

Infección por virus papiloma humano en pacientes con citología de cuello uterino negativa

Morelva Toro de Méndez¹, Mercedes López de Sánchez¹.

RESUMEN

Objetivo: Examinar la prevalencia de la infección por virus papiloma humano en pacientes con citologías de cuello uterino negativas, en un programa de pesquisa de cáncer de cuello de la Misión Barrio Adentro.

Métodos: Se analizaron 3883 muestras citológicas convencionales de cuello uterino según el sistema Bethesda 2001, de las cuales 3651 (94,0 %) eran citologías normales. Se usó PCR/RFLP para la detección y tipificación de virus de papiloma humano.

Resultados: La edad promedio de las pacientes fue de $34,8 \pm 12,20$ años (rango: 13 a 89). La prevalencia general de la infección fue de 28,5 % (1038/3651). En 31,9 % se detectó virus de papiloma humano de alto riesgo oncogénico y en 21,2 % de bajo riesgo oncogénico. El virus de papiloma humano 6 (57,7 %) fue el genotipo de mayor prevalencia, seguido de secuencias desconocidas del virus (45,4 %). El virus de papiloma humano 16 fue el más comúnmente encontrado (28,09 %) entre los de alto riesgo, seguido del 18 (17,5 %) y el 31 (14,2 %) ($p < 0,000$). También se detectó 33 (4,8 %), 52 (4,2 %), 53 (3,6 %) y 58 (3,1 %). A medida que aumentó la edad, disminuyó la positividad para la infección por el virus de papiloma humano ($p < 0,000$) y la mayor prevalencia viral se presentó en menores de 25 años (35,1 %).

Conclusiones: La prevalencia de virus de papiloma humano en pacientes con citologías negativas es elevada y heterogénea en este medio, observándose una mezcla de virus de alto y bajo riesgo.

Palabras clave: Citología de cuello uterino negativa, NLIM, Prevalencia de genotipos específicos de VPH.

SUMMARY

Objective: To examine the prevalence of human papillomavirus infection in patients with negative cervical cytology in a cervical cancer screening program of the Barrio Adentro Mission in Venezuela.

Methods: A total of 3,883 conventional cervical cytology samples were analyzed according to the Bethesda 2001 system, of which 3651 (94.0%) were reported normal cytology. PCR / RFLP were used for the detection and typing of human papilloma virus.

Results: The mean age of the patients was 34.8 ± 12.20 years (range: 13 to 89). The overall prevalence of infection was 28.5% (1038/3651). In 31.9% of cases high oncogenic risk human papillomavirus were detected and 21.2% of HPV low oncogenic risk. Human papillomavirus 6 (57.7%) was the most prevalent genotype, followed by unknown virus sequences (45.4%). Human papillomavirus 16 was the most commonly found (28.09%) among high risk, followed by 18 (17.5%) and 31 (14.2%) ($p < 0.000$). We also detected 33 (4.8%), 52 (4.2%), 53 (3.6%) and 58 (3.1%). As age increased, the positivity for human papillomavirus ($p < 0.000$) decreased, and the highest viral prevalence occurred in women's under 25 (35.1%).

Conclusions: The prevalence of human papilloma virus in patients with negative cytology is high and heterogeneous in this medium, with a mixture of high and low risk viruses.

Keywords: Negative cervical cytology, NLIM, Prevalence of specific HPV genotypes.

INTRODUCCIÓN

La incidencia de cáncer de cuello uterino en América Latina y el Caribe se encuentra entre las más altas del mundo, por lo que los países de esta región, incluyendo Venezuela, se consideran de alto riesgo para la morbi-mortalidad por esta neoplasia. La infección persistente por virus papiloma humano (VPH) oncogénicos es

¹ Grupo de Investigaciones Citológicas. Cátedra de Citología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela. Resultados parciales de este trabajo fueron presentados en la LXVI Convención Anual AsoVAC, del 14 al 23 de noviembre de 2016, en la modalidad de Poster.

considerada la causa necesaria, aunque insuficiente, para el desarrollo de las lesiones neoplásicas premalignas y malignas del cuello uterino (1 - 3). Aproximadamente, el 65 % de los cánceres cervicales y el 50 % de las lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado están asociados a VPH de alto riesgo oncogénico (4 - 7).

