

Identificación del virus del papiloma humano de alto riesgo utilizando la prueba inmunohistoquímica Viroactiv-HPV en pacientes con resultados citológicos de células ASCUS en un laboratorio de Patología Medellín-Colombia 2005-2006

*Catalina Matías Orozco**
*Adriana Arango Martínez***
*Ricardo Aníbal Mesa Cock****
*Clara Marcela Aguilar Barrientos**
*Augusto Enrique Anaya Hoyos**
*Carolina Arenas Ruiz**
*Carlos Andrés Maestre Mattos**

RESUMEN

Introducción: el virus de papiloma humano ha sido identificado como agente causal de carcinoma de cuello uterino. Algunas cepas tienen un riesgo más alto para esta enfermedad, y pueden ser diferenciadas con ciertas técnicas. **Objetivo:** determinar la frecuencia del virus del papiloma humano de alto riesgo utilizando la prueba de inmunohistoquímica Viroactiv-HPV, en pacientes con resultado de anomalías escamosas de significancia indeterminada en la citología y compararlo con los hallazgos de la colposcopia biopsia describiendo algunas características de este grupo de mujeres y su seguimiento. **Materiales y Métodos:** estudio descriptivo transversal en 45 pacientes con antecedente de anomalías escamosas de significancia indeterminada en la citología cervico-uterina, recolectadas entre enero de 2005 y agosto de 2006 en el laboratorio de patología de la Clínica del Prado, Medellín, Colombia. **Resultados:** el grupo de estudio con citología que reportó anomalía escamosa de significancia indeterminada tenía una edad promedio de 31 años con algún nivel de formación y pertenecían en su mayoría al estrato 2 ó 3, iniciaron relaciones sexuales antes de los 16 años un 20% y el 17,7 % había tenido en 1 año más de cuatro compañeros sexuales. **Conclusiones:** la prueba de tipificación de HPV Viroactiv-HPV fue positiva en el 4,4% (2/45) con resultados de NIC I Y NIC II en la colposcopia-biopsia, es posible que con un grupo más amplio este porcentaje pudiera ser mayor. (MÉDICAS UIS 2007;20(2):81-90).

PALABRAS CLAVE: Papanicolau. Colposcopia. Virus del papiloma. Inmunohistoquímica. Seguimiento.

INTRODUCCIÓN

En épocas pasadas el carcinoma de cuello uterino era la causa de muerte más frecuente por cáncer en la

mujer, sin embargo en los últimos 30 años, gracias a la detección de lesiones tempranas mediante el frotis de Papanicolau, se logró disminuir en un 50 % la tasa de mortalidad¹.

*Estudiante de último año de Medicina, Universidad CES. Medellín, Colombia.

** MD Gineco-obstetra. MsC en Epidemiología. Profesora Universidad CES. Grupo de Salud Sexual y Reproductiva.

***MD Patólogo. Profesor de la facultad de medicina de la Universidad CES. Patólogo de la Clínica del Prado. Medellín, Colombia.

Correspondencia: Dra. Arango. Cl.10 A No 22-04 Medellín-Colombia. e-mail: aarangom@ces.edu.co

Artículo recibido el 20 de abril de 2007 y aceptado para publicación el 15 de mayo de 2007.

A pesar de esto, es el segundo tipo de cáncer más frecuente en mujeres a nivel mundial y el primero en la mayoría de países en vía de desarrollo, especialmente en grupos socioeconómicos menos favorecidos, mujeres promiscuas, mujeres que inician sus relaciones sexuales a edad temprana y fumadoras.

En el año 2000 hubo aproximadamente 12 800 casos nuevos de cáncer de cérvix invasor y más de

50 000 casos de carcinoma in situ produciéndose 4000 muertes por esta enfermedad².

En Norteamérica, el promedio de edad al momento del diagnóstico es de 47 años, y casi la mitad de los casos se dan en mujeres menores de 35 años. Sin embargo, las mayores de 55 años aportan considerablemente a la tasa de mortalidad ya que en el momento de descubrir la enfermedad se encuentra en un estado avanzado³. En cambio, las Neoplasias Intraepiteliales Cervicales (NIC) precursoras de cáncer invasor son más frecuentes en mujeres más jóvenes, menores de 40 años y están confinadas al

epitelio cervical y muestran grados variables de desorden en la maduración⁴.

La citología cervicouterina es el método de tamizaje más temprano que hay y se recomienda cuando la mujer comience su actividad sexual o a partir de los 18 años. Sin embargo, muchas veces no se logra una cobertura adecuada, particularmente en países como el nuestro, impidiendo que las lesiones detectadas sean tratadas a tiempo, convirtiéndose en una enfermedad más agresiva y con menos posibilidades de tratamiento exitoso⁵. Para estandarizar los resultados de la citología y determinar lo adecuado

Tabla 1. El sistema Bethesda 2001(resumido). ASCUS (Células escamosas atípicas de significado desconocido – *Atypical squamous cells of unknown significance*), HSIL (*High-grade squamous intraepithelial lesion* - Lesión intraepitelial escamosa de alto grado), LSIL (*Low-grade squamous Intraepithelial lesion* – Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado), VPH (Virus de papiloma humano). Tomado de: National Cancer Institute Workshop. The 2001 Bethesda System for reporting results of cervical cytology. JAMA 2002;287(16):2114-9.

