

Valor del ADN-VPH en el cribado de la población oportunista en el departamento 6 de Valencia

Departament de Medicina / Universitat Autònoma de Barcelona

Autor: MARIA MORA MOYA

Títol: VALOR DEL VPH-DNA EN EL CRIBADO DE LA POBLACION OPORTUNISTA
EN EL DEPARTAMENTO 6 DE VALENCIA

Persona o persones que han estat responsables de la direcció:

-PILAR ROURA OLMEDA

-FRANCISCA GIL LATORRE

TREBALL DE RECERCA. CONVOCATÒRIA SETEMBRE 2010

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 ETIOPATOGENIA DE LA INFECCIÓN POR VPH	1
1.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VPH.....	2
1.3 NOMENCLATURA CITOHISTOLÓGICA DE LAS LESIONES DEL CÉRVIX	3
1.4 HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD	4
1.5 POTENCIAL ONCOGÉNICO DEL VPH	6
1.6 FACTORES DE RIESGO PARA CÁNCER DE CUELLO UTERINO	7
1.7 INFECCIÓN POR VPH. VIROLOGÍA DE LOS PAPILOMAVIRUS	10
1.8 PATOGENIA	11
1.9 RESPUESTA INMUNITARIA	12
1.10 DIAGNÓSTICO Y DETECCIÓN DE VPH.....	13
1.11 INDICACIONES DEL ANÁLISIS DEL ADN DEL VPH	19
1.12 SITUACIÓN ACTUAL DEL TEMA	21
2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	24
3. OBJETIVOS	25
4. MATERIAL Y MÉTODOS	26
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	26
4.2 ÁMBITO DE ESTUDIO.....	26
4.2.1 POBLACIÓN DIANA	26
4.2.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE LAS PACIENTES	27
4.2.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE LAS PACIENTES	27
4.2.4 POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	27
4.2.3 TAMAÑO MUESTRAL.....	28
4.3 VARIABLES ESTUDIADAS	28
4.4 RECOGIDA DE DATOS.....	30
4.4.1 INSTRUMENTOS DE MEDIDA.....	30
4.4.2 ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO	31
5. RESULTADOS	33
6. DISCUSIÓN.....	44
7. CONCLUSIONES	48
8. BIBLIOGRAFÍA.....	49

1. INTRODUCCIÓN

Las estadísticas mundiales y nacionales muestran que el cáncer es la segunda causa de muerte en las mujeres; de esta enfermedad, el cáncer de cuello uterino aparece en nuestro medio como el segundo cáncer incidente más frecuente después del cáncer de la glándula mamaria y el primero en mortalidad.

Estos datos obligan a establecer intervenciones en las mujeres susceptibles, para lograr con adecuados programas de detección la disminución de las tasas de incidencia y mortalidad.

1.1 ETIOPATOGENIA DE LA INFECCIÓN POR VPH

Los Virus del Papiloma Humano (VPH) son virus ADN pertenecientes a la familia Papillomaviridae; se conocen más de 200 genotipos diferentes en la especie humana, habiendo sido completamente caracterizados alrededor de 130. Son virus epidermotropos con afinidad para infectar cualquier epitelio escamoso, ocasionando gran variedad de lesiones cutáneas proliferativas benignas, como verrugas vulgares, neoplasias benignas intraepiteliales, así como papilomas ano-genitales, laríngeos y orofaríngeos¹.

Asimismo, la infección VPH es la infección de transmisión sexual más frecuente en todo el mundo. Afecta ambos sexos y especialmente a adultos jóvenes, que se comportan como portadores y vehículos de propagación. La infección VPH destaca por su carácter persistente y cursa de forma subclínica en una gran proporción de casos lo que dificulta enormemente las medidas de prevención y tratamiento².

Finalmente, la infección persistente por tipos de VPH con capacidad oncogénica (“de alto riesgo”) sobre todo VPH 16 y 18, es un factor fundamental para la aparición de carcinoma cervical³⁻⁴, así como otras neoplasias ano-genitales (vaginal, vulvar, anal y de pene) y sus precursores, las neoplasias escamosas intraepiteliales (SIL)⁵.

La infección con VPH es la causa principal de casi todos los casos de cáncer cervical, aunque en la mayor parte de las infecciones con este tipo de virus no se produce ninguna patología. El médico alemán Harald zur Hausen recibió el Premio Nobel de

Medicina en el año 2008 por el descubrimiento de VPH como una causa de cáncer cervical.

1.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VPH

La infección genital por VPH es la infección de transmisión sexual más frecuentemente diagnosticada en poblaciones activas jóvenes en los países desarrollados⁶⁻⁷.

La edad es un importante determinante en la infección por VPH. Para las mujeres el pico máximo de incidencia es de 15 a 25 años⁸. Los índices más altos de infección por VPH se encuentran sistemáticamente en mujeres sexualmente activas de menos de 25 años⁹.

Utilizando datos de múltiples estudios internacionales, la prevalencia mediana del VPH oncogénico entre todas las mujeres fue de 15.1%, mientras que en las mujeres de 30 y mayores fue del 9.2%¹⁰.

Mientras la mayoría de los estudios indican un descenso de la prevalencia con la edad, estudios en diferentes regiones internacionales han mostrado un pico de prevalencia en mujeres menores de 25 años, un descenso entre 35 y 54 y un segundo pico después de los 55 años¹¹. Este incremento de prevalencia en los grupos de mayor edad, podría deberse a un efecto de cohorte o a la reactivación del virus latente.

En España, la prevalencia de infección por VHP es una de las más bajas de Europa, en los estudios realizados en población general, en torno al 3,4% (Sanjosé, 2003¹²), detectándose valores más altos, entre un 10% (González 2006¹³) o un 17% (Múgica 1992¹⁴), en estudios realizados en mujeres que asisten a centros asistenciales.

Los genotipos detectados también varían en función de los estudios, siendo los más frecuentes el VPH16 y 31 en el estudio de Sanjosé (2003) y el VPH18 y el VPH16 en el estudio de González (2006). Se ha identificado un mayor riesgo asociado a un mayor número de parejas sexuales así como una suave tendencia decreciente con la edad.

La incidencia de cáncer cervical en España, se ha estimado en 2002 por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) en 2103 casos nuevos de cáncer de cuello de útero, lo que supone una tasa estandarizada de 7,6 casos por 100.000

mujeres, una de las más bajas de Europa ocupando el lugar 23 de los 27 países que componen en la actualidad la Unión Europea.

Los datos de incidencia según la IARC indican que el cáncer de cuello de útero es el segundo tumor en frecuencia en mujeres en el mundo. Se estima que anualmente se producen más de 500.000 casos nuevos de cáncer de cuello de útero y en torno a unas 280.000 defunciones.

La distribución geográfica del tumor dentro del país no es homogénea. De acuerdo con los datos de incidencia de los registros españoles disponibles, la incidencia de cérvix es más alta en Mallorca, Tarragona, Asturias y Canarias, mientras que Cuenca y Navarra presentan tasas sensiblemente inferiores.

La mortalidad detectada en 2005 por el INE ha sido de 594 fallecimientos por cáncer de cuello de útero, lo que supone una tasa ajustada por edad de 2 muertes por 100.000 mujeres, con una edad media de defunción de 63 años¹⁵. Este tumor fue responsable del 1,5% de los fallecimientos por cáncer y un 0,3% del total de las muertes en mujeres.

De acuerdo con las cifras de mortalidad del GLOBOCAN para 2002 en los países europeos, España también ocupa el lugar 23 de los 27 países que componen en la actualidad la Unión Europea.

1.3 NOMENCLATURA CITOHISTOLÓGICA DE LAS LESIONES DEL CÉRVIX

Ha ido cambiando gracias a la mejora en el conocimiento de la historia natural de la enfermedad, así como también, como consecuencia de los avances en los métodos diagnósticos.

La clasificación clásica, en términos de “displasia” (OMS 1979) dio paso al sistema de la Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN) de Richart en 1993, para terminar en la clasificación de Bethesda (2001), que ya habla de Lesión Intraepitelial Escamosa (SIL) y que diferencia por un lado las alteraciones de las células del epitelio escamoso y por el otro lado las del epitelio glandular.

Por regla general, las alteraciones citológicas se informan siguiendo el esquema Bethesda, mientras que para las alteraciones histológicas se emplea la clasificación de Richart (tabla 1).

Se habla de **CIN I** cuando las alteraciones celulares afectan a un tercio del espesor del epitelio escamoso, **CIN II** cuando afectan a dos tercios y **CIN III** cuando es todo el epitelio el que esta afecto.

TABLA 1. Evolución de la nomenclatura citohistológica de las lesiones del cérvix

			Células escamosas					Células glandulares		
Bethesda (2001)	Negativo para malignidad	Cambios reparativos	ASC-US	LG-SIL	HG-SIL			CA INVASOR	AGC-US AIS AC	
Richard (1993)	Normal	Inflamación	ASC-H	CIN I	CIN II	CIN III				
OMS (1979)	Normal	Inflamación		Displasia leve	Displasia moderada	Displasia grave	Carcinoma in situ			

ASC-US: atipia de células escamosas de significado incierto

ASC-H: atipia de células escamosas sin poder descartar lesión de alto grado

AGC-US: atipia de células glandulares de significado incierto

LG-SIL: lesión escamosa intraepitelial de bajo grado

HG-SIL: lesión escamosa intraepitelial de alto grado

AIS: adenocarcinoma in situ

AC: adenocarcinoma

1.4 HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD

El agente responsable de las alteraciones a nivel del epitelio cervical uterino es el Virus del Papiloma Humano (VPH). La infección genital por VPH es la infección de transmisión sexual más frecuente que existe. Se calcula que hasta el 80% de mujeres sexualmente activas tendrán contacto, en algún momento de su vida, con el virus.

La prevalencia de la infección por VPH en chicas adolescentes, sexualmente activas varía según la población estudiada, con un rango entre el 25-65%. Ahora bien, la gran mayoría de infecciones por VPH son transitorias (90%) y de éstas solo un 25% producirán alteraciones citohistológicas, todas ellas, no superiores a LGSIL y/o CIN I. Sólo, en un pequeño porcentaje de infecciones (10%), la infección persistirá, siendo este grupo el que está predispuesto para el desarrollo de lesiones de alto grado y cáncer cervical (Datos obtenidos por la Sociedad Española de ginecología y Obstetricia (SEGO).

El cáncer de cuello uterino se inicia como una lesión displásica o intraepitelial cervical, afectando principalmente la unión de los epitelios escamoso y columnar correspondientes al epitelio del exocervix y endocervix, respectivamente. En un porcentaje de casos esta lesión intraepitelial evoluciona en forma paulatina a carcinoma in situ, con la posibilidad posterior de romper la membrana basal y así invadir el estroma adyacente y convertirse en un carcinoma microinvasor (nivel de invasión menor de 5 mm) con menor probabilidad de comprometer vasos linfáticos. En esta evolución este tipo de tumor puede continuar su infiltración, denominándose carcinoma francamente invasivo.

La historia natural de la lesión intraepitelial precoz es muy importante por su relación con el tratamiento. La revisión de la literatura de los últimos cuarenta años sugiere una mayor probabilidad de persistir o progresar entre las lesiones con mayor severidad (neoplasia intracervical-CIN III) que las de menor grado de displasia (CIN I):

Para LG-LSIL/CIN I, la tasa de regresión se ha cifrado, en adolescentes y mujeres jóvenes, en un 61% a los 12 meses y en 91% a los 36 meses. Esta tasa de regresión es menor conforme avanza la edad de la mujer (en mujeres de edad media de 32 años se ha visto una tasa de regresión acumulada a los dos años del 54.9%). Por otro lado, el riesgo de progresar a lesiones de alto grado es del 9% al 16% en mujeres jóvenes y hasta el 30% en mujeres de edad avanzada.