El VPH es un virus ADN que tiene afinidad por las mucosas, existen más de 40 genotipos específicos que afectan al tracto ano-genital y de acuerdo a su potencial oncogénico han sido clasificados como de bajo riesgo oncogénico (VPH-BR), incluyendo principalmente los genotipos VPH 6 y 11 asociados a verrugas y condilomas genitales y los VPH de alto riesgo oncogénico (VPH-AR), siendo los más frecuentemente hallados en lesiones neoplásicas cervicales premalignas y malignas los genotipos VPH 16 y 18, entre otros (8 - 18).

La prevalencia general y distribución de los genotipos de VPH varía considerablemente entre las diferentes regiones del mundo y entre las poblaciones, independientemente de la existencia o no de lesión cervical (19 - 22).

El diagnóstico precoz de la infección por VPH-AR y de las lesiones premalignas del cuello uterino contribuiría en la disminución la morbi-mortalidad por esta neoplasia. La pesquisa de cáncer de cuello uterino incluye la detección de la infección por VPH-AR, especialmente en pacientes infectadas y con citologías de cuello uterino negativas para lesión intraepitelial o malignidad (NLIM), siendo de gran importancia en la caracterización poblacional de la infección viral, a fin de separar aquellas pacientes de posible riesgo a desarrollar la enfermedad y para establecer las estrategias de prevención, específicamente basadas en las vacunas profilácticas existentes (22, 23). Según de Sanjosé y col. (20), la infección por VPH en 157 879 mujeres de 78 estudios realizados a nivel mundial, de programas de pesquisa de cáncer cervical con citologías normales, no supera el 10,4 %, aunque muestra una variabilidad regional considerable. De igual manera, en el análisis de Bruni y col. (21), del año 2010, que incluyó 1 016 719 mujeres con hallazgos citológicos normales, también de diversas regiones del mundo, se estimó una prevalencia general de VPH igual a 11,7 %. Sin embargo, otros autores han señalado cifras específicas de prevalencia de VPH que

abarcan un amplio rango de aproximadamente entre 17 % y 60 %, en mujeres con citologías cervicales sin anormalidades celulares (20, 24 - 30).

Pocos estudios se han desarrollado en Venezuela relacionados con la prevalencia de la infección por VPH y de los genotipos específicos que más afectan la población femenina venezolana cuya citología de cuello uterino no presenta anormalidades en la morfología celular sugestiva de neoplasia. El conocimiento de la distribución de la infección por VPH-AR en la población general y en grupos de posible riesgo a desarrollar cáncer de cuello uterino es crucial para la caracterización de esta infección viral en Venezuela, lo cual contribuiría con el diseño y establecimiento de políticas de prevención del cáncer de cuello uterino. El objetivo de este estudio fue examinar la prevalencia de la infección por VPH en pacientes de la región andina de Mérida, con citologías de cuello uterino NLIM.

MÉTODOS

Durante el período comprendido entre marzo de 2006 y febrero de 2012, se analizaron e informaron las citologías de cuello uterino, según los criterios establecidos por el Sistema Bethesda 2001 (31), provenientes de las pacientes que acudieron a la consulta de rutina de pesquisa de cáncer de cuello uterino y atendidas en el programa Misión Barrio Adentro, pertenecientes a comunidades rurales y del área metropolitana del Estado Mérida, Venezuela. A toda la población estudiada se le realizó, simultáneamente, un hisopado cervical para la detección y genotipificación molecular de VPH, mediante la metodología PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*).

Las muestras celulares de cuello uterino para pesquisa de cáncer fueron tomadas de forma convencional, utilizando espátula de Ayre y cepillo endocervical, luego fueron fijadas con *cytofix* y posteriormente coloreadas con la técnica de Papanicolaou modificada, en el Laboratorio Docente, Asistencial y de Investigación “Licda. Celina Sánchez Rincón” de la Cátedra de Citología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. Para la detección y