El Sistema Bethesda 2001			
Idoneidad del espécimen	Satisfactoria para la evaluación No satisfactoria para evaluación		
Categorización general (opcional)	Negativa para lesión intraepitelial o malignidad Anormalidades de células epiteliales Otros		
Interpretación y Resultados	Negativo para lesión intraepitelial o malignidad	Organismos: • Tricomonas vaginalis • Organismos compatibles con Candida • Cambios sugestivos de Vaginosis Bacteriana • Bacterias morfológicamente similares a Actinomyces • Cambios celulares compatibles con Herpes simplex Otras hallazgos no neoplásicos: • Cambios celulares reactivos asociados a inflamación, radiación o DIU • Estado Celular glandular posthisterectomía • Atrofia	
	Anormalidades de células epiteliales	Células escamosas atípicas (ASCUS)	• Significado desconocido (ASCUS) • Que no excluyen HSIL (ASC-H) • Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado LSIL. Comprende también VPH, Displasia leve, neoplasia intraepitelial cervical (NIC 1) • Lesión intraepitelial escamosa de alto grado HSIL. Comprende displasia moderada y severa, Carcinoma in situ, NIC 2 y NIC 3 • Carcinoma de células escamosas
		Células Glandulares	• Células Glandulares Atípicas (AGC) • Células glandulares atípicas que favorecen neoplasia • Adenocarcinoma endocervical in situ • Adenocarcinoma
		Otro	Células endometriales en una mujer >40 años
Revisión y tests	Incluir si son apropiados		
Notas y sugerencias	Opcional		

de la muestra, el Instituto Nacional de Cáncer publicó en 1988 el Sistema Bethesda⁶, actualizado por última vez en el 2001, con la participación de numerosas organizaciones (Tabla 1).

A pesar de la controversia que generó la categoría de Células Escamosas Atípicas de Significado Desconocido (ASCUS, del inglés *Atypical Squamous Cells of Unknown Significance*), en la clasificación de Bethesda de 2001, se tomó la decisión de conservarla como categoría equívoca, dado que en muchas mujeres un NIC II ó III podría hacerse evidente sólo cuando se hacían estudios adicionales para esclarecer el origen de este resultado, ya que éste no excluye la posibilidad de una lesión intraepitelial. Es importante recalcar que a pesar de que sólo un 5 a 10% de las mujeres que presentan ASCUS albergan una enfermedad cervical seria, aproximadamente un tercio de las lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL) son clasificadas como ASCUS durante el tamizaje inicial⁷.

Es esencial recordar que el significado de una citología mínimamente alterada también cambia con la edad de la paciente, sobre todo en las mujeres posmenopáusicas, puesto que las muestras de estas son más difíciles de interpretar debido a dificultades en la toma, terapia de reemplazo hormonal, alteraciones inflamatorias y metaplasia reactiva⁸. En todos los grupos de edad, la vaginitis atrófica produce degeneración e inflamación extensa, que puede ser interpretado de forma equivocada como ASCUS u otra lesión más severa. En mujeres de mayor edad los cambios metaplásicos y reactivos son otra causa de falsos positivos⁹.

El ASCUS en las mujeres más jóvenes se asocia entonces con mayor frecuencia a una lesión de alto grado o a un LSIL (Lesión intraepitelial de bajo grado) y también con una mayor prevalencia de VPH si se les realiza un test de ADN¹⁰.

El VPH tiene el papel etiológico más importante en el cáncer de cuello uterino. Se han identificado numerosos tipos de virus del papiloma, los cuales pueden clasificarse en varios grupos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, y 82)¹¹; probabilidad de alto riesgo (26, 53 y 66); y de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108). Entre los serotipos de alto riesgo el 16 y el 18 corresponden al mayor porcentaje. Sin embargo, realizar citologías a intervalos repetidos (4 meses

generalmente), hacer *tests* para detectar ADN de HPV de alto riesgo o citología combinada con cualquiera de los métodos ya mencionados, son de gran aceptación en los Estados Unidos de América¹².

Se sabe que una infección no complicada de la parte inferior del aparato genital femenino por el virus del VPH y la atipia de los condilomas, puede agravarse y evolucionar a NIC que es precedente del carcinoma invasor^{13,14}.

Debido a su importancia dentro de las tasas de mortalidad es necesario que se creen programas de tamizaje e identificación temprana que permitan mejorar la expectativa de vida de miles de mujeres, sobre todo en los países en vía de desarrollo que carecen de programas de tamizaje adecuados. Cualquier método siempre será mejor que ningún tipo de intervención en absoluto¹⁵ y los *tests* de identificación de VPH se perfilan como un método excelente para optimizar la detección temprana de lesiones. Cada vez se evalúa el impacto que podría traer a la población.

Se ha propuesto que la tipificación de VPH incrementa el valor predictivo negativo de la citología, mejoraría el seguimiento de las pacientes que realmente requieren una evaluación más exhaustiva y aumentaría la efectividad de la misma citología en la detección de adenocarcinomas y sus precursores¹⁶.

Determinar la presencia de ADN de VPH resultó tener una mayor relación costo-beneficio que otras alternativas de manejo, como la citología repetida o la colposcopia inmediata tras una citología. Aunque la colposcopia inmediata resulta en un incremento mayor de la expectativa de vida frente a las otras estrategias, esta ventaja es mínima, y sus costos son muy altos. Además, se demostró que el *triage* de VPH resulta mucho más efectivo y económico si la muestra a analizar se toma en la misma visita de la citología, ya que esto mejora la adherencia^{6,17}.