Para HG-SIL/CIN II+, las tasas no son tan buenas:

-CIN II: 43%-58% regresan, 22% progresan a CIN III/CIS, 5% progresan a carcinoma invasor

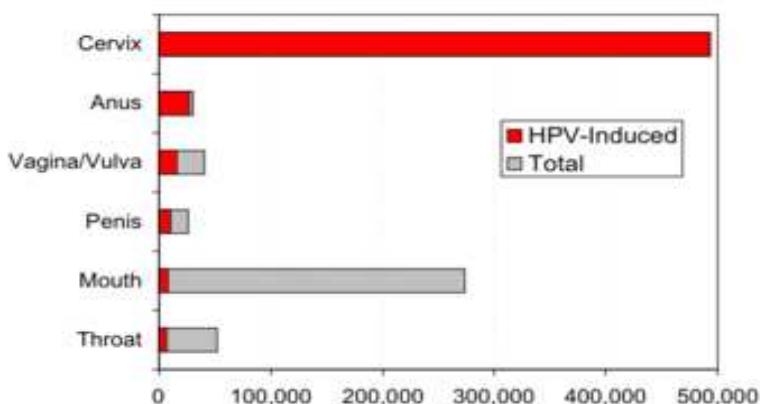
-CIN III: 32%-47% regresan, 12%-36% progresan a carcinoma invasor

1.5 POTENCIAL ONCOGÉNICO DEL VPH

Las evidencias clínicas y microbiológicas que sustentan el potencial oncogénico de algunos tipos de VPH son indiscutibles. La relación entre persistencia de VPH de alto grado entre 6-12 meses, y la aparición de CIN, ha sido confirmada en numerosos estudios⁵⁻¹⁶.

Los conocimientos acerca de la interacción entre la infección persistente VPH y el posible desarrollo de lesiones precancerosas y cáncer genital se basan en el estudio del carcinoma de cérvix, cuya relación con la infección por tipos de VPH de carácter oncogénico se apoyan en evidencias muy sólidas. En los últimos años, se ha planteado un paralelismo entre dicho modelo clínico-patológico y el desarrollo de lesiones similares en vagina, vulva y región anal. Si bien, la implicación del VPH en la aparición de estas neoplasias, por ser mucho más reciente, no ha sido documentada de un forma tan abrumadora como en el caso de las lesiones cervicales.

GRÁFICA 1. Tipos de cáncer inducidos por VPH.



El gráfico muestra el número de casos anuales de diferentes tipos de cáncer en el mundo. La fracción de los casos de cáncer que se estima son inducidos por VPH se muestra en rojo. Por ejemplo, casi todos los casos de cáncer cervical se cree que están causados por VPH.

The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002». Int. J. Cancer 118: pp. 3030-44.

Los diferentes tipos de VPH presentan potenciales oncogénicos distintos. La gran mayoría de los canceres genitales contienen secuencias de los VPH 16, 18, 31, 33 o 45. Por el contrario, las lesiones intra-epiteliales benignas o de bajo grado expresan normalmente VPH 6 y 11, y es raro que se asocien a transformación maligna.

La progresión de lesiones cervicales asociadas a VPH hasta la aparición de cáncer invasivo, es un hecho poco frecuente y que se desarrolla lentamente, normalmente tras varias décadas de infección, y que es reversible al menos durante las primeras fases de la progresión tumoral¹⁷.

En el proceso de carcinogénesis, interviene tanto la infección persistente por VPH como la acumulación de otros cofactores (mutaciones genéticas, tóxicos, factores hormonales, etc. ...) Entre estos factores, se considera que la presencia de dos proteínas virales, E6 y E7, que se expresan de forma invariable en los tumores genitales, es imprescindible tanto para la inducción como la perpetuación del fenotipo tumoral¹⁸.

1.6 FACTORES DE RIESGO PARA CÁNCER DE CUELLO UTERINO

El cáncer de cuello uterino y las lesiones premalignas se comportan como una enfermedad de transmisión sexual, asociada especialmente a la infección por el VPH.

Los factores de riesgo están relacionados con características tanto del virus como del huésped e incluyen:

1.6.1 NÚMERO DE PAREJAS SEXUALES

El factor de riesgo único más claramente establecido es el número de parejas sexuales a lo largo de la vida, según múltiples estudios en mujeres¹⁹⁻²⁰, habiéndose obtenido los mismos resultados en estudios sobre población masculina²¹⁻²².

Otros autores también han demostrado que el número de parejas de la pareja de la mujer también se asocia con su riesgo de infección por VPH²³, es decir a mayor promiscuidad del varón mayor riesgo para sus parejas sexuales.

Un intervalo corto que transcurre desde que se conoce la pareja hasta que se mantienen relaciones sexuales también incrementa el riesgo de infección por VPH en mujeres²⁴.

Un estudio reciente de infección por VPH en mujeres adolescentes mostro que un

incremento medio de más de 1.5 años de edad en la pareja masculina confería un riesgo doble de detectar ADN del VPH en las mujeres²⁰.

1.6.2 EDAD DE LA PRIMERA RELACIÓN SEXUAL

El inicio temprano implica la aparición de múltiples compañeros sexuales, con la mayor probabilidad de exposición el VPH que ello implica.

1.6.3 ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

La infección por Herpes simple y la infección por C. Trachomatis también se asocian con cáncer cervical.

Un análisis²⁵ demostró que la infección previa por virus del herpes simple tipo 2 se asociaba con un incremento de dos veces el riesgo de carcinoma escamoso de cérvix en paciente con infección por VPH.

La infección por C. Trachomatis también se asocia a un riesgo similar de cáncer de cérvix²⁶. También se asocia con una infección por VPH más persistente, que puede contribuir al aumento de riesgo de complicaciones clínicas en individuos coinfetados por C. Trachomatis²⁷.

Los pacientes inmunodeprimidos y los seropositivos para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tienen alto riesgo, tanto de infección por VPH como de enfermedad asociada al VPH.

Los niveles altos de mRNA del VIH, así como el recuento de CD4 < 200 células por mm³, se asocian con infección incidente y persistente de VPH, aunque la asociación con infección incidente fue más fuerte²⁸.

Entre las mujeres con VPH oncogénico, las mujeres VIH-positivas con bajo recuento de CD4 están más predispuestas que las mujeres VIH-negativas o las mujeres VIH-positivas con alto recuento de CD4 a desarrollar lesiones tumorales superficialmente infiltrantes de cérvix²⁹.

1.6.4 PARIDAD

Se ha establecido que mujeres con dos o más hijos tienen un riesgo 80% mayor respecto a las nulíparas de presentar lesión intraepitelial. Se cree que la inmunosupresión del embarazo o los cambios hormonales podrían aumentar la susceptibilidad a la infección por VPH.

1.6.5 TABAQUISMO

El efecto del tabaco en la infección por VPH y el desarrollo subsecuente de displasia y neoplasia sigue siendo controvertido. Existen datos emergentes de que el tabaco interfiere con la historia natural del VPH, por ejemplo, incrementando la probabilidad de que el virus persista mientras se prolonga su aclaramiento. La progresión de la displasia parece estar asociada con el tabaco³⁰.

Fumar es un cofactor establecido del VPH en el desarrollo de carcinoma escamoso cervical y vulvar, y puede influir en el riesgo a través de una vía inmunosupresora³¹.

En algún estudio, sin embargo, no se ha encontrado asociación consistente entre adquirir el VPH y el tabaco³².

1.6.6 ANTICONCEPTIVOS ORALES

La evidencia para la asociación entre el cáncer de cuello uterino y los anticonceptivos orales u otras hormonas anticonceptivas no es completamente consistente. Varios estudios han investigado a mujeres positivas para VPH sin encontrar asociación con este factor. Se plantea que esta asociación con el cáncer tiene probablemente más una relación con el comportamiento sexual que por efecto directo.

Un estudio multicéntrico realizado por la IARC, encontró que el uso de anticonceptivos orales por menos de cinco años no se relacionaba con la presencia de cáncer de cuello uterino. El riesgo aumentó para las pacientes que lo usaban entre cinco y diez o más años³³.

1.7 INFECCIÓN POR VPH. VIROLOGÍA DE LOS PAPILOMAVIRUS

Los VPH son virus ADN de doble cadena, de 52-55 nm de diámetro y no encapsulados. Disponen de una cubierta o cápside icosaédrica que envuelve el genoma. Dicha cápside está compuesta por dos proteínas codificadas por el virus: la proteína estructural principal L1 (559 KDa), que representa el 95% de la estructura total del virión, y L2, una proteína estructural menor (76 KDa).

Las diferencias genotípicas entre los diferentes tipos de VPH vienen marcadas por los diferentes aminoácidos que constituyen la proteína L1 (que posee además efecto antigénico). Son las características de esta proteína las que hacen que el virus pueda ser tratado como de “bajo o alto riesgo”.

Históricamente, los VPH estaban incluidos dentro de los Papovaviridae, junto a los poliomavirus, pero su biología y organización genética diferente, ha conducido a separarlos en la familia de los Papillomaviridae³⁴.

El número de genotipos identificados es creciente (más de 200), aunque muchos de ellos no han sido caracterizados por completo. Su identificación se basa en estudios de homología de ADN, bien por técnicas de hibridación o comparación directa de secuencias³⁵. Por definición, un tipo nuevo tiene más de 10% de diferencias con respecto a cualquier otro previamente caracterizado en las secuencias de ADN de 3 genes de VPH (E6, E7 y L1). Las diferencias de 2-10% o <2% se definen como subtipo o variante, respectivamente.

El estudio filogenético de los distintos tipos de VPH ha permitido agruparlos en supergrupos. Atendiendo a su tropismo por diferentes tejidos y su capacidad oncogénica, los VPH se dividen en tres grupos³⁶, que abarcan la totalidad de los tipos conocidos. Así, es posible dividirlos en VPH cutáneos, mucosales y asociados a epidermodisplasia verruciforme (EV).

TABLA 2. Principales grupos de VPH

VPH cutáneos (VPH-cut)	1, 2, 3, 4, 7, 10, 26-29, 41, 48, 49, 57, 60, 63, 65,75...
VPH mucosales (VPH-muc)	Alto riesgo 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 67-69,73,82... Bajo riesgo 6, 11, 13, 26, 30, 32, 34, 40, 42-44, 53-55, 62, 64, 66, 70,72,81...
VPH asociados a EV (VPH-EV)	5, 8-10, 12, 14, 15, 17, 19-25, 36-38, 47, 50, ...

1.8 PATOGENIA

El virus del papiloma es muy específico de especie, y no se ha observado nunca infección fuera de los tejidos del huésped. Su ciclo vital se concluye solo en epitelios escamosos muy diferenciados, lo que explica que no se haya conseguido su crecimiento en cultivos celulares, donde no se completa la expresión de genes tardíos y la producción de viriones.

Los VPH son virus epidermotropos, con afinidad y capacidad para infectar cualquier tipo de epitelio escamoso, en localización cutánea o mucosa. La infección aparece casi siempre por contacto directo con individuos que presentan lesiones asociadas por el VPH clínicas o subclínicas, o indirectamente a través de superficies u objetos contaminados (gimnasios, piscinas...) en el caso de la patología genital por VPH, debe considerarse la transmisión sexual como vía principal y casi exclusiva de contagio.

Se calcula que tras un único contacto infectante, la posibilidad de contagio sería de un 50% en el varón y un 70% en la mujer. Además, es frecuente la auto-inoculación del virus a partir de lesiones visibles a la piel contigua, sobretodo en verrugas ano-genitales y digitales.

La alta contagiosidad de los VPH puede explicarse además por su resistencia al calor y la desecación debido a la ausencia de cubierta externa. Estas observaciones justifican la alta tasa de recidivas de la infección VPH² y el hecho de que ningún tratamiento de los habitualmente utilizados sea capaz de prevenir la transmisión futura del virus³⁷.

1.9 RESPUESTA INMUNITARIA

Los niveles de ADN-VPH pueden fluctuar a lo largo de la infección, por encima y por debajo del nivel de detección de la técnica utilizada, y es por tanto posible que la infección VPH escape al diagnóstico de los tests comerciales. Además, una reactivación podría elevar los niveles de ADN viral al mismo nivel que tras una infección inicial, por lo que ambas situaciones serían indistinguibles.

Las infecciones por VPH son persistentes, lo que indica que el virus es capaz de escapar de los mecanismos defensivos del sistema inmunológico^{38,39}.