genotipificación del VPH, los hisopados cervicales fueron procesados y analizados en el Laboratorio de Biología y Medicina Experimental (LABIOMEX) de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. Para la extracción del ADN se utilizó el método clásico de precipitación con fenol-cloroformo con algunas modificaciones. Brevemente, a los hisopados cervicales se les añadió solución salina al 0,8 % y se incubó por 2 horas a 37° C y luego se retiró el hisopo o cepillo cervical. Después de centrifugar a alta velocidad, al paquete celular se le añadió 400µL de tampón de extracción (Tris-HCl 0,2 M pH 8; EDTA 0,025 M; NaCl 0,1 M; y SDS 0,2 %), 0,2 mg de proteinasa K (20 mg/mL) y 20µL de SDS 10 %. Se incubó toda la noche a 55° C. Posteriormente se añadió 100µL de Chelex-100 al 5 % y se calentó a 95° C por 10 minutos. A continuación, se añadió un volumen de fenol-cloroformo-isoamilalcohol (24:23:1) y se agitó en vórtex. A la fase acuosa separada se le añadieron dos volúmenes de etanol absoluto y 0,2 volúmenes de acetato de amonio 10 M. Se dejó precipitar el ADN por 48 horas a -20° C y se procedió a centrifugar. El ADN precipitado fue resuspendido en 50µL de tampón TE 10 mM pH 8. Las muestras de ADN fueron sometidas a una PCR que amplifica un fragmento del gen de la beta-globina, para determinar la calidad del ADN extraído. En la PCR para la detección de VPH se utilizaron de 3 a 5µL del ADN muestra. La mezcla de la reacción consistió en un tampón de PCR 1X, 5,5 mM de MgCl₂, 200µM de dNTP's, 50 picomoles de cada uno de los iniciadores MY09/MY11 y 2,5 U de Taq Polimerasa (Invitrogen). La reacción se sometió a amplificación utilizando un termociclador *PTC-100 MJ Researchs* con el siguiente programa: 1 min a 94° C, 30 s a 55° C y 1 min a 72° C. Los amplificados fueron sometidos a análisis de restricción con las enzimas endonucleasas (RFLP) *DdeI*, *RsaI*, *PstI*, y *HindfI*. La mezcla consistió en: 10µL del ADN amplificado, 2 unidades de enzima, tampón de reacción 1X y agua estéril para un volumen final de 20µL. La mezcla se incubó a 37° C por 1 hora y se inactivó la enzima por calentamiento a 65° C por 1 minuto. Para visualizar el patrón de bandas digeridas, 5µL del digerido se sometió a electroforesis en gel de agarosa 2,5 % en tampón TBE 1X. El patrón fue comparado contra patrones de digestión conocidos para su identificación (32). Las secuencias virales no identificadas se señalaron como VPH desconocido

(VPHX). La detección de dos o más secuencias de ADN-VPH, detectadas simultáneamente en una misma muestra, se consideró una infección múltiple por VPH. Los datos obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SPSS versión 17,0. La asociación de variables fue analizada mediante *Chi-cuadrado* (X^2). Un valor de $p \leq 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Este proyecto fue financiado por el FONACIT (proyecto N° 2005000180). Las autoras declaran la inexistencia de conflictos de intereses.

RESULTADOS

Se analizaron 3883 muestras citológicas de cuello uterino en total, de las cuales 3651 (94,0 %) eran citologías negativas para lesión intraepitelial o malignidad (NLIM), 201 (5,2 %) mostraron anomalías en células epiteliales (ACE) y 31 (0,8 %) casos eran inadecuados para estudio citológico. La edad promedio de las pacientes era de 34,8 años \pm 12,2 años y el rango de edad fue de 13 a 89 años.

La prevalencia general de la infección por VPH en los casos NLIM fue de 28,5 % (1038/3651). En el 31,9 % (331/1038) se detectaron secuencias de ADN de VPH-AR, así como en el 21,2 % (220/1038) secuencias de VPH-BR. En el 45,4 % (471/1038) de los casos positivos para VPH se detectaron secuencias de VPHX, no identificadas a través del método de detección utilizado. La infección múltiple por VPH estaba presente en el 1,5 % (16/1038) de las muestras estudiadas.

La distribución de la proporción individual (número de casos y porcentaje) de los genotipos específicos entre todos los casos positivos para VPH detectados en las muestras citológicas NLIM demostró que el VPH 6 fue el genotipo viral más frecuente (57,7 %). De los VPH-AR, el VPH 16 fue el genotipo más comúnmente encontrado (28,09 %), seguido del VPH 18 (17,5 %), VPH 31 (14,2 %), VPH 58 (5,1 %), VPH 33 (4,8 %), VPH 52 (4,2 %) y VPH 53 (3,6 %), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,000$). Entre otros VPH-BR se detectaron el VPH 11 (27,7 %), VPH 83 (5,5 %), VPH 81 (4,1 %) y VPH 67 (3,2 %). Todos estos resultados