Existen tres formas de identificación de VPH, de las cuales la más aceptada es la prueba de detección de ADN y consiste en la detección de la enfermedad mediante PCR. En este momento es el método más usado y el que da más sensibilidad para la detección de este agente, siendo esta mayor en pacientes con lesiones cervicales de más alto grado, representado por el 53,7% para ASCUS, 84,6% para LSIL, y 93%

para HSIL¹⁸. Además, el valor predictivo negativo tanto para NIC II III o cáncer cervical fue de 99,8%, lo que nos habla de su gran utilidad en pacientes con resultados considerados normalmente como equívocos¹⁸.

La prueba Viroactiv-VPH detecta la proteína L1 de la cápside viral, generada luego de que termina la replicación del ADN y emerge la progenie del virus. Esta proteína es el principal punto de acción de la respuesta celular en contra del VPH²⁰. Su identificación se logra mediante el uso de dos anticuerpos monoclonales, el anticuerpo s33 que detecta un epítome altamente conservado de la proteína L1 y el anticuerpo T16 que detecta un epítome N-terminal de la misma proteína. Identificaría la infección en una fase activa, abriendo nuevas posibilidades para un control más cercano en las pacientes que resultaran positivas. Detecta cuatro serotipos considerados de alto riesgo (16, 18, 33, 39), aunque no especifica para cuál de ellos es positivo, y ha sido probada en mujeres con NIC I y II para evaluar la relación entre la progresión de las lesiones y la tinción de la L1. En un estudio realizado en Alemania, se encontró que el 76,4% de mujeres cuya tinción de L1 fue negativa progresaron a un grado de displasia mayor (NIC III y carcinoma microinvasivo de células pequeñas)¹⁹ y sólo el 23,6% lograron la remisión, mientras que el 31% de las pacientes positivas para L1 avanzaron el grado de enfermedad. La ausencia de antígeno detectable de VPH probablemente se debe a una síntesis de proteínas por debajo del umbral de detección de la prueba de inmunohistoquímica. Sabiendo que la L1 es uno de los principales puntos de acción celular contra el HPV20, una prueba negativa representaría una translación defectuosa que impediría una respuesta celular adecuada que podría promover la integración del ADN viral con el ADN del huésped y facilitar la progresión de la enfermedad en mujeres con NIC I ó II¹⁹.

Se ha demostrado que en aquellos países donde los programas de citología funcionan adecuadamente, es beneficioso añadir un programa de tipificación de HPV, con el fin de esclarecer los resultados ambiguos generados por la lectura de las citologías, mientras que en aquellos países donde estos programas no están implementados, o no son eficientes, la tipificación debería considerarse como un *test* alternativo al tamizaje primario²¹.

Dentro del estudio se buscó establecer la prevalencia de ASCUS en un servicio de patología de referencia

de la ciudad, así como identificar la presencia de VPH de alto riesgo en pacientes cuyo reporte de citología mostró células escamosas atípicas de significado desconocido utilizando la prueba ViroactivHPV y que esta prueba podría ser una alternativa en el tamizaje de pacientes y a menor costo, adicionalmente explorar variables relacionadas con la presencia de patología cervical.

La idea sería poder mostrar esta prueba como una alternativa en la población general que se somete a la citología anualmente, permitiendo realizar una labor educativa sin generar alarma o angustia en las pacientes con HPV positivo, pero citología negativa, para que continúen con un seguimiento adecuado y así documentar la persistencia de la lesión y evaluar el desarrollo de una posible displasia cervical.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo trasversal de cohorte, se tomaron 45 mujeres, pertenecientes principalmente a los estratos socioeconómicos 2 (24 pacientes) 53,33% y 3 (14 pacientes) 31,11% sexualmente activas con resultado de ASCUS en la citología, que accedieron a participar en el estudio y que respondieron las preguntas del formulario propuesto. Las pacientes se seleccionaron del laboratorio de Patología de la Clínica del Prado en Medellín, Colombia entre enero de 2005 y agosto de 2006.

No hubo diseño muestral ya que al estudio ingresaron todas las pacientes con citología alterada con reporte de ASCUS teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión durante el período de estudio.

Se incluyeron dentro del estudio mujeres mayores de 18 años y menores de 50 años que se realizaron una citología cervico-uterina desde enero del 2005 en la Clínica del Prado en Medellín-Colombia y cuyo resultado fue ASCUS.

Fueron excluidas menores de edad, mujeres en embarazo o en período de lactancia, mujeres que no accedieron a participar en el estudio o con enfermedades mentales.

Se prepararon un total de 45 muestras, en dos grupos, cada una con su placa de control positivo. Las muestras usadas fueron placas de citología