Tras la infección inicial, sólo la mitad de las mujeres desarrollan anticuerpos detectables frente al VPH; además en niveles bajos y con escasa capacidad de protección. Puede ser éste un factor fundamental que posibilite el acceso de la suficiente cantidad de viriones a las células epiteliales susceptibles⁴⁰.

En el mismo sentido, y al contrario que otras infecciones virales, VPH no provoca una fase virémica inicial que desencadene una respuesta inmune a nivel sistémico⁴¹.

Así, la inmuno-vigilancia local clásica, incluyendo los procesos de presentación antigenica local y la respuesta defensiva a nivel de los ganglios linfáticos regionales quedaría restringida o eliminada, con lo que se compromete la activación eficaz del sistema inmune⁴².

A pesar del éxito de estos mecanismos de evasión del sistema inmune por parte del VPH, existen indicios de que, en la mayoría de los casos, el huésped es capaz de desarrollar una respuesta inmune eficaz. Dos tercios de las verrugas cutáneas regresan espontáneamente en dos años, y las lesiones multi-focales desaparecen muchas veces de forma simultánea.

A pesar de la elevada prevalencia de infección por VPH, cerca del 90% de mujeres con infección detectable presentarán aclaramiento espontáneo entre 1 a 3 años después. Además, es conocida la predisposición de los pacientes con defectos en la inmunidad celular al desarrollo de infecciones persistentes y clínicamente severas por VPH, mientras que las alteraciones en la inmunidad humoral no se asocian a dicho riesgo⁴³.

Las infecciones latentes por VPH se definen como la persistencia del ADN viral en un epitelio aparentemente normal desde el punto de vista clínico y citológico, con lo que permanece a salvo de la detección del sistema inmune y puede reactivarse en el futuro. En la actualidad, solo existen evidencias indirectas acerca de la capacidad de reactivación del VPH en humanos. Así, se ha observado la reactivación de infecciones latentes por VPH en pacientes, inmuno-deprimidos (por VIH o trasplante de órganos^{39,43,44}), y el mismo proceso podría ser posible en mujeres inmuno-competentes.

Además, la reactivación de infecciones antiguas por VPH oncogénicos puede ser posible en pacientes en tratamiento farmacológico inmunosupresor, o que se co-infectan por nuevos genotipos virales. En todo caso, los mecanismos por los que el VPH sale o entra de la latencia permanecen sin aclarar.

1.10 DIAGNÓSTICO Y DETECCIÓN DE VPH

Las infecciones genitales de VPH pueden distribuirse ampliamente sobre piel genital y superficies mucosas, y la transmisión puede ocurrir aunque no se tengan síntomas visibles.

Una infección persistente por los VPH conocidos como “de alto riesgo” es un factor importante en la mayoría de los casos de cáncer cervical. El desarrollo del cáncer cervical inducido por VPH es un proceso lento que generalmente tarda varios años. Durante la fase de desarrollo, las células precancerosas pueden ser detectadas por una citología o prueba de Papanicolaou.

CITOLOGÍA CÉRVICO-VAGINAL

La citología es el estudio de células individuales que tiene el propósito de detectar anormalidades morfológicas de las células examinadas que provienen de la descamación de superficies epiteliales, líquidos corporales o se obtienen por aspiración con aguja.

La citología cervical, cérvico-vaginal o prueba de Papanicolaou estudia las células exfoliadas de la unión escamo columnar del cuello uterino y ha sido durante años el principal método de búsqueda de cáncer cérvico uterino, ampliamente reconocido por

programas de control y prevención de cáncer como un test que ha reducido la incidencia y mortalidad por cáncer de cuello uterino.

Además de la detección de lesiones premalignas y malignas, la citología cervical proporciona información sobre la presencia de microorganismos.

El éxito de la citológica cervical como método de tamizaje para la detección del cáncer de cuello uterino se basa en décadas de experiencia en su uso, el bajo coste del examen, la relativa simplicidad del método y su alta especificidad

La citología ginecológica comienza, en sentido estricto, en 1943 con George N. Papanicolaou y actualmente la citología cervical con tinción de Papanicolaou constituye el método por excelencia para la detección temprana del cáncer de cuello uterino.

Un punto importante es reconocer que la citología cervical no es un procedimiento diagnóstico por sí solo, por lo cual es necesario que los cambios citológicos anormales encontrados a través de ella sean confirmados por otros medios de diagnóstico más específicos, como la colposcopia y la biopsia cervical.

Debe recomendarse la toma anual de la citología cervical, con la posibilidad que después de tres resultados negativos se puedan espaciar a cada tres años.

PROCEDIMIENTO

La citología cervicovaginal consiste en extender una muestra de las células epiteliales que recubren tanto el área endocervical como la exocervical; a veces se hace extendido de los fondos de saco vaginal.

Estas células quedan fijadas en una lámina portaobjeto para ser sometidas a un proceso de tinción, el cual permite visualizarlas con el microscopio.

TOMA DE LA MUESTRA

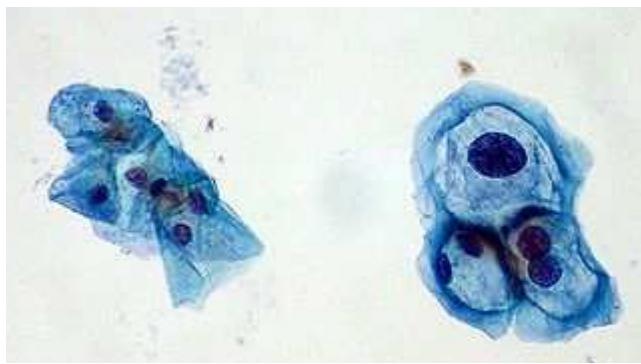
Visualización del cuello uterino mediante la colocación de un espéculo: la zona de transformación (unión del exo y endocervix o unión escamo columnar) es donde más frecuentemente se origina el cáncer de cuello uterino, por lo cual debe ser el sitio de toma de la muestra.

Tras ello se desliza la espátula de madera o plástico en la superficie de la porción externa del cuello (exocervix) para obtener células y luego, se introduce un cepillo o hisopo a través del orificio cervical para obtener células del canal (exocervix).

La muestra obtenida del cuello uterino debe extenderse en el portaobjetos, no frotarla y fijarla inmediatamente con un spray fijador para citologías evitando así el secado al aire que provoca distorsión celular y altera la evaluación de las células.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

La tinción de Papanicolaou es un método de tinción policromático con el que se busca obtener contraste entre el núcleo y el citoplasma de las células.



Grupo de células cervicales normales a la izquierda y células infectadas con VPH a la derecha. Éstas con VPH muestran formas típicas de coilocitos: núcleos aumentados x2 o x3, e hipercromasia.

INFORME DE RESULTADOS

Los cambios encontrados deben ser informados bajo la clasificación del Sistema Bethesda que fue desarrollado por un grupo de expertos en Citología, Histopatología y ginecología en 1988 y ha sido objeto de dos revisiones posteriores.

En términos generales el resultado de una citología cervical debe proporcionar información sobre:

- La idoneidad de la muestra enviada, es decir si es Satisfactoria o Insatisfactoria para el estudio debido a la celularidad observada o presencia de material extraño en la muestra que dificulte la interpretación de la misma.
- La presencia de infecciones (vaginosis bacteriana, tricomonas, clamidia...)
- La presencia de anomalías de las células epiteliales. El sistema de Bethesda define una clasificación general que incluye:
 1. Negativo para Lesión Intraepitelial Escamosas (LIE) o Malignidad: cuando no existe ninguna anomalía en las células epiteliales

2. Anomalía en Células epiteliales: cuando se identifica alteraciones celulares de lesiones premalignas o malignas en las células escamosas o en las células glandulares.

Dentro de las **anomalías en las células escamosas** distinguimos dos categorías:

-Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo Grado (LIEBG o LG-SIL) que incluye los casos con infección del VPH y los asociados a displasia leve o CIN I.

-Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado (LIEAG o HG-SIL) que incluye los casos con cambios celulares que sugieren displasia moderada (CIN II), severa y carcinoma in situ (CIN III).

Dentro de las **anomalías en las células glandulares** distinguimos:

-AGC-US: atipia de celulares glandulares

-AIS: adenocarcinoma in situ

-AC: adenocarcinoma

La clasificación de Bethesda incluye la categoría de Células Escamosas Atípicas o ASCUS cuando los hallazgos citológicos son de significado indeterminado. Este término no se emplea como diagnóstico de entidad inespecífica. El informe debe incluir una recomendación sobre las acciones que pueden ayudar a determinar el significado de las células atípicas (por ejemplo: atrofia por deprivación hormonal).

LIMITACIONES DE LA CITOLOGÍA

La citología cervical, a pesar de su demostrada habilidad de detección y su papel en la reducción de la mortalidad de cáncer de cuello uterino, como todo test de muestreo, está limitada por resultados falsos positivos y falsos negativos.

Hay varios factores que influyen en la obtención de falsos negativos que en general, incluyen errores en la toma y procesamiento de la muestra o errores en la búsqueda e identificación de las células malignas y en su interpretación. Existe cierto grado de acuerdo en atribuir una tercera parte de los resultados falsos negativos a errores de lectura e interpretación de las muestras de laboratorio y, las dos terceras partes restantes a fallos en la toma de la muestra.

Con el propósito de reducir los falsos negativos y mejorar la prueba de Papanicolaou se han desarrollado nuevas técnicas, entre ellas se encuentra la Citología Líquida.

CITOLOGÍA LÍQUIDA

La citología líquida es una nueva técnica para el procesamiento de las muestras de la citología en la cual, la muestra se obtiene como en la citología convencional pero se utiliza un dispositivo de toma al que se puede desprender el cepillo; pero a diferencia de la citología convencional en la que se realiza el extendido inmediatamente en el portaobjetos, en este método el extremo del cepillo desprendido se introduce en una solución fijadora en donde se conservan y dispersan las células.



Debido a que la muestra es fijada inmediatamente después de su recolección y que en el proceso se elimina materiales que puedan oscurecer la evaluación de las células epiteliales, hay pocos artefactos en la morfología celular. La ventaja que se ha obtenido con este método es la reducción de las muestras inadecuadas.

DETECCIÓN VPH

La presencia del VPH dentro de las células del epitelio cervical, se lleva a cabo a través de técnicas de biología molecular.

Se pueden dividir en dos grandes grupos:

1. **Detección de ADN viral:** no traducen actividad vírica, solo confirman la presencia del virus. No permiten conocer carga viral. Son dos:

*Captura de híbridos: Cuando la muestra presenta infección vírica se produce un híbrido RNA-DNA que es capturado por un anticuerpo específico frente a ese híbrido y detectado mediante reacción tipo ELISA. Se suelen utilizar dos tipos de sondas; una para detectar genotipos de bajo riesgo y otra para los de alto riesgo. Cada sonda identifica un número determinado de virus, por lo que esta técnica no es tipo específica.

Un resultado positivo significa que en la muestra hay virus, de alto o bajo riesgo según la sonda, pero no sabemos cuántos hay ni que genotipo son.

*Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Técnica que consiste en multiplicar el segmento ADN que se busca, si está presente en la muestra. Es muy sensible (capaz de detectar la presencia del virus a bajas concentraciones). Permite el genotipado viral (saber qué tipo de virus tenemos en la muestra).

2. Detección de ARNm E6/E7 viral: establecen actividad vírica oncogénica y permiten conocer la carga viral.

1.11 INDICACIONES DEL ANÁLISIS DEL ADN DEL VPH

El Virus del Papiloma Humano (VPH) es un virus ADN, por lo que la mejor forma de diagnosticarlo es mediante una técnica de ADN; que permita diagnosticarlo en fase latente pudiéndonos anticipar a las lesiones premalignas o malignas varios años.

La detección de ADN del VPH se considera que puede ser útil en las siguientes situaciones clínicas: en pacientes con citología de células escamosas atípicas de significado indefinido (ASC-US) y en el seguimiento de pacientes que fueron tratadas de lesiones intraepiteliales. Además, existen otras indicaciones más relativas de detección del ADN del virus del papiloma humano que serán expuestas a continuación, siempre combinadas con la citología.

La Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC)⁴⁵ en su congreso del año 2006 estableció unas indicaciones para el análisis del ADN del VPH:

INDICACIONES DE LA DETECCIÓN DEL ADN DEL VPH SEGÚN LA AEPCC

Mujeres con citología de ASC-US. Aproximadamente un 50% de los ASC-US se relacionan con el virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) y, por tanto, está indicada la colposcopia con el fin de poder descartar lesiones escamosas intraepiteliales de alto y bajo grado.

En mujeres con citología de ASC-US y ADN-VPH negativo no está indicada la colposcopia, pues está suficientemente documentado que citologías de ASC-US y test de ADN-VPH negativo no se relacionan con lesiones de alto grado.

Mujeres con citología de lesión escamosa de bajo grado (LSIL) en la posmenopausia.

La detección del ADN-VPH puede ser útil en mujeres mayores posmenopáusicas y con citología de LSIL con el fin de seleccionar a las que requieren un estudio diagnóstico más complejo.

Seguimiento de pacientes con LSIL confirmado por biopsia, seleccionadas después de colposcopia. Para analizar el aclaramiento de la infección y devolver a la paciente al programa de cribado o, si persistiera el VPH-AR, repetir citología y test ADN-VPH al año.

Seguimiento del control de curación post-tratamiento de lesiones intraepiteliales. El test de ADN-VPH junto a la citología puede detectar tempranamente una persistencia o recidiva de la enfermedad.

La negatividad absoluta permite pasar a la mujer al programa de cribado.

Cribado primario en mujeres mayores de 35 años y mujeres que se realizaron la última citología hace ≥ 5 años. La utilización del test de ADN-VPH en el cribado primario se ha planteado en mujeres mayores de 30-35 años pues a estas edades, la prevalencia de VPH de alto riesgo oncogénico está por debajo del 10% y en cambio aumenta la incidencia de CIN III y neoplasia.

1.12 SITUACIÓN ACTUAL DEL TEMA

El 8 de junio de 2006, la Food and Drug Administration (FDA) aprobó Gardasil, una vacuna profiláctica contra el VPH comercializada por Merck & Co., Inc.

La vacuna tetravalente para la infección VPH se ha diseñado mediante la obtención sintética de “viral like particles” (VLP’S) de la proteína mayor de superficie (L1) del VPH por lo que, al no contener ADN-viral, carece de capacidad infectiva.

Esta vacuna se ha probado eficaz en la profilaxis de la infección por los genotipos 6, 11, 16 y 18 del VPH (tetravalente) evitando, de esta forma, la mayoría de los canceres de cuello uterino, en torno al 70% del total y la aparición de enfermedad VPH externa (verrugas ano-genitales) por encima del 95% de la totalidad, y otras patologías relacionadas con estos genotipos virales ^{46,47}.

El ensayo también mostró una eficacia del 100% frente a infecciones persistentes, no sólo frente a las agudas. La vacuna también protege contra los serotipos 6 y 11, causantes del 90% de las verrugas genitales.

En la actualidad, además de Gardasil, GlaxoSmithKline ha comercializado la vacuna Cervarix. Tanto Gardasil como Cervarix protegen contra infecciones iniciales contra los tipos VPH 16 y 18, causantes de la mayor parte de los casos de cáncer cervical.

Gardasil además protege contra los tipos VPH 6 y 11: estos cuatro tipos combinados (16, 18, 6, 11) corresponden al 90% de los casos de cáncer cervical.

La vacuna proporciona poco beneficio a las mujeres que ya estén infectadas con los tipos VPH 16 y 18, es decir, a la mayor parte de las mujeres sexualmente activas, ya que las vacunas no tienen ningún efecto terapéutico sobre la infección ya existente ni sobre las lesiones cervicales. Por esta razón, la vacuna se recomienda principalmente a mujeres que aún no hayan iniciado relaciones sexuales.

La administración en mujeres que hayan iniciado relaciones sexuales se correlaciona en la gran mayoría de los casos con un descenso significativo de su eficacia ya que, como se comenta en los estudio de eficacia de infección⁴⁸ una gran parte de mujeres están ya infectadas por el VPH al poco tiempo de iniciar su vida sexual.

Esta vacuna se ha incorporado en el calendario vacunal de la práctica totalidad de los países, incluido España, donde se administra según comunidad autónoma en mujeres entre los 12 y los 14 años de edad.

La vacuna (tanto Gardasil como Cervarix) se administra en 3 dosis a lo largo de 6 meses. Las recomendaciones de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, (CDC) son, en lo posible, que sea administrada en personas que no hayan iniciado sus relaciones sexuales, si bien reconoce beneficios en mujeres hasta los 26 años, dado que son muy pocas aquellas que son infectadas por los cuatro genotipos virales que cubre la vacuna.

Puesto que las actuales vacunas no protegen a las mujeres frente a todos los serotipos de VPH que causan cáncer cervical, es importante que las mujeres sigan con las pruebas de citología y Papanicolau, incluso después de haber recibido la vacuna.

Aunque las administraciones y empresas aseguren que la vacuna no tiene efectos colaterales, con excepción de dolor alrededor del área de inyección, lo cierto es que hasta la fecha en Estados Unidos han fallecido ya 18 niñas tras ser vacunadas y más de 8.000 han sufrido eventos adversos.

En España se han dado 103 alertas, con 35 casos de reacciones adversas graves con cuadros de diarrea, dolor, síncope o convulsiones. Merck, así como la FDA y la CDC consideran que la vacuna es completamente segura y que no hay relación de causa-efecto. No contiene mercurio, thimerosal ni virus atenuados (solo virus muertos). Merck & Co., Inc, el manufacturador de Gardasil, continua con las pruebas a mujeres que han recibido la vacuna para determinar su eficacia sobre un periodo de vida.

Tanto hombres como mujeres son portadores del VPH. Para erradicar la enfermedad, eventualmente los hombres tendrían que ser vacunados. Hoy por hoy se están llevando a cabo estudios para determinar la eficiencia de vacunar niños con la vacuna actual. En la mayoría de los países, las vacunas se han aprobado únicamente para uso femenino, pero en países como EE.UU. y el Reino Unido se han aprobado también para uso masculino.

2. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

El cáncer de cuello uterino es el cuarto más frecuente a nivel europeo y el segundo a nivel mundial. En España afecta anualmente a unas 2100 mujeres, y de ellas en el año 2005 según el INE 594 fallecieron por esta causa.

Se ha confirmado que casi la totalidad de los canceres de cuello uterino están relacionados con el Virus del Papiloma Humano.

En aquellos países donde se aplican de forma programada las técnicas de detección, principalmente la citología, se ha visto que existe una disminución de la incidencia y la mortalidad del cáncer cervical, ya que se detecta esta patología de forma muy precoz.

Hoy en día, la detección del VPH es un gran avance para la prevención del cáncer de cuello uterino ya que permite un diagnóstico precoz de las lesiones cancerígenas y un buen seguimiento evitando su progresión y procurando su total curación.

Es por ello, que se decide estudiar que ocurría durante un año en las consultas externas de ginecología del centro de salud de Burjassot I (departamento 6 de Valencia), en relación al tema de la citología y el ADN-VPH.

Con ello se pretende mostrar el uso del ADN-VPH en la consulta de ginecología y los resultados que de esta prueba se obtuvieron.

A continuación se detalla el estudio y las conclusiones que de él se pueden extraer.

HIPÓTESIS

La hipótesis que se planteó para este estudio era, si la prueba del ADN-VPH resultaba útil como cribado para detección del cáncer de cuello uterino en las consultas externas de ginecología del centro de salud de Burjassot I, en aquellas pacientes que cumplían las indicaciones de la AEPCC para la detección del ADN-VPH.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

-Conocer el efecto de la aplicación de las indicaciones de la AEPCC para la detección del ADN-VPH como método de cribado para el cáncer de cérvix en la consulta de ginecología de un centro de salud.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

-Relacionar la detección del VPH con:

- la menopausia
- la paridad
- la edad
- motivo por el cual acuden a la consulta de ginecología

-Determinar la positividad del ADN-VPH entre los diferentes grupos de estudio establecidos

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio Descriptivo Transversal Prospectivo con componentes analíticos.

4.2 ÁMBITO DE ESTUDIO

El ámbito de estudio han sido las dos consultas de ginecología del centro de salud de Burjassot I

4.2.1 POBLACIÓN DIANA

La población diana de este estudio son todas aquellas pacientes que desde enero a diciembre del año 2009 acudieron a las dos consultas externas de ginecología que hay en el centro de salud de Burjassot I.

En estas consultas se atendió a una población diana de 8.366 pacientes.

Las pacientes acuden remitidas de manera ordinaria o urgente por los 24 médicos de atención primaria del centro de salud de Burjassot I, 1 ginecólogo del centro de planificación familiar de Moncada (centro de referencia del centro de salud de Burjassot) si se ha detectado alguna anomalía o problema en la exploración, y pacientes citadas para controles evolutivos por los 6 ginecólogos que componen el equipo médico de ginecología del centro de salud de Burjassot I.

4.2.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE LAS PACIENTES

- pacientes > 35 años. Criterio específico para la detección del ADN-VPH.
- o < 35 años si:
 - tenían citologías previas con ASC-US
 - nunca se habían realizado citología
 - citología previa normal >5 años
 - tenían antecedentes de cono cervical por patología cervical previa (ASCUS o verrugas vulvares)
 - tenían antecedentes de madre con cáncer de cuello de útero

4.2.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE LAS PACIENTES

- paciente con cribado poblacional para el cáncer de cérvix correcto (clínico o extraclínico) <5 años
- pacientes vacunadas frente al VPH
- pacientes hysterectomizadas

4.2.4 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes que fueron valoradas en las consultas de ginecología del centro de salud de Burjassot I (Departamento 6 de Valencia) y que se realizaron la prueba de detección del ADN-VPH durante el año 2009 por cumplir las indicaciones de la AEPCC para la detección del ADN-VPH.

4.2.3 TAMAÑO MUESTRAL

Durante el año 2009 se atendió una población 8.366 pacientes en las dos consultas de ginecología del centro de salud Burjassot I, aplicando las indicaciones de la AEPCC para la detección del ADN-VPH se obtuvo el tamaño muestral del estudio que fue de 72 pacientes.

4.3 VARIABLES ESTUDIADAS

Las variables se han recogido de la historia clínica ginecológica de cada paciente que se encuentra en los archivos del centro.

De los factores de riesgo que se asocian al cáncer de cuello uterino, el estudio se apoya en algunos de ellos como son la paridad y los antecedentes de enfermedades de transmisión sexual (verrugas vulvares), y además hemos añadido otras variables como son la menopausia, los antecedentes de patología cervical previa o cono cervical, la edad, antecedentes maternos de cáncer de cérvix y fecha del último control citológico. Las hemos incluido por tratarse de criterios específicos para realizar la detección del ADN-VPH.

Incluimos como variables, datos que se obtienen al abrirle historia ginecológica a la paciente en la consulta.

Algunos factores de riesgo no se han incluido (número de parejas sexuales, edad de la primera relación sexual tabaquismo y uso de anticonceptivos orales) por registrarse en la historia de la paciente que se realiza en Planificación Familiar de otro centro de salud que es centro de referencia del centro de salud de Burjassot I) y no disponer de esa parte del historial.

VARIABLES CUALITATIVAS DICOTÓMICAS

-**Detección del VPH:** según consta en la historia y de la paciente y definida como la positividad en el resultado de la prueba de detección del ADN-VPH.

-**Menopausia:** según registro en la historia clínica de la paciente y definida como la ausencia de menstruación durante un periodo ≥ 1 año.

-**Patología cervical previa:** según consta en el registro de la historia clínica de la paciente y que incluye resultado patológico en citologías previas definido como ASC-US (atipia de células escamosas de significado incierto), o si ha tenido antecedentes de verrugas vulvares.

-**Última citología hace >5 años:** según consta en la historia clínica de la paciente.

-**Antecedentes de cono cervical:** según consta en la historia clínica de la paciente.

-**Madre con antecedentes de cáncer de cuello uterino:** registrado en la historia clínica de la paciente.

Las variables: antecedentes de cono cervical, antecedentes de verrugas vulvares y antecedentes de madre con cáncer de cuello uterino se estudian agrupadas como “Otros Motivos” por los que las pacientes acuden a consulta.

