, Wacholder S, Sherman ME, Lorincz AT, Glass AG, Scott DR et al. Absolute risk of a subsequent abnormal pap among oncogenic human papillomavirus DNA-positive, cytologically negative women, *Cancer* 2002; 95: 2145-2151.
6. Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangeonjean C, Lorenzato M et al. Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7,932 women, *Br J Cancer* 2001; 84: 1616-1623.
7. Iftner T, Villa LL. Chapter 12: Human papillomavirus technologies, *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 80-88.
8. Nam K, Chung S, Kim J, Jeon S, Bae D. Factors associated with HPV persistence after conization in patients with negative margins, *J Gynecol Oncol* 2009; 20: 91-95.
9. Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, Shieh-Ngai J, Kurman RJ, et al. Identifying women with cervical neoplasia: using human papillomavirus DNA testing for equivocal Papanicolaou results, *JAMA* 1999; 281: 1605-1610.
10. Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: A meta-analysis, *Obstet Gynecol* 1998; 91: 626-631.
11. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjósé S, Herrero R, Castellsqué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. International agency for research on cancer multicenter cervical cancer study group. epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer, *N Engl J Med* 2003; 348: 518-527.
12. Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matcher DB. Accuracy of Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review, *Ann Int Med* 2000; 132: 810-819.
13. National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses, *JAMA* 1989; 262: 931-934.
14. Ordi J, Puig-Tintore LM, Torne A, Sanz S, Esteve R, Romagosa C, Cardesa A. Contribución de la detección de virus del papiloma humano de alto riesgo al estudio de las lesiones premalignas y malignas del cervix uterino, *Med Clin (Barc)* 2003; 121: 441-445.
15. Koutsy LA, Ault KA, Wheeler CM, Brown DR, Barr E, Alvarez FB et al. A controlled trial of a human papillomavirus type 16 vaccine, *N Engl J Med* 2002; 347: 1645-1651.
16. Lorincz AT, Castle PE, Sherman ME, Scott DR, Glass AG, Wacholder S et al. Viral load of HPV and risk of Cin3 or cervical cancer, *Lancet* 2002; 360: 228-9.
17. Pirog EC, Kleter B, Olgac S, Bobkiewicz P, Lindeman J, Quint WG et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma, *Am J Pathol* 2000; 157: 1055-62.
18. Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti MC, Wacholder S et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a High-risk province of Costa Rica, *JAMA* 2000; 283: 87-93.
19. Schiffman M, Kjaer SK. Chapter 2: Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia, *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 14-19.
20. Schlecht NF, Platt RW, Duarte-Franco E, Costa MC, Sobrinho JP, Prado JC et al. Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia, *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1336-43.
21. Solomon D. Chapter 14: Role of triage testing in cervical cancer screening, *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 97-101.
22. Kinney WK, Manos MM, Hurley LB, Ransley JE. Where's the high-grade cervical neoplasia? The importance of the minimally abnormal Papanicolaou diagnoses, *Obstet Gynecol* 1998; 91: 973-976.
23. Salomon D, Schiffman M, Tarone R, an the ALTS Study Group 2001. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from randomized trial, *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 293-299.
24. Staebler A, Sherman ME, Zaino RJ, Ronnett BM. Hormone receptor immunohistochemistry and HPV *in situ* hybridization are useful for distinguishing endocervical and endometrial adenocarcinomas, *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 998-1006.
25. Torne A, Ordi J, Puig-Tintore LM, Jou P, Sánchez E, Muntané J, Iglesias X. Determinación del papiloma virus mediante hibridación *in situ*. Correlación clinicopatológica y virológica en pacientes con lesiones escamosas intraepiteliales del cervix uterino, *Med Clin (Barc)* 1997; 109: 691-695.
26. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Conner D, Prey M et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology, *JAMA* 2002; 287: 2114-2119.
27. Torné A, Puig-Tintoré LM, Jou P, Ordi J, Solé M, Sánchez E, Iglesias. X. Concordancia diagnóstica entre citología, colposcopia y pequeña biopsia dirigida en pacientes con lesiones escamosas del cervix uterino, *Prog Obstet Gynecol* 1996; 39: 520-528.

28. Wright TC Jr, Denny L, Kuhn L, Pollack A, Lorincz A. HPV DNA testing of self-collected vaginal samples compared with cytologic screening to detect cervical cancer, *JAMA* 2000; 283: 81-86.
29. Barrón A, Aranda C, Valenzuela S, Paredes Y, Villegas H. Infección cervical por el virus papiloma humano: genotipificación por hibridación *in situ* y análisis ultraestructural por microscopía electrónica de transmisión, *Perinatol Reprod Hum* 2004; 18: 208-216.
30. Ruiz CJC, Burgos GR, García RL, Sinche SM, Almeida F. Detección y genotipificación del papiloma virus humano, *Revista Científica Colposcopia* 2008; 1 (1): En: <http://www.medicosecuador.com/revistacolposcopia/vol1num1/articulosoriginales/detecciongenotipificacion.html>.
31. Ordóñez RM, Espinosa AM, Sánchez-González DJ, Armandáriz-Borunda J, Berumen J. Enhanced oncogenicity of Asian-American human papillomavirus 16 is associated with impaired E2 repression of E6/E7 oncogene transcription, *J Gen Virol* 2004; 85: 1433-1444.
32. Norma Oficial Mexicana NOM-014-SSA2-1994. *Para la prevención, tratamiento y control del cáncer de cuello del útero y de la mama en la atención primaria*.
33. De Luca GD, Alonso JM, Lucero RH, Martín de Civetta MT, Zibelman de Gorodner OL. Genotipificación del virus papiloma humano (HPV) por PCR-RFLP en alteraciones cervicales. Instituto de Medicina Regional UNNE. Chaco. Argentina. En: <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2002/03-Medicas/M-045.pdf>

Correspondencia:

Dr. Gabino Hurtado Estrada
Hospital de Ginecología y Obstetricia
Instituto Materno Infantil del Estado de México
Paseo Tollocan esquina Puerto de Palos
Col. Isidro Fabela, 50170. Toluca, México.
E-mail: colpomexico2010@hotmail.com