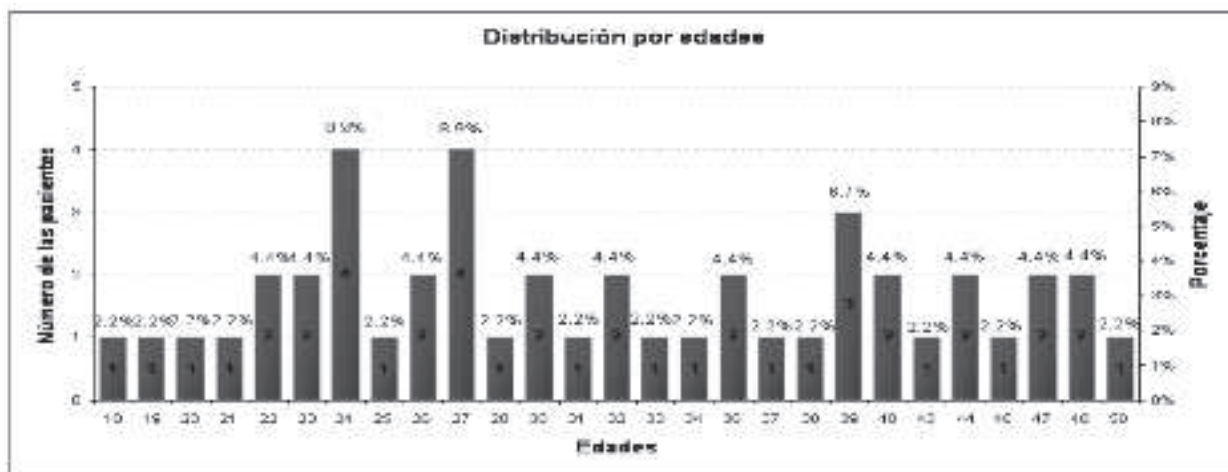


Figura 1. Distribución según edad en pacientes con ASCUS.

convencional con una tinción inicial de inmunoperoxidasa/DAB.

La prueba ViroactivHPV que fue aplicada a las citologías de las pacientes, se basa en los principios de la inmunohistoquímica, para sus efectos, y resulta útil para detectar VPH de alto riesgo (serotipos 16, 18, 31, 33), aunque sin especificar el tipo preciso del serotipo. La prueba fue realizada en el Instituto Colombiano de Medicina Tropical. Fueron preparadas de acuerdo con las instrucciones del kit, pasando inicialmente por acetona y alcohol a diferentes concentraciones (95 % -70 % - 50 %) con el fin de realizar un desmonte, y posteriormente tratadas con un buffer citratado para lograr la recuperación antigénica. Finalmente fueron incubadas y coloreadas con el cromógeno y posteriormente fueron leídas y comparadas con los controles positivos, por el médico patólogo del grupo de investigación.

Posteriormente las pacientes fueron contactadas telefónicamente y presencialmente para llenar un cuestionario con las preguntas previamente definidas por los investigadores donde se incluyeron las siguientes variables: edad, estado civil, número de hijos, ocupación, menarca, edad de la primera relación sexual, número de embarazos, número de compañeros sexuales, tabaquismo, enfermedades previas de cuello uterino, citología previa y resultado, colposcopia/biopsia, tratamiento, además de la historia familiar de enfermedades de cuello uterino.

Para el análisis estadístico se construyó la base de datos en Excel para hacer el registro de la información y posteriormente se pasó al programa SPSS 13®.

Las variables de tipo cualitativas se les estimó la frecuencia y las de tipo cuantitativo se les calculó la media con su desviación estándar y demás medidas

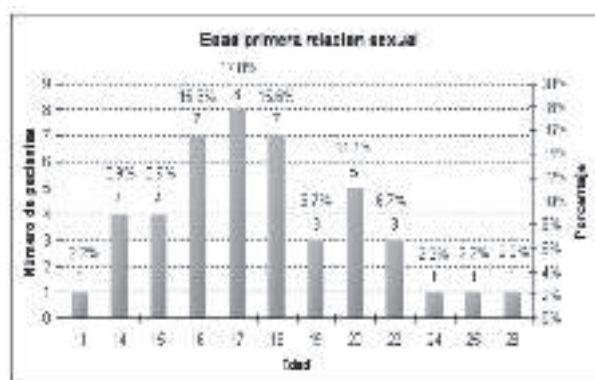


Figura 2. Edad de la primera relación sexual en pacientes con ASCUS.

de resumen que permite describir su comportamiento.

El proyecto fue presentado al Comité de investigaciones de la Universidad CES, no se incurrió en violación a la ética médica, ya que se realizaron pruebas en placas de laboratorio y las pacientes se les pidieron su consentimiento para participar en la investigación y se mantuvo en reserva la identidad de los pacientes.

RESULTADOS

En el período comprendido entre enero del 2005 y agosto de 2006 se realizaron en el laboratorio de patología de la Clínica del Prado un total de 14 584 muestras de citología. Se excluyeron cuatro pacientes que eran menores de edad, cuatro que estaban en embarazo, seis mujeres mayores de 50 años, dos no accedieron a participar en el estudio y 25 que no pudieron ser contactadas por número telefónico erróneo. De éstas, un total de 91 fueron encontradas con ASCUS, lo que corresponde a una prevalencia de 0,625%. Se encuestaron un total de 50 pacientes y se prepararon 45 placas, las otras cinco no estaban disponibles.

La frecuencia de HPV de alto riesgo en las placas de citologías cervico-vaginal utilizando la prueba de inmunohistoquímica con Viroactiv-HPV fue del 4,4 % (2/45).

Las pacientes del grupo de estudio se encontraban en un rango de edades comprendido entre los 18 y los 50 años (Figura 1), con un promedio de edad de 31 años (DE 9,23).

El 80% de las pacientes encuestadas tenían entre uno y dos hijos, nueve pacientes no tenían hijos y solamente tres (6,6%) tenían cuatro o más hijos.

Con relación al grado de escolaridad, un 35,6% de las pacientes tenían solamente estudios primarios, mientras que el resto habían alcanzado un nivel secundario y un 26,7% que habían realizado algún tipo de estudio superior (profesional, técnico o tecnológico).