VARIABLES CUANTITATIVAS

-**Edad** (cuantitativa continua): definida como la fecha de nacimiento según registro en la historia clínica, expresada en años.

En el estudio la edad se agrupa por intervalos de 10 años para facilitar el análisis de los datos, obteniendo los siguientes: 20-30 años, 30-40 años, 40-50 años, 50-60 años, 60-70 años y 70-80 años.

-**Número de hijos o paridad** (cuantitativa discreta): definida como el número de embarazos a término que ha tenido cada mujer de las incluidas en el estudio según registro en la historia clínica de la paciente. En el estudio también se agrupa por intervalos diferenciando entre las nulíparas, las que tiene sólo un hijo o las multíparas (tienen más de un hijo).

Al haber estudiado estas variables como grupos de edad y grupos de número de hijos, pasarían a ser Variables Cualitativas agrupadas por grupos.

4.4 RECOGIDA DE DATOS

Los datos han sido recogidos de la historia clínica que se encuentra en los archivos del centro y organizados en una base de datos realizada con el programa Acces versión 2007.

4.4.1 INSTRUMENTOS DE MEDIDA

Los resultados tanto de la citología como de la detección del VPH han sido facilitados por el laboratorio de anatomía patológica y de bioquímica.

4.4.2 ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO

El protocolo de actuación consistió en seleccionar a las pacientes que acudieron a consultas externas de ginecología del centro de salud de Burjassot I durante el año 2009, procedentes de atención primaria, del centro de planificación familiar o del propio servicio de ginecología, aquellas que cumplían criterios para realizar la prueba de detección del ADN-VPH; por lo que en la visita además de realizársele la citología se les realizaba conjuntamente la determinación del VPH mediante la técnica de “cáptura de híbridos”.

Aquellas pacientes que obtuvieron un *resultado positivo* en la detección mediante captura híbrida del VPH fueron remitidas la Unidad de Patología Cervical (UPC) del departamento de salud para desde allí continuar el estudio.

Aquellas pacientes que obtuvieron *resultados negativos* de VPH y citología normal continuaron con las revisiones periódicas ginecológicas.

ESTRATEGIA DE ANÁLISIS

Comentar que los porcentajes y las relaciones sobre los datos del estudio que mostramos a continuación se han obtenido partiendo del total de las pacientes atendidas en las dos consultas de ginecología del centro de salud de Burjassot I, departamento 6 de Valencia.

El número total de pacientes atendidas en la consultas de ginecología durante el período de estudio, se ha obtenido a partir del registro de admisión del hospital de referencia del centro de salud de Burjassot I.

Ninguna las pacientes estudiadas había recibido la vacuna contra el VPH.

ANALISIS UNIVARIANTE

Se ha realizado un Análisis descriptivo, expresando las variables Cualitativas en porcentajes y para las Cuantitativas se obtendrán las medias y desviaciones estándar.

En el estudio al ser las variables Cualitativas o Cuantitativas agrupadas por grupos, los resultados se han expresado en porcentajes.

ANALISIS BIVARIANTE

Se ha relacionado la variable de estudio VPH con la menopausia, la paridad, la edad y los motivos por los cuales las pacientes acuden a la consulta.

Al tratarse todas las variables estudiadas de variables Cualitativas se ha utilizado la prueba estadística: Chi Cuadrado (χ^2)

Análisis realizado mediante el programa estadístico SPSS Versión 15

5. RESULTADOS

Durante el año 2009 se atendieron en las dos consultas de ginecología del centro de salud de Burjassot I a 8.366 pacientes.

Las pacientes con cribado poblacional para el cáncer de cérvix correcto < 5 años o pacientes histerectomizadas fueron 8.294, cumplían las indicaciones de la AEPCC para la detección del ADN-VPH 72 pacientes (0.86%) que formaron el tamaño muestral.

La media de edad de la muestra es 45,9 años.

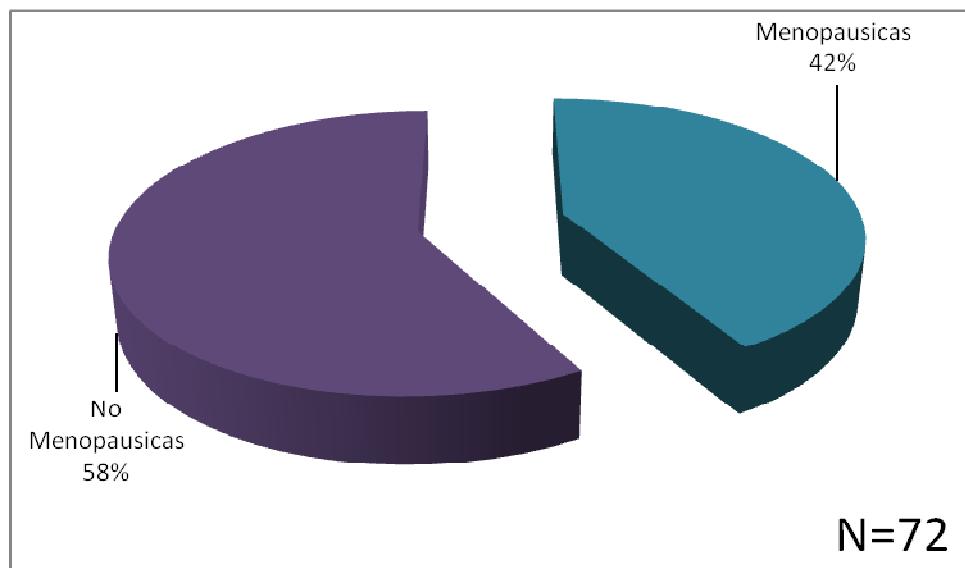
De las 72 pacientes estudiadas, sólo 10 obtuvieron *resultado positivo* para el VPH (13.9%) y continuaron el estudio ginecológico en la Unidad de Patología Cervical (UPC).

De estos 10 casos remitidos a la UPC que fueron estudiados mediante colposcopia y/o biopsia, 8 de ellos tuvieron el estudio negativo para patología cervical y continuaron con sus controles por ginecología, y los otros 2 casos restantes fueron diagnosticados de CIN III y CIN I respectivamente.

De las 72 pacientes estudiadas, 62 obtuvieron resultado negativo para la detección del VPH, pero hubo un caso de negatividad para el VPH con citología alterada que también se derivó a la unidad de Patología Cervical para continuar el estudio, siendo éste satisfactorio y siendo dada la paciente de alta para continuar con revisiones periódicas.

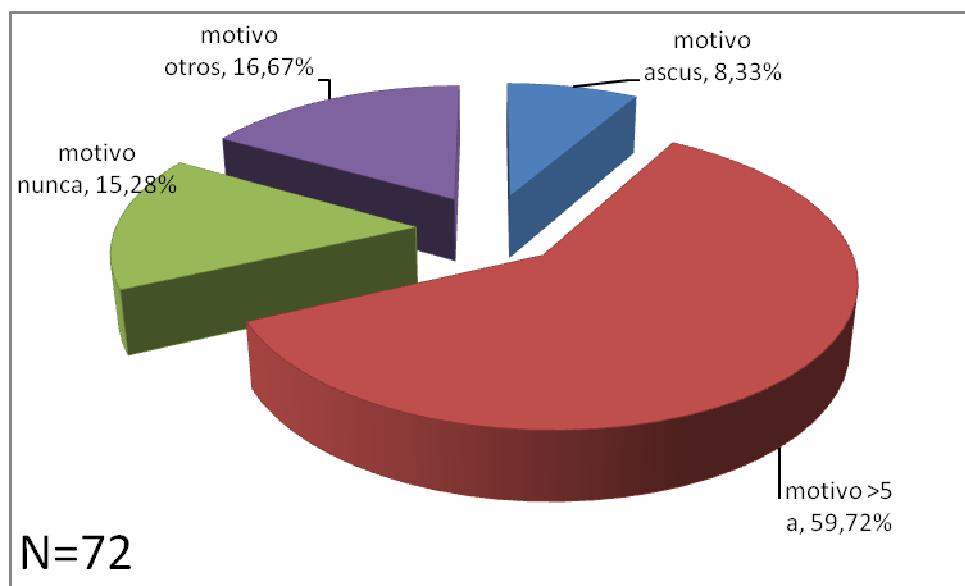
5.1 ANALISIS UNIVARIANTE

De las 72 pacientes estudiadas más de la mitad de la muestra no eran menopáusicas como muestra la gráfica 2.



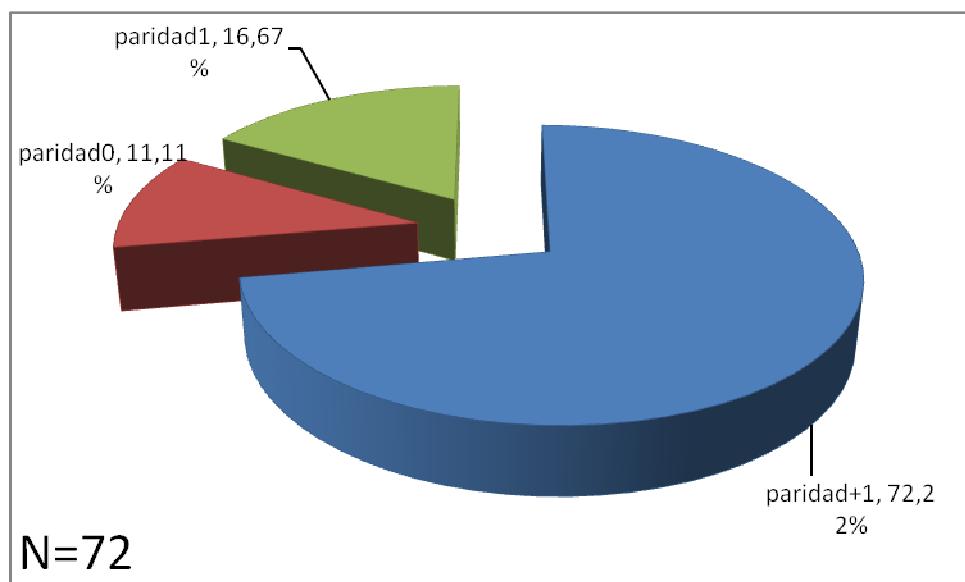
GRÁFICA 2.Frecuencia de Menopausia

Más de la mitad de los motivos por los que acudían a consulta las pacientes era por no tener una citología desde hacía más de 5 años como se muestra la gráfica 3.



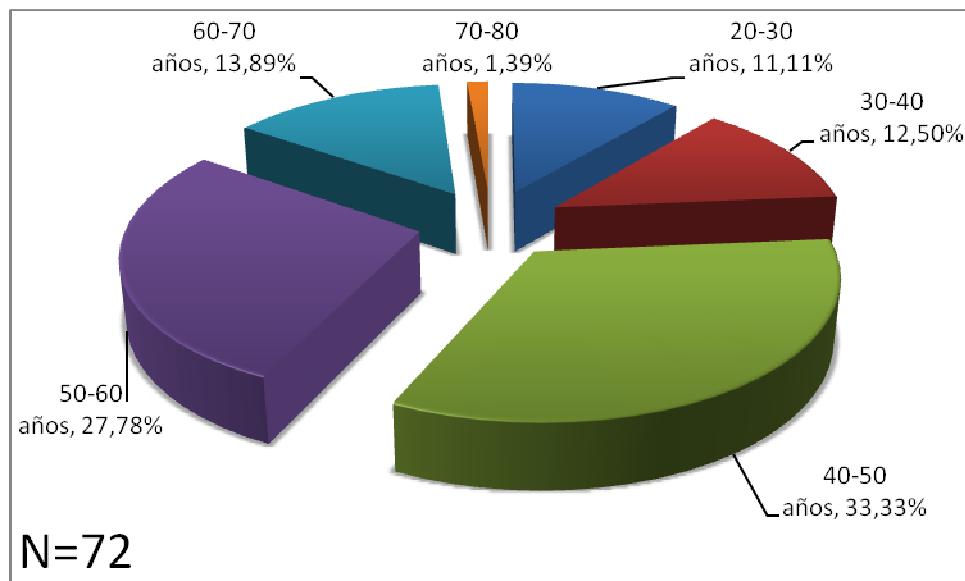
GRÁFICA 3. Frecuencia de los motivos por los que acuden a consulta.