Tabla 1
Prevalencia y distribución de la infección por virus de papiloma humano en las 3651
citologías de cuello uterino negativas para lesión intraepitelial o malignidad

| Infección por virus de papiloma humano | N (%) |
|--|--------------|
| Negativa | 2483 (68,00) |
| Positiva | 1038 (28,50) |
| Virus de papiloma humano de alto riesgo | 331 (31,90) |
| Virus de papiloma humano de bajo riesgo | 220 (21,20) |
| Genotipos específicos de virus de papiloma humano de alto riesgo | |
| 16 | 93 (28,09) |
| 18 | 58 (17,52) |
| 31 | 47 (14,19) |
| 58 | 17 (5,13) |
| 33 | 16 (4,83) |
| 52 | 14 (4,22) |
| 53 | 12 (3,62) |
| Genotipos específicos de virus de papiloma humano de bajo riesgo | |
| 6 | 127 (57,72) |
| 11 | 61 (27,72) |
| 83 | 12 (5,45) |
| 81 | 9 (4,09) |
| 67 | 7 (3,18) |
| Secuencias de virus de papiloma humano no identificadas | 471 (45,40) |
| Infección por VPH múltiple | 16 (1,50) |
| Muestras inadecuadas | 130 (3,5) |

se muestran en la tabla 1. Otros genotipos virales fueron detectados en 74 casos, en al menos un caso, pero menos de 5 casos: VPH-AR: 26, 39, 51, 53, 56, 59, 66, 68, 73 y VPH-BR: 40, 44, 54, 61, 63, 67, 70, 81, 83, 84 (estos hallazgos no se muestran).

En la tabla 2 se presenta la distribución de la infección por VPH entre los grupos de edad, resaltando que a medida que aumenta la edad, disminuye la

positividad para la infección por VPH ($p < 0,000$). La mayor prevalencia de VPH se presentó en el grupo correspondiente a las menores de 25 años (35,1 %). El VPH 16 prevaleció en todos los grupos de edad, así como el VPH 6, siendo destacadas las secuencias de VPHX. El VPH 18 es frecuente en los casos mayores de 45 años y el VPH 31 en los menores de 25 años. Otros genotipos de VPH-AR y de BR oncogénico se distribuyeron también según el grupo de edad, encontrándose estos en

INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON
CITOLOGÍA DE CUELLO UTERINO NEGATIVA

Tabla 2
Distribución de la infección por virus de papiloma humano entre los grupos de edad,
con citología de cuello uterino negativa para lesión intraepitelial o malignidad

| Infección por VPH | GRUPOS DE EDAD: n (%) | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| | <25 años | 25-34 años | 35-44 años | 45-55 años | >55 años |
| <i>Negativa</i> | 490 (60,57) | 824 (68,72) | 603 (70,36) | 385 (71,96) | 165 (69,04) |
| <i>VPH-AR</i> | | | | | |
| 16 | 24 (2,97) | 32 (2,67) | 23 (2,68) | 13 (2,43) | 1 (0,42) |
| 18 | 16 (1,98) | 16 (1,33) | 8 (0,93) | 11 (2,06) | 6 (2,51) |
| 31 | 18 (2,22) | 16 (1,33) | 8 (0,93) | 4 (0,75) | 1 (0,42) |
| 33 | 6 (0,74) | 7 (0,58) | 2 (0,23) | 0 | 1 (0,42) |
| 52 | 5 (0,62) | 5 (0,42) | 2 (0,23) | 2 (0,37) | 0 |
| 58 | 5 (0,62) | 6 (0,50) | 4 (0,47) | 1 (0,19) | 1 (0,42) |
| Otros* | 21 (2,59) | 16 (1,33) | 14 (1,76) | 16 (3,00) | 3 (1,26) |
| <i>VPH-BR</i> | | | | | |
| 6 | 32 (3,96) | 42 (3,50) | 36 (4,20) | 12 (2,24) | 5 (2,09) |
| 11 | 13 (1,61) | 22 (1,83) | 17 (1,98) | 3 (0,56) | 5 (2,09) |
| Otros** | 19 (2,32) | 16 (1,33) | 7 (0,83) | 8 (1,51) | 6 (2,51) |
| <i>VPH X</i> | 122 (15,08) | 145 (12,09) | 114 (13,31) | 66 (12,34) | 27 (11,30) |
| <i>Infección múltiple</i> | 3 (0,37) | 8 (0,67) | 1 (0,12) | 3 (0,56) | 1 (0,42) |
| <i>Muestras Inadecuadas</i> | 35 (4,33) | 44 (3,67) | 19 (2,22) | 15 (2,80) | 17 (7,11) |
| Total | 809 (100) | 1.199 (100) | 857 (100) | 535 (100) | 239 (100) |

p<0,000

* menos de 5 casos: genotipos 26, 39, 51, 53, 56, 59, 66, 68 y 73.