La mayoría de mujeres se desempeñaban en labores del hogar 28,9% (13 pacientes), cinco pacientes eran estudiantes 11,1% y 8,9% (cuatro pacientes) estaban desempleadas.

La menarca se reportó entre los nueve y los 14 años en un 80% de las pacientes, mientras que la primera relación sexual ocurrió entre los 14 y los 18 años en un 66,7% de las pacientes (Figura 2). El 31,1% de las mujeres aseguraron tener solamente un compañero sexual, mientras que 35% reportaron tener cuatro o más compañeros sexuales. Con relación a la pregunta sobre el uso del preservativo, el 53,3% de las parejas nunca lo usaban y un 24,4% reportó usarlo en algunas ocasiones.

En cuanto a los antecedentes personales y familiares, 11,1% de las mujeres tuvieron en algún momento

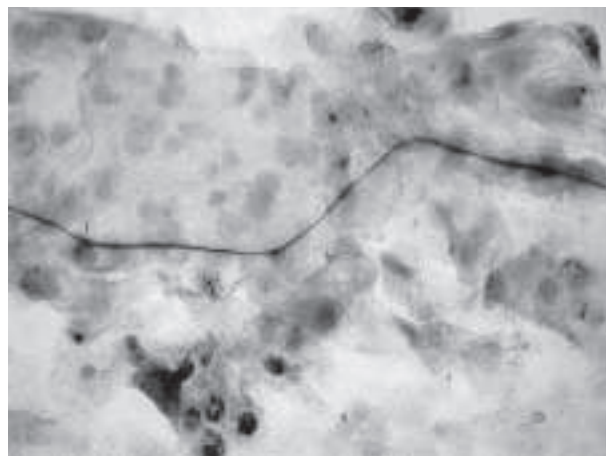


Figura 3. Placa positiva para VPH de alto riesgo. Se observan núcleos coloreados fuertemente, de aspecto granular. Fotografía digital con cámara Olympus en microscopio Olympus C41 (400X).



Figura 4. Placa positiva para VPH de alto riesgo. Obsérvese núcleo central, fuertemente coloreado. Fotografía digital con cámara Olympus en microscopio Olympus C41 (400X).

algún tipo de anomalía en cuello uterino y un 33,3% tuvieron o tienen familiares con enfermedad de cuello uterino, sin conocer la patología específica. Al preguntarles por síntomas asociados a esta enfermedad, el prurito fue el síntoma más comúnmente reportado 60% (27/45), siguiéndole en su orden leucorrea 53,3% (24/45) y hemorragia uterina anormal 42,2% (19/45) como podemos observar algunas pacientes referían más de un síntoma.

Un 31,1% de las pacientes refirieron fumar o haber fumado en algún momento de su vida, sin embargo, no se tienen datos sobre cantidad de cigarrillos y años fumados, así como de exposición ambiental al cigarrillo.

Al preguntar por la última citología conocida, encontramos que un 55,6% de las pacientes mantenían el diagnóstico de ASCUS, debido a la falta de citologías de control, mientras que 19 pacientes (42,2%) tenían una citología posterior al primer ASCUS normal. Solamente una paciente reportó una citología con NIC I-HPV posterior al primer ASCUS.

Al analizar los resultados de las colposcopias, se encontró que cuatro de las 45 pacientes (8,8%) con citología alterada tenían pendiente dicho examen. Cuatro mujeres tuvieron un resultado de NIC I y recibieron diversos tratamientos, siendo en una el manejo expectante, en otra conización y dos fueron sometidas a crioterapia. Tres pacientes tuvieron un resultado de NIC II y todas fueron tratadas con conización, una de ellas también tenía de VPH. Una sola paciente (2,2%) se le encontró NIC III y fue tratada con conización.

De las 45 pacientes, un total de ocho (17,7%) tuvieron alguna anomalía en la colposcopia. De estas ocho pacientes, tres (37,5%) no se habían realizado una nueva citología de control y mantenían su clasificación de ASCUS, mientras que cuatro (50%) tenían una citología de control posterior a la colposcopia y posterior al tratamiento normal. Una sola paciente (12,5%) tenía en su citología un resultado igual al de la colposcopia.

CASOS POSITIVOS PARA VPH DE ALTO RIESGO

De estas 45 pacientes, solamente dos (4,4%) resultaron positivas para VPH de alto riesgo mediante la prueba Viroactiv HPV (Figuras 3 y 4).

El caso número uno se trataba de una paciente de 18 años residente en zona urbana y con estudios secundarios, sin hijos. Refirió menarca a los 14 años y la primera relación sexual a los 17 años, con tres compañeros sexuales hasta la fecha. No tenía antecedentes personales de enfermedad de cuello uterino. En la colposcopia y biopsia se obtuvo un resultado de NIC II, que fue tratado con conización.

El caso número dos se refiere a una paciente de 24 años residente en zona urbana y con estudios secundarios, un hijo (a los 17 años). Refirió menarca a los 14 años, con primera relación sexual a los 15 años. Como antecedentes personales, la paciente se había desempeñado como trabajadora sexual y había sufrido previamente de condilomas. A la colposcopia y biopsia tuvo un hallazgo de VPH y fue tratada con crioterapia de las lesiones encontradas.