Respecto al número de hijos aproximadamente $\frac{3}{4}$ partes de la muestra eran multíparas como se muestra en la gráfica 4.



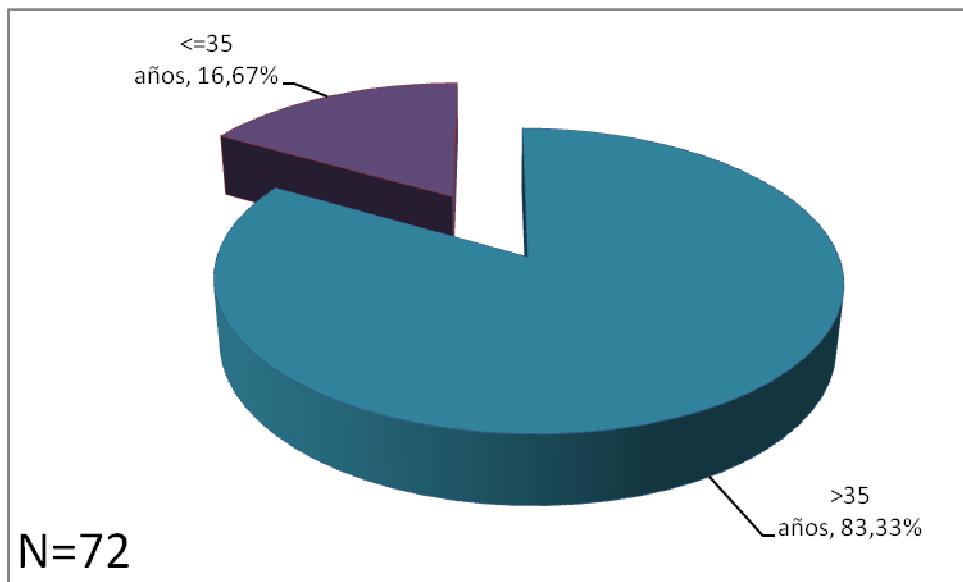
GRÁFICA 4. Frecuencia del número de hijos por paciente.

Una tercera parte de las pacientes se encontraba en el rango de los 40-50 años seguidas de cerca por del rango 50-60 años que entre las dos representaban más del 60% de la muestra como se observa en la gráfica 5.



GRÁFICA 5. Frecuencia de rangos de edad de las pacientes.

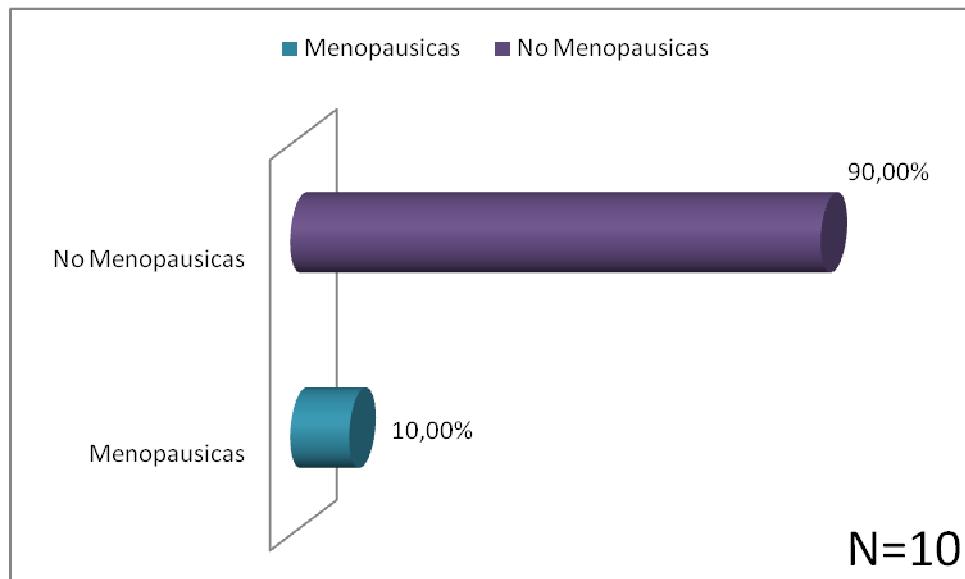
Cuatro de cada cinco pacientes estaban en el corte de mayor de 35 años



GRÁFICA 6. Frecuencia de edad de las pacientes tomando como corte los 35 años.

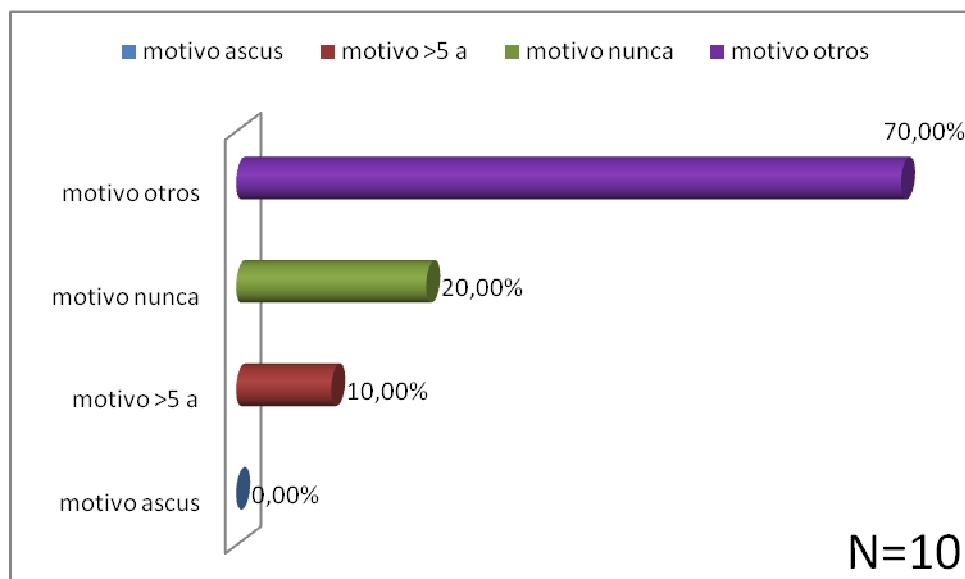
A continuación, se detallan las variables en los casos VPH positivos.

No asociado significativamente el VPH positivo con las pacientes con menopausia teniendo una p 0.065.



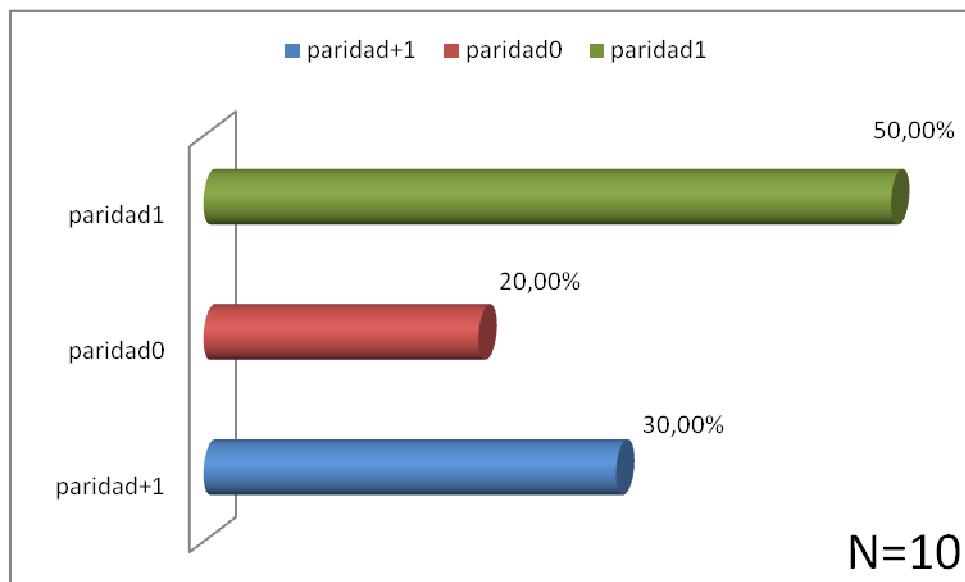
GRÁFICA 7. Porcentaje de VPH positivos asociados a Menopausia.

Significativamente asociado el VPH positivo a otros motivos (antecedentes de cono cervical, antecedentes de verrugas vulvares y antecedentes de madre con cáncer de cuello uterino) con una p 0.000.



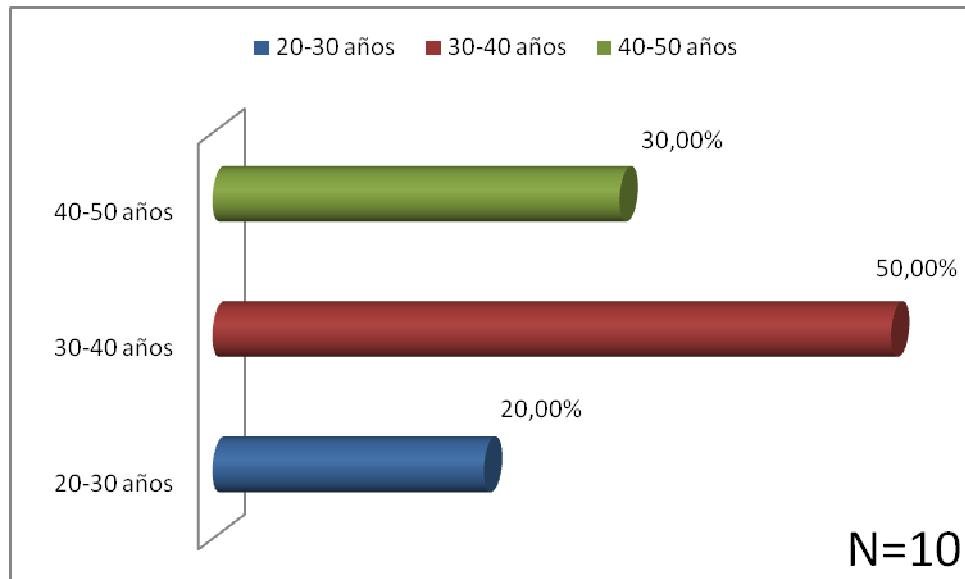
GRÁFICA 8. Porcentaje de VPH positivos asociados a los motivos de consulta.

Significativamente asociado el VPH positivo con la paridad referida a tener uno o más hijos con una $p < 0.003$.



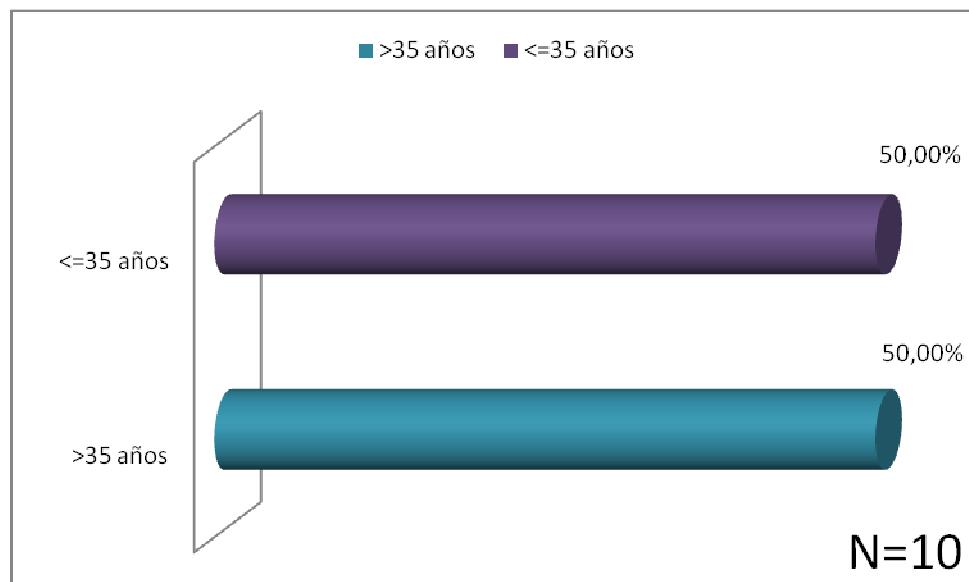
GRÁFICA 9. Porcentaje de VPH positivos asociados al número de hijos por paciente.