**menos de 5 casos: genotipos 40, 44, 54, 61, 63, 67, 70, 81, 83 y 84

En 12 casos se desconoce la edad, pero fueron positivos para genotipos 18, 11 y 81.

una minoría de casos.

DISCUSIÓN

Actualmente, la infección por VPH es una de las infecciones de transmisión sexual más comunes, siendo la mayoría de ellas eliminadas espontáneamente, sin causar ninguna anormalidad epitelial, debido a una respuesta inmune efectiva. En un pequeño porcentaje de mujeres, la infección se mantiene en estado silente, logrando persistir por un largo periodo, sobre todo si

se trata de un VPH oncogénico y con la cooperación de una variedad de cofactores, lo que constituye un prerrequisito para la transformación celular maligna (2).

En mujeres asintomáticas de la población general, la prevalencia de la infección por el VPH oscila entre 2 % y 44 % (33). La prevalencia de la infección por VPH difiere considerablemente en las diferentes regiones geográficas del mundo, probablemente debido a la diversidad de características poblacionales relacionadas, entre otras, con una compleja interacción

de factores ambientales específicos de cada región y biológicos e inmunogénicos, particulares de cada población, incluyendo la edad, y también, la calidad de la muestra y los métodos de laboratorio usados para la detección y genotipificación de VPH (20, 21, 26, 34, 35).

En el presente estudio, se observó una elevada prevalencia (28,5 %) de infección por VPH en pacientes con citología de cuello uterino NLIM, sin alteraciones morfológicas. Estos resultados son semejantes a los hallados en otros estudios que incluyeron un número elevado de mujeres sin anormalidades celulares en la citología de cuello uterino. En el estudio de Ogembo y col. (29), realizado en 2015, el cual incluyó 17 273 casos de mujeres con citología cervical normal de 23 países africanos, la prevalencia de VPH fue 29,3 %, considerándose elevada en comparación con otros estudios previos, que incluyeron muchas otras regiones del mundo, como el 10,4 % obtenido por de Sanjosé y col. (20) en 2007 y el 11,7 % en el estudio de Bruni y col. (21) del año 2010. Sin embargo, cuando estos investigadores señalaron sus resultados específicos por regiones del mundo, países de América Latina presentaban un 14,3 % (20) y 16,1 % (21), así como 21,4 % en África Sub-Sahariana o este de Europa (21), siendo entonces estas cifras de infección por VPH bastante elevadas y variables, en comparación con la proporción de prevalencia general. Estos estudios tienen en común que observaron una heterogeneidad poblacional y metodológica, que incluyen la edad y las variaciones en la sensibilidad de los diferentes protocolos de detección y genotipificación de VPH, lo cual influye evidentemente en la exactitud de las tasas de prevalencia de esta infección viral.

En otras investigaciones se han obtenido prevalencias de VPH en pacientes con citologías normales igual a 29,8 %, y de estas, el 26,0 % positivo para VPH oncogénico (26), así como un 29,5 % en pacientes africanas (29), siendo estas cifras muy semejantes a las halladas en el presente estudio. La variabilidad metodológica con diferente sensibilidad, podría influir en la exactitud de la prevalencia viral, según expresan estos investigadores.

Aun cuando la elevada prevalencia de infección por VPH oncogénico está significativamente asociada a la presencia de anormalidades en células epiteliales del cuello uterino, es de interés epidemiológico para

Venezuela, el hallazgo de una elevada proporción de infección por VPH en mujeres sin evidencia citológica de lesión cervical. Por lo que es imperioso establecer las características de la infección por VPH en la población femenina venezolana, lo cual permitiría seleccionar a aquellas mujeres que requieren vigilancia periódica y así definir la existencia o no de riesgo para desarrollar neoplasia de cuello uterino invasora.