DISCUSIÓN

Siendo Colombia un país donde la tasa de mortalidad por cáncer de cuello uterino es bastante alta, es muy importante el desarrollo de estrategias eficaces que permitan disminuir la morbimortalidad por esta causa^{24,25}. En el presente estudio se tomó un grupo de mujeres pertenecientes a un estrato socioeconómico medio-bajo, que ingresaron al estudio al tener un resultado de ASCUS en su citología.

Aunque la clasificación de ASCUS puede llegar a causar cierto grado de controversia en el ámbito médico, durante la preparación del informe de Bethesda⁶ se consideró prudente conservar esta clasificación puesto que un buen número de mujeres con lesiones de grado más avanzado eran descubiertas gracias a la realización de los exámenes complementarios que son ordenados de rutina luego de una citología de resultado equivoco⁷.

En este trabajo se encontró que siete de las pacientes (15,5%) presentaron algún grado de NIC en la colposcopia y cuatro de ellas (8,8%) se agrupaban en NIC II–NIC III, que se aproxima bastante al porcentaje propuesto por el trabajo de Bethesda⁶ que varía entre el 10 y el 20% para NIC II –NIC III.

En el estudio ALTS, randomizado y multicéntrico, se compararon tres métodos (colposcopia inmediata, colposcopia luego de citología posterior con clasificación ASCUS o más, o colposcopia luego de clasificación con ADN de HPV) para establecer una

forma de remisión efectiva a colposcopia para descubrir NIC-III subyacente en pacientes con un resultado de ASCUS en la citología. En este estudio, el manejo sólo con citologías repetidas demostró poca sensibilidad (44,2%) para detectar neoplasias de alto grado, mientras que el triage para colposcopia tras realizar un test de Captura Híbrida II para VPH tuvo una sensibilidad del 96,3%¹⁰. En el presente estudio estos valores fueron más bajos y solo el 17,7% mostró alteraciones en la colposcopia luego de tener una citología con ASCUS. Pero en aquellas placas donde la prueba de Viroactiv fue positiva, el resultado de la colposcopia también mostró patología cervical.

Los factores de riesgo asociados al cáncer de cuello uterino han sido bien descritos dentro de la literatura mundial^{3,13,21,26}, y se presentan en la población estudiada. El VPH es el más fuertemente asociado, también el inicio temprano de las relaciones sexuales (menos de 16 años), múltiples compañeros sexuales (mayor de 4) y fumar. En el presente estudio se exploraron algunos factores y se encontró que un 20% de las pacientes iniciaron su actividad sexual antes de los 16 años, mientras que un 17,77% de las pacientes refirieron tener más de cuatro compañeros sexuales, además una paciente reportó tener historia previa de condilomas.

En el presente estudio al explorar algunos factores relacionados con el VPH se encontró que 24 (53,3%) de las pacientes no tenían factores de riesgo para VPH, mientras que 15 (33,3%) tenían al menos un factor de riesgo y seis (13,3%) tenían dos o más factores.

El contacto sexual con una persona infectada es el requisito para la transmisión del virus, probablemente a través de gotas que se ponen en contacto con la mucosa o la piel. Los factores de riesgo considerados en un principio resultan siendo factores agregados que promueven una mayor exposición al HPV, entre ellos podemos contar: número de parejas sexuales, inicio temprano de la actividad sexual, infecciones de transmisión sexual previas, tipo de protección que se usa, edad de la persona y de su pareja y el hábito de fumar, entre otros^{3,13}. Hasta el momento no se tienen estudios concluyentes sobre la posibilidad de transmisión no sexual de este virus, como podría ser a través de fomites o vía vertical. Resulta interesante comentar que un total de 77,7% usaban el condón de manera ocasional o no lo usaban, lo cual las pone en riesgo para cualquier enfermedad

de transmisión sexual, indica que falta educar a las pacientes en este aspecto.

En uno de los estudios encontraron que las pacientes que resultaron negativas para el VPH de alto riesgo y anomalías en la colposcopia/biopsia tendrían una mayor probabilidad de progresar a una lesión de mayor grado, debido a una síntesis baja de proteínas, que no alcanza a detectar el umbral de la prueba de inmunohistoquímica¹⁹. Este y otro estudio más sugiere que la baja sensibilidad de las pruebas de inmunohistoquímica podría deberse a que sólo detecta infección en fase activa^{19,27}, mientras que las demás pruebas no requieren de este tipo de actividad.

Actualmente se cuenta con diferentes métodos para la identificación del VPH, HPV-DNA, Captura Híbrida II, y los métodos de inmunohistoquímica, como lo es el Viroactiv HPV. Este último, utilizado en este estudio, no cuenta con muchas referencias dentro de la literatura mundial. En un estudio realizado por Birner, Bachtary, et al²⁷ donde se comparaban 3 métodos diferentes de detección de VPH en 3 grupos de muestras con NIC III (Captura Híbrida, PCR e inmunohistoquímica), el Viroactiv fue retirado del estudio, pues no se obtuvo ninguna muestra positiva para el VPH, mientras que la PCR identificó VPH de alto riesgo en un 88,4% en un grupo de 73 muestras, comparado con un 95,4% de la Captura Híbrida en un grupo de 21 muestras. Al comparar las dos pruebas, la Captura Híbrida identificó VPH de alto riesgo en 87% de los casos clasificados como positivos mediante PCR, lo que hace de esta última la más sensible de las tres. Sin embargo, tanto la PCR como la Captura Híbrida II han demostrado una alta concordancia en sus resultados^{28,29}, lo que las ha llevado a ser ampliamente estudiadas, desplazando a las pruebas basadas en inmunohistoquímica.