El 80% de la muestra se encuentra entre 30 y 50 años.



GRÁFICA 10. Porcentaje de VPH positivos asociados a los rangos de edad.

No se hallaron diferencias en el grupo de edad de mayores y menores de 35 años como muestra la gráfica 11.



GRÁFICA 11. Porcentaje de VPH positivos asociados a los 35 años.

5.2 ANALISIS BIVARIANTE

Los valores de “p” < 0.05 se consideran estadísticamente significativos.

Se observa una relación estadísticamente significativa P= 0.000, entre el VPH positivo y el motivo “otros” (antecedentes de cono cervical, antecedentes de verrugas vulvares y antecedentes de madre con cáncer de cuello uterino). Tabla 1

Motivos de consulta	VPH				total	
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
Más de 5 años	1	10	42	67,7	43	
ASCUS	0	0	6	9,7	6	
Otros	7	70	5	8,1	12	
Nunca Revisión	2	20	9	14,5	11	
Total	10		62		72	
Chi cuadrado	P					
25,7	0.000					

TABLA 1. Pacientes infectadas por VPH según motivos de consulta

Relación entre el **VPH positivo** y **paridad** referida a tener un hijo es estadísticamente significativa P= 0.003. Tabla 2.

Paridad	VPH				total	
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
0 Hijos	2	20	6	9,7	8	
1 Hijo	5	50	7	11,3	12	
Más de 1 hijo	3	30	49	79	52	
Total	10		62		72	
Chi cuadrado	P					
11,4	0,003					

TABLA 2. Pacientes infectadas por VPH según paridad

Relación entre el **VPH positivo** y **menopausia** como la frecuencia mínima esperada es 4,17 se utiliza la corrección de continuidad de Yates donde la P= 0,065 por lo que **no hay relación** estadísticamente significativa. Tabla 3.

Menopausia	VPH				total	
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
Si	1	10	29	46,8	30	
No	9	90	33	53,2	42	
Total	10		62		72	
Chi cuadrado	P					
4,8	0.029					
Corrección por continuidad	P					
	0.065					

TABLA 3 Pacientes infectadas por VPH según menopausia

Relación entre el **VPH positivo** y **rangos de edad para** la edad ≤ 35 años como la frecuencia mínima esperada es 1,67 se utiliza para la corrección el test exacto de Fisher donde la $P= 0,009$ por lo que la **relación es estadísticamente significativa**. Tabla 4.

Corte de Edad	VPH				total	
	Positivo		Negativo			
	N	%	N	%		
≤ 35 años	5	50	7	11,3	12	
>35 años	5	50	55	88,7	60	
Total	10		62		72	
Chi cuadrado	P					
9,3	0,002					
Corrección por Fisher	P 0,009					

TABLA 4. Pacientes infectadas por VPH según rango de edad

6. DISCUSIÓN

En 2006 y con el fin de racionalizar el uso del cribado del cáncer cervical en España, se publicaron las recomendaciones del nuevo protocolo de cribado desarrollado por la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia, Sociedad Española de Citología y la Sociedad Española de Anatomía Patológica⁴⁹.

La aplicación de las indicaciones de la AEPCC para la detección del ADN-VPH en la población atendida en las consultas de ginecología del centro de salud de Burjassot I, afecta solamente a un 0.86% de la población que acude a estas consultas.

El porcentaje de positividad al VPH que se obtiene es similar al de otros estudios como son los de *San José*¹² en 2003 y *González*¹³ en 2005 (3.4% y 10% respectivamente) aunque en ellos la detección de VPH se aplicara a un mayor número de mujeres. Destacar que en los estudios anteriores se les realizó la detección del VPH a todas las pacientes incluidas en el estudio sin seguir las indicaciones de la AEPCC que fueron las que se siguieron en este estudio, por lo que existe una diferencia destacable en cuanto al tamaño muestral.

En el estudio de *Múgica*¹⁴ en 1992, a diferencia de los otros dos anteriores, se muestra los porcentajes de positividad diferenciados en dos grupos: los obtenidos entre pacientes con alteraciones en la citología y/o factores de riesgo (11%) y las pacientes con citología normal (17%). Si se realiza la comparación del presente estudio con el grupo que tiene alteraciones (que es una de las indicaciones reflejadas por la AEPCC), se observa un porcentaje de positividad similar puesto que se puede comparar con las características de la población de estudio del presente trabajo (13,8%).

Se han buscado **estudios descriptivos** previos sobre la positividad del VPH y relación con las variables estudiadas, algunos de los cuales se citan a continuación:

-se observan diferencias con el estudio de G. Oviedo⁵⁰ respecto a la positividad del VPH en los rangos de edad posiblemente debido al país de estudio (Venezuela), que como ya apuntaba Gonzalez¹³, era un factor de riesgo para la infección por VPH.

-respecto al estudio de C. González⁵¹, destacar que los porcentajes de positividad que refleja han sido obtenidos por análisis de otras variables como el tabaquismo, la toma de anticonceptivos orales y el número de parejas sexuales, no analizadas en este estudio.

-comparándolo con el estudio de G. Picón⁵² se observa una positividad mayor posiblemente debido a que todas las pacientes incluidas presentaban alteraciones en la citología, lo cual difiere de algunos de los criterios de la AEPCC.

-el estudio de M. Martínez⁵³ realiza la detección del VPH en pacientes que han sido tratadas de patología cervical previas (criterio de AEPCC para detección del ADN-VPH), pero centra su objetivo en la prevalencia de los distintos serotipos virales, lo cual no ha sido valorado en el presente estudio.

-comparando con el estudio de L. Contreras⁵⁴ resaltar que la principal diferencia entre la positividad es debida a que se ha realizado en una población latinoamericana.

-en el estudio de X. Castells⁵⁵ a la hora de realizar la determinación del VPH en cada comunidad autónoma se citan las diferentes indicaciones de la AEPCC.

-el estudio de J. Ordi⁵⁶ basa la detección del ADN-VPH en una de las indicaciones de la AEPCC (citología alterada por ASC-US).

Se han comparado los resultados del **análisis bivariante** con los obtenidos con estudios previos que se detallan a continuación:

-En el estudio de JY. Park⁵⁷ se concluyó que la menopausia era un factor de riesgo para la persistencia y recurrencia con P=0.012, por lo que no coincide con los resultados obtenidos en el análisis bivariante, posiblemente porque la muestra es pequeña y la potencia estadística es baja.

-La relación en VPH positivo y rangos de edad es estadísticamente significativa en el corte de edad ≤ 35 años, por lo que coincide con los resultados del estudio de JC. Sepúlveda⁵⁹, en el que concluyeron que la prevalencia de la infección por VPH tenía un predominio significante en pacientes con edades comprendidas entre 15 y 35 años con P<0.05.

-La relación VPH positivo y paridad (referida al a tener un hijo) estadísticamente significativa no coincide con lo detallado en el estudio de M. Hernández-Valencia⁵⁸, ya

que en los resultados se concluyó que de los factores de riesgo analizados demostraron diferencias estadísticamente significativas en el número de gestaciones ≥ 2 ; el porcentaje de pacientes con número de gestaciones ≥ 2 oscila entre el 75% y el 87.5% según si hablamos del grupo de casos o controles y en el presente estudio el porcentaje de gestaciones ≥ 1 era menor.

-La relación entre VPH positivo y paridad y VPH positivo y motivos por los cuales las pacientes acuden a consulta son estadísticamente significativas coincidiendo con los resultados del estudio de JA. Suarez⁶⁰ en el que concluyeron:

- Los antecedentes de infección cervical viral por VPH (verrugas vulvares) constituían un factor de riesgo significativo con una ($P<0.05$)
- Los antecedentes de enfermedades benignas del cuello uterino resultaron ser un factor de riesgo significativo con una ($P<0.05$)
- Los antecedentes patológicos familiares de cáncer cérvico- uterino no resultaron ser un factor de riesgo significativo ($P>0.05$)
- Los antecedentes citológicos patológicos de las pacientes resultaron ser un factor de riesgo significativo ($P<0.05$)
- La relación entre la paridad (multíparas y nulíparas) concluyó que la multiparidad constituye un factor de riesgo significativo ($P<0.05$)

-En el estudio de P. Acosta⁶¹ se confirmó la asociación significativamente estadística entre el VPH positivo y la multiparidad $P<0.05$, lo cual difiere del resultado estadísticamente significativo obtenida de la relación VPH positiva y paridad (referida a tener un hijo). Resaltar que el estudio se realiza en población latinoamericana y que las $\frac{3}{4}$ partes de ella presentaba un número de partos superior a tres.

-Estudios como el de S. Vaccarella⁶² y ME. Sarkola⁶³ concluyeron que no había relación estadísticamente significativa entre las pacientes que tuvieron más de un hijo y la incidencia de infección por VPH, lo cual coincide con los resultados obtenidos en el análisis bivariante.

-La relación estadísticamente significativa entre la multiparidad y el riesgo asociado a la infección por VPH presente en diferentes estudios como el de MA. De Boer⁶⁴, CH.

Sierra-Torres⁶⁵ y Z. Nowak⁶⁶ no que coincide con los resultados del análisis bivariante, ya que la relación es estadísticamente significativa al hablar de paridad referida a tener un hijo. Hay que tener en cuenta que de estos tres estudios dos de ellos se realizaron en países subdesarrollados (Jakarta, Indonesia) y el tercero se centraba en ámbito hospitalario y en pacientes embarazadas.

-La presencia de infección por VPH fue más elevada en las pacientes jóvenes, aunque también se observó una frecuencia alta en pacientes de mediana edad descrita en el estudio de JO. Thomas⁶⁷ coincide con los resultados del análisis bivariante.

LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

Con este estudio, se ha intentado describir la aplicación de la prueba del ADN-VPH a la población que se atiende en las consultas de ginecología de un centro de salud aplicando las indicaciones de las AEPCC durante un periodo de un año y relacionar los resultados obtenidos con las variables registradas en la historia clínica.

La primera limitación es el tamaño muestral obtenido de tan solo 72 pacientes que es un factor que seguro que condiciona todos los resultados.

Otra limitación es que para valorar la **sensibilidad** de la prueba de ADN-VPH como cribado en la detección de cáncer de cuello de útero, se deberían haber remitido a la unidad de patología cervical todas las pacientes incluidas en el estudio, no sólo aquellas con resultado positivo.

7. CONCLUSIONES

Las conclusiones que podemos extraer del estudio realizado son:

Las indicaciones de la AEPCC para la detección del VPH como método de cribado para el cáncer de cérvix en la población estudiada se centran significativamente en pacientes:

- no menopáusicas.
- acudían a la consulta porque hacía más de 5 años que no se realizaban revisión.
- tenían más de un hijo.
- en el rango de edad > 35 años.

La detección de casos VPH **positivos** en las consultas de ginecología del centro de salud de Burjassot I cuando se aplican las indicaciones de la AEPCC es similar a la de otros estudios^{13,14} y se centran en pacientes:

- no menopáusicas.
- que acudían a consulta por "otros motivos" (antecedentes de cono cervical, antecedentes de verrugas vulvares y antecedentes de madre con cáncer de cuello uterino).
- tenían un hijo.
- edad igual o inferior a 50 años.

En el **análisis bivariante** se han obtenido diferencias estadísticamente significativas al relacionar el VPH positivo con la edad tomando como corte ≤ 35 años, la paridad referida a tener un hijo y el motivo entendido como "otros motivos" (antecedentes de cono cervical, antecedentes de verrugas vulvares y antecedentes de madre con cáncer de cuello uterino). Por el contrario, no se obtiene diferencias estadísticamente significativas al relacionar el VPH positivo con la presencia de menopausia.