La alta sensibilidad de la PCR se debería en cambio, a que esta identifica la porción E6/E7 del virus, que es la que codifica los productos oncogénicos y que además de presentar pocas variaciones en sus nucleótidos, se mantiene intacta durante la integración al ADN del huésped^{20,30}.

Es importante recalcar que existen numerosas revisiones y estudios que sugieren la posibilidad de realizar tipificación en pacientes con resultados equívocos o en pacientes con resultados normales^{7,8}.

^{12,16,17,22}, con el fin de identificar mejor y de manera más temprana, a aquellas pacientes con alto riesgo de desarrollar un carcinoma de cuello uterino.

En el presente estudio aunque la presencia de VPH de alto riesgo sólo fue del 4,4%, es posible que este porcentaje sea mayor si la muestra fuera de mayor tamaño o si se hubiera realizado en población con citología alterada y factores de riesgos. Con este estudio no es posible determinar si la prueba utilizada es realmente costo-efectiva para las posibilidades económicas del país, considerando también que es necesario priorizar las políticas de salud pública y los programas de educación para aquellas mujeres que aún se encuentran por fuera del sistema de salud, o que no se realizan los controles adecuados²⁶.

CONCLUSIONES

La prueba de tipificación de VPH Viroactiv-HPV fue positiva en el 4,4% (2/45) con resultados de NIC I Y NIC II en la colposcopia-biopsia, sin embargo, es posible que con un grupo más amplio este porcentaje pudiera ser mayor. Es necesario enfatizar el seguimiento de las pacientes con anomalías en la citología y educar a las mujeres sobre factores de riesgo para el VPH y la importancia de la detección temprana de patologías de cuello uterino mediante la realización de la citología periódica y pruebas complementarias.

El 17% de las pacientes con citología alterada tuvieron cambios en la colposcopia biopsia.

El 25% de las pacientes con alteraciones en la colposcopia/biopsia tuvieron una prueba de tipificación positiva para HPV de alto riesgo.

Para determinar la utilidad real de la prueba debería realizarse un seguimiento a largo plazo para determinar con exactitud la relación entre la tipificación de VPH, los resultados de la colposcopia/biopsia y las citologías realizadas postratamiento.

Independientemente de los resultados de la colposcopia biopsia, debe enfatizarse en el seguimiento estricto de las pacientes que tuvieron una anomalía en la citología. Es necesario también educar a las pacientes sobre los factores de riesgo asociados a la enfermedad y la forma de prevenirlos además de promover las acciones de detección

temprana de las enfermedades de cuello uterino mediante la citología.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la dirección de investigación en representación de la Universidad CES y a Sanitas Ltda., por el apoyo para la financiación de este proyecto. Agradecemos también al Instituto Colombiano de Medicina Tropical por el préstamo de sus instalaciones y equipos para la realización de la prueba. Los autores declaran no tener conflictos de interés.

SUMMARY

Identifying high risk human papillomavirus using the Viroactiv-HPV immune-hysto-chemical test in patients with cytological results of cells ASCUS in a Pathology laboratory in Medellín-Colombia

Introduction: The human papillomavirus has been identified as causal agent of uterine cervix carcinoma. Some strains have a higher risk for this disease, and can only be differentiated with certain techniques. **Objective:** Determine the frequency of high risk human papillomavirus using the Viroactiv- HPV immune-hysto-chemical test (stands for Human papillomavirus), in patients with ASCUS results in cytology and compare it with the findings of the colposcopy biopsy describing some characteristics of this group of women and its monitoring. **Materials and Methods:** Transversal descriptive study in 45 patients with ASCUS records (undetermined significance flake abnormalities) in the vaginal-cervix cytology, collected between January of 2005 and August of 2006 in the pathology laboratory at Prado Clinic. All patients over 18 with ASCUS results in their cytology were included who agreed to participate in the study. Pregnant women were excluded and so were those who could not be contacted to respond a survey or that expressed their not wanting to participate in the study. **Results:** The study group whose cytology reported ASCUS were an average of 31 years old, had some formation level and belonged in its majority to social stratum 2 or 3, 20% of them had started sexual relations before 16 and 17,7% had had more than four sexual partner in 1 year. Out of the 45 patients to whom the Viroactiv-HPV test was done, two (4.4%) were positive for high risk Human Papillomavirus, and the colposcopy/biopsy reported NIC I - HPV and NIC II. Regarding the 45 patients' monitoring, 55.6% had not done control cytologies to the initial cytology with ASCUS results. Out of the total group of patients with undetermined Abnormalities of the cells 45, 17,7% 8 had alterations in the colposcopy /biopsy (NIC I, II and III) and 37,5% 3 had not had control cytology after the diagnosis. **Conclusions:** Typing test HPV Viroactiv - HPV was positive in 4,4% 2/45 with NIC I and NIC II results in the colposcopy; it is possible that in a larger group this percentage would be higher. It is necessary to emphasize the monitoring of the patients with abnormalities in the cytology and to educate women on HPV risk factors and the importance of early detection of uterine cervix pathologies by means of the cytology. (MÉDICAS UIS2007; 20(2):81-90).

KEY WORDS: Papanicolaou. Colposcopy. Papillomavirus. Immune-hysto-chemical monitoring.