8. BIBLIOGRAFÍA

- 1.** Favre M, Ramoz N, Orth G. Human papillomaviruses: general features. *Clin dematol* 1997; 15:180-198
- 2.** Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillian G, Swan DC, Patel SS et al. Prevalence of VPH infection among females in the United States. *JAMA* 2007; 297: 813-819
- 3.** Zur Hausen H. Papillomavirus infections- a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996, 1288: F55-F78
- 4.** Koshiol J, Lindsay L, Pimenta JM, Poole C, Jenkins D, Smith JS. Persistent human Papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *AM J Epidemiol* 2008; 168:123-137
- 5.** Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007; 121:621-632
- 6.** De Schryver A, Mehens A. Epidemiology of sexually transmitted diseases: the global picture. *Bull world Health Organ* 1999; 68: 639-654
- 7.** Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology and prevention. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 727-746
- 8.** Ahmed AM, Vandana M, Tyring SK, et al. Human papillomaviruses and genital disease. *Dermatol Clin* 2006; 24: 157-165
- 9.** Ault KA. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections in the female genital tract. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2006; 2006 suppl: 40470. Review
- 10.** Bosch FX, de San José S. Chapter 1: Human papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122: 3-13
- 11.** Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 464-474
- 12.** De Sanjose S, Almirall R, Lloveras B, Font R, Diaz M, Muñoz N, et al. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. *Sex Transm Dis.* 2003; 30:788-93.
- 13.** González C, Ortiz M, Canals J, Muñoz L, Jarrín I, García de la Hera M, et al. Higher prevalence of Human Papillomavirus infection in migrant women from Latin America in Spain. *Sex Transm Infect.* 2006;82:260-262.

- 14.** Múgica-Van Herckenrode C, Malcolm AD, Coleman DV. Prevalence of human papillomavirus (VPH) infection in Basque Country women using slot-blot hybridization: a survey of women at low risk of developing cervical cancer. *Int J Cancer*. 1992; 51:581-6.
- 15.** López-Abente, G, Pollán, M, Aragonés, N, and Pérez-Gómez, B. Mortalidad por cáncer y otras causas en España. 2004. Área de Epidemiología Ambiental y Cancer.Centro Nacional de Epidemiología.ISCIII.
- 16.** Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244-265
- 17.** Hebner CM, Laimins LA. Human papilomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Rev Med Virol* 2006; 16:83-97
- 18.** Narisawa-saito M, Kiyono T. basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci* 2007; 98: 1505-1511
- 19.** Wang SS, Schiffman M, Shields TS, et al. Seroprevalence of human papillomavirus 16,18,31,45 in a population-based cohort of 10000 women in costa Rica. *Br J Cancer* 2003; 89: 1248-1254
- 20.** Tarkowsky TA, Koumans EH, Sawyer M, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection and abnormal cytologic testresults in an urban adolescent population. *J Infect Dis* 2004; 189, 46-50
- 21.** Hippelainen M, Syrjanen S, Koskela H, et al. Prevalence and risk factors of human papillomavirus infection in healthy males: a study on Finnish conscripts. *Sex Transms Dis* 1993; 20: 321-328
- 22.** Franceschi S, Castellsalgue X, Dal Maso L, et al. Prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Br J Cancer* 2002; 86: 705-711
- 23.** Burk RD, Ho GY, Beardsley L, et al. Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis* 1996; 174: 679-689
- 24.** Winer RL, Lee SK, Hughes JP, et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003;157 : 218-226
- 25.** Smith Js, Herrero R, Bossetti C, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2002; 94: 1604-1613

- 26.** Anttila P, Saiku P, Koskela P, et al. Serotypes of *C. Trachomatis* and risk of development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA* 2001; 285: 47-51
- 27.** Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE, et al. Association of *C. Trachomatis* with persistence of high risk types of human papillomavirus in a cohort of females adolescents. *American Journal of Epidemiology* 2005; 162: 668-675
- 28.** Strickler HD, Burk RD, Fazzari M, et al. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus positive women. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 577-586
- 29.** Harris TG, Burk RD, Palefsky JM , et al. Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions associated with HIV serostatus, CD4 counts, and human papillomavirus test results. *JAMA*; 2005; 293: 1471-1476
- 30.** Castellsagué X, Muñoz N. chapter 3: cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives and tobacco smoking.. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 20-28
- 31.** Moore TO, YenMoore A, Carrasco D et al. Human papillomavirus, smoking and cancer. *J Cutan, Med Surg*-2001; 323-328
- 32.** Baseman JG, Koutsy LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; 32 (Suppl 1): S16-S24
- 33.** International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical Cancer and Hormonal Contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16573 women with cervical cancer and 35509 wom without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet* 2007; 370: 1609-1021
- 34.** De Viliers EM. Taxonomic classification of papillomaviruses. *Papillomavirus Report* 2001; 12:57-63
- 35.** Peyton CL, Schiffman M, Lorincz AT, Hunt WC, Mieczynska I, bratty C et al. Comparison of PCR-and hybrid captured-base human papillomavirus detection systems usinlg multiple cervical specimen collection strategies. *J clin Microbiol* 1998; 36: 3248-3254
- 36.** Surentheran T, Harwood Ca, spink PJ, Sinclir AL, Leigh IM, Proby CM et al. Detection and typing of human papillomaviruses in mucosal and cutaneos biopsies from inmunosuppressed and inmunocompetent patients and patients with epidermodysplasia verruciformis: a unified diagnostic approach. *J Clin Pathol* 1998; 51: 606-610
- 37.** Huh WK. Human papillomavirus infection. A concise review of natural history. *Obstet gynecol* 2009; 114: 139-143

- 38.** Strickler HD, Burk RD, Fazzari M, Anastos K, Minkoff H, Massad LS et al. Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus positive women. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:577-586
- 39.** Kanodia S, Fahey LM, Kast WM. Mechanisms used by papillomaviruses to escape the host immune response. *Curr Cancer drug Targets* 2007; 7: 79-89
- 40.** Frazer IH, Thomas R, Zhou J, Leggatt Gr, Dunn L, McMillan N et al. potential strategies utilized by papillomavirus to evade host immunity. *Inmunol Rev* 1999; 168: 131-142
- 41.** Stanley M. VPH: A master at avoiding the host defenses. *VPH today* 2007; 11: 1-16
- 42.** Jonson JC, Burnett AF, Willet GD, Young MA, Doniger J. High frequency of latent and clinical human papillomavirus cervical infections in immunocompromised human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 321-327
- 43.** Leigh IM, Glover Mt. skin cancer and warts in immunosuppressed renal transplant recipients. *Recent Results Cancer Res* 1995; 139: 69-86
- 44.** Muñoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002;359:1093-101.
- 45.** Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia. XVIII Congreso de la AEPCC.
- 46.** Future II study group. Prophylactic efficacy of a quadrivalent human papillomavirus (VPH) vaccine in women with virological evidence of VPH infection. *J Infect Dis* 2007 Nov 15; 196: 1438-1446
- 47.** Cutts FS, S Franceschi S, Goldie S et al: Human papillomavirus and VPH vaccines: a review: *Bulletin WHO* 2007; 85: 649-732
- 48.** Risk of female Human Papillomavirus acquisition associated with first male sex partner. *J Infect Dis* 2008; 197: 279-282
- 49.** Puig-Tintoré LM, Torné A, Alonso I. Current techniques in screening for cervical cancer in Spain: updated recommendations. *Gynecol Oncol*. 2008 Sep;110:S8-S10. Epub 2008 Jul 7.
- 50.** Oviedo G, Arpaia A, Ratia E, Seco N, Rodríguez I, Ramírez Z. Factores de riesgo en mujeres con infección del VPH. *Rev Chile Obstet Ginecol* 2004; 69: 343-346
- 51.** González C, Piñango R. Frecuencia de lesiones de infección por virus del papiloma humano diagnosticado por citología cervico-vaginal y algunos factores de riesgo en el barrio El Jebe. *Bol. méd. postgrado*;17:3-12.

- 52.** Picón G, Neira H, Sanchez I, Campoverde A, Cordero L, Ugalde J. Detección del ADN-VPH mediante PCR en pacientes con AS-CUS. Revista Oncología. Vol. 16. Diciembre 2006.
- 53.** Martínez M, Alvárez-Palencia C, Ojeda D, Narbona I, Sáez E, Martínez C. Análisis descriptivo del diagnóstico y tratamiento de las lesiones intraepiteliales de alto grado en nuestro medio. Hospital Materno infantil. Málaga
- 54.** Contreras L, Correnti M, Avila M, Guerrero A, León A. VPH en contexto ecológico venezolano. Diagnóstico citológico y molecular. Salus online Diciembre 2008 Virus Papiloma Humano p.68
- 55.** Castells X, Sala M, Ascunce N, Salas D, Zubizarreta R, Casamitjana M. Proyecto DESCRIC 2007; capítulo I:214-218.
- 56.** Ordi J. Técnicas de detección del VPH y su papel en el cribado y el manejo de las lesiones cervicales: captura de híbridos. Sesión Sociedad Española de Citología-Patología Ginecológica. Capítulo 4: 17-19
- 57.** Park JY, Lee KH, Seo SS. Persistencia y recurrencia de la enfermedad por VPH tras conización cervical. Gynecologic Oncology 2008; 108:549-554
- 58.** Hernández-Valencia M, Rodríguez-Lundes O, Landero-Montes de Oca M, Pichardo-García R, Escamilla-Godínez G. Factores de riesgo asociados a alteraciones histológicas del aparato genital en pacientes del primer nivel de atención. Cir Ciruj 2009; 77:451-454
- 59.** Sepulveda JC. Detección del VPH en citologías diagnosticadas como AS-CUS. Estudio realizado en la universidad de Caldas.
- 60.** Suarez JA, Gonzales , Figueroa D, Galvez A. Algunos factores biosociales relacionados con la aparición de citología alterada. VI congreso hispanoamericano de anatomía patológica 2004
- 61.** Acosta P, Muñoz S, Álvarez R, Rodríguez J, Orejuela L, Arboleda Y, Sierra H. Factores de Riesgo Asociados a Cáncer de Cuello Uterino en el Departamento del Cauca. Revista Facultad de Ciencias de la Salud - Universidad del Cauca Volumen 6 / No. 3 / Septiembre 2004
- 62.** Vaccarella S, Herrero R, Dai M, Snijders PJ, Meijer CJ, Thomas JO, Hoang Anh PT, Ferreccio C, Matos E, Posso H, de Sanjosé S, Shin HR, Sukvirach S, Lazcano-Ponce E, Ronco G, Rajkumar R, Qiao YL, Muñoz N, Franceschi S. Reproductive

factors, oral contraceptive use, and human papillomavirus infection: pooled analysis of the IARC HPV prevalence surveys *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 572006 Nov;15:2148-53.

63. Sarkola ME, Grénman SE, Rintala MA, Syrjanen KJ, Syrjanen SM. Effect of second pregnancy on maternal carriage and outcome of high-risk human papillomavirus (HPV). Experience from the prospective finnish family HPV study *Gynecol Obstet Invest.* 2009;6:208-16.

64. De Boer MA, Vet JN, Aziz MF, Cornain S, Purwoto G, van den Akker BE, Dijkman A, Peters AA, Fleuren GJ. Human papillomavirus type 18 and other risk factors for cervical cancer in Jakarta, Indonesia *Int J Gynecol Cancer.* 2006 Sep-Oct;16:1809-14.

65. Sierra-Torres CH, Acosta-Aragón MP, Orejuela-Aristizabal L. Human papillomavirus type 18 and other risk factors for cervical cancer in Jakarta, Indonesia *Rev Salud Pública (Bogota).* 2006 May;8 Suppl 1:47-58.

66 Nowak Z, Karowicz-Bilińska A. Human papilloma virus infection in pregnant women with normal pap-smears, HPV oncogenity and risk factors *Ginekol Pol.* 2007 Sep;78:678-84.

67 Thomas JO, Herrero R, Omigbodun AA, Ojemakinde K, Ajayi IO, Fawole A, Oladepo O, Smith JS, Arslan A, Muñoz N, Snijders PJ, Meijer CJ, Franceschi S. Prevalence of papillomavirus infection in women in Ibadan, Nigeria: a population-based study. *Br J Cancer.* 2004 Feb 9;90:638-45.