BIBLIOGRAFÍA

1. Franco EL, Schlecht NF, Saslow D. The Epidemiology of Cervical Cancer. *Cancer J* 2003;9(5):348-59.
2. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2002;52:23-4.
3. Waggoner S. Cervical Cancer. *Lancet* 2003;361:2217-5.
4. Cannistra SA, Niloff JM. Cancer of the Uterine Cervix. *New Engl J Med* 1996;334(16):1030-8.
5. Lonky NM. Reducing death from cervical cancer: Examining the prevention paradigms. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2002;29:599-611.
6. National Cancer Institute Workshop. The 2001 Bethesda System for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002;287(16):2114-9.
7. 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(17):1605-10.
8. Flynn K, Rimm DL. Diagnosis of "ASCUS" in women over age 50 is less likely to be associated with dysplasia. *Diagn Cytopathol* 2001;24:132-6.
9. Saminathan T, Lahoti C, Kannan V, Kline TS. Postmenopausal squamous-cell atypias: a diagnostic challenge. *Diagn Cytopathol* 1994;11:226-30.
10. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. Comparison of three management strategies for patients with Atypical Squamous Cells of Unknown Significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer I* 2001;93(4):293-9.
11. Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S, Herrera R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human Papillomavirus Types associated with cervical cancer. *New Engl J Med* 2003;348:518-27.
12. Wright TC, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the Management of Women with Cervical Cytologic Abnormalities. *JAMA* 2002;287(16):2120-9.
13. Liman AK, Giampoli EJ, Bonfiglio TA. Should women with atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion, receive reflex human papillomavirus-DNA testing? *Cancer* 2005;105(6):457-60.
14. Sherman ME, Castle PE, Solomon D. Cervical cytology of atypical squamous cells-cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H): characteristics and histologic outcomes. *Cancer* 2006;108(5):298-305.
15. Mandelblatt JS, Lawrence WS, Gaffikin L, Kobbchitt-Lymphayom K, Lumbiganon P, Warakamin S. Costs and Benefits of Different Strategies to Screen for Cervical Cancer in Less-Developed Countries. *J Natl Cancer I* 2002;94(19):1469-83.
16. Brink AA, Zielinsky GD, Steenberg RDM, Snijders JDF, Meijer CJ. Clinical Relevance of human papillomavirus testing in cytopathology. *Cytopathology* 2005;16:7-12.
17. Kim JJ, Wright TC, Goldie SJ. Cost-effectiveness of Alternative Triage Strategies for Atypical Squamous Cells of Unknown Significance. *JAMA* 2002;287(18):2382-90.
18. You K, Liang X, Qin F, Guo Y, Geng L. High-grade Human Papillomavirus DNA testing and high-grade cervical intraepithelial lesions. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2007 Apr;47(2):141-4.
19. Moser B, Sander H, Schenck U, Griesser H. Immunochemical detection of HPV L1 capsid protein in Pap smears correlates with regression of HPV high risk positive mild/moderate dysplasia. *Anal Quant Cytol Histol* 2004 Oct; 26(5):241-5
20. Steele JC, Roberts S, Rookes SM, Gallimore PH. Detection of CD4- and CD8-T-Cell Responses to Human Papillomavirus Type 1 Antigens Expressed at Various Stages of the Virus Life Cycle by Using an Enzyme-Linked Immunospot Assay of Gamma Interferon Release. *J Virol* 2002;76:6027-36.
21. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah K V. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:244-65.
22. Wright TC, Schiffman M. Adding a test for Human Papillomavirus DNA to Cervical-Cancer Screening. *NEJM* 2003;348:489-90.
23. Estimación de la población por sexo y lugar de residencia habitual. Departamento Administrativo de Planeación. Subdirección Metroinformación. Año 2004. http://www.medellin.gov.coalcaldiajspmmodulos/anuarioEstadistico/A_estadist2003-2004/poblacion/poblacion%202004/poblabar+com+estpredo.htm (Acceso Octubre 17 de 2006)
24. Murillo G, Piñeros M, Hernández G. Atlas de Mortalidad por cáncer en Colombia 2003. Bogotá. Instituto Nacional de Cancerología Lazcano-Ponce E.
25. Registro Institucional de Cáncer. Bogotá. Instituto Nacional De Cancerología. 1999.
26. Herrero R, Munoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P. Epidemiology of HPV Infection among Mexican Women with normal cervical cytology. *Int J Cancer* 2001;91(3):412-20.
27. Birner P, Bachtary B, Dreier B, Schindl M, Joura EA. Signal-Amplified Colorimetric in Situ Hybridization for Assessment of Human Papillomavirus infection in Cervical Lesions. *Mod Pathol* 2001;14(7):702-9.
28. Soderlund-Strand A, Rymark P, Andersson P, Dillner J, Dillner L. Comparison between the Hybrid Capture II and a PCR-based HPV Detection Method for Diagnosis and Posttreatment Follow-up of CIN. *J Clin Microbiol* 2005;43:3260-6.
29. Venturoli S, Cricca M, Bonvicini F, Giosa F, Pulvirenti FR. Human papillomavirus DNA testing by PCR-ELISA and hybrid capture II from a single cytological specimen: concordance and correlation with cytological results. *J Clin Virol* 2002;25:177-85.
30. Morris BJ. Cervical Human Papillomavirus screening by PCR: advantages of targeting the E6/E7 region. *Clin Chem Lab Med* 2005;43(11):1171-7.