Las pacientes con infección por VPH 16 o VPH 18 tienen un mayor riesgo (11,4 %) de desarrollar neoplasia intraepitelial cervical grado 2 (NIC 2) o más, en comparación con aquellas VPH negativo, cuyo riesgo sería de 0,8 % (36). Por ello, es significativo considerar a las pacientes con citologías normales, pero VPH-AR positivas, ya que podrían requerir de seguimiento, para conocer el estado de la infección por VPH-AR, al cabo de 6 y 12 meses; si la positividad para la infección viral persiste, la paciente deberá ser referida para una evaluación colposcópica (37).

La mayor proporción de los casos de este estudio resultó positiva para infección por VPH-AR y el VPH16 fue el genotipo oncogénico más frecuente, lo cual es similar a lo informado en otros estudios a nivel mundial, con poblaciones semejantes (20, 21, 26, 29). Otros genotipos de VPH-AR podrían intervenir significativamente en la carcinogénesis cervical (8, 12, 18). Esos estudios demuestran que además de los VPH oncogénicos 16 y 18, otros VPH-AR como el VPH 31, 33, 52 y 58 también son frecuentes en mujeres con cuello uterino sin lesión clínicamente significativa (21, 26, 29). Todos los VPH-AR antes mencionados fueron hallados en este estudio.

Debido a que las vacunas profilácticas contra el VPH existentes en la actualidad, sólo protegen contra los VPH oncogénicos 16 y 18, es de interés epidemiológico conocer la prevalencia de otros VPH-AR, que podrían estar asociados al desarrollo de lesiones precursoras y que serían incorporados en nuevas vacunas profilácticas (23, 38).

En este estudio, el VPH-BR más frecuente fue el VPH 6, con una elevada prevalencia (57,7 %), aunque esta cifra es mayor que la hallada en otras investigaciones, que incluyeron pacientes con citologías negativas (20, 21, 39, 40).

Llama la atención en el presente estudio, la elevada proporción de VPHX (45,4 %). Según Evans y col. (41),

INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON CITOLOGÍA DE CUELLO UTERINO NEGATIVA

es posible que el método usado no permita identificar variantes de un VPH ya conocido o, eventualmente, se trate de un VPH aún no caracterizado, por lo que es imprescindible identificar estas secuencias virales a fin de completar esta investigación.

Existen controversias en relación a la participación de la infección simultánea por múltiples VPH en la carcinogénesis del cuello uterino, por lo que su investigación aún es de interés (42 - 44). En este estudio, la infección múltiple por VPH (1,5 %) fue ligeramente mayor a la de Reigosa y col. (35), en el año 2015, la cual fue de 0,2 % y baja, en comparación con el 10,7 % hallado por de Jonge y col. (26) en 2013 o el 27 % obtenido por Miranda y col. (45), en 2012, quienes usaron una metodología molecular de detección de VPH semejante a la de la presente investigación. Según especifican en 2008, Kovács y col. (46), el porcentaje de infección múltiple por VPH depende de la metodología utilizada para la detección y genotipificación del ADN-VPH, por lo que se requiere de otros estudios con metodología de elevada sensibilidad y especificidad analítica, que aporten respuestas y contribuyan en el aclaramiento de esta interrogante.

La persistencia de un genotipo específico de VPH aumenta con la edad y con ello, la posibilidad de desarrollarse un cáncer invasor (47). Por lo cual, es de vital interés seleccionar aquellas pacientes con mayor probabilidad de desarrollar esta neoplasia, basándose en el genotipo de VPH existente y otros factores de riesgo, incluyendo la edad.

En este estudio, el grupo de edad con citologías NLIM con mayor proporción de casos VPH positivos fue el correspondiente a menores de 25 años, esa proporción fue disminuyendo a medida que aumentó la edad; este patrón de curva unimodal es consistente con la amplia literatura a nivel mundial, tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo (20, 21, 48 - 51).

La infección por VPH es una infección de transmisión sexual muy común, que varía significativamente con la edad, sin importar el estado morfológico de las células del cuello uterino, lo cual dificulta la comparación de datos entre diferentes estudios (27, 52). Se adquiere principalmente al iniciar las relaciones sexuales, alcanzando el mayor pico de prevalencia en pacientes jóvenes menores de 25 años, en las cuales es transitoria e irrelevante (3), seguido de una disminución

progresiva entre los 30 y 50 años de edad, para luego disminuir a medida que avanza la edad. Sin embargo, existen poblaciones que muestran un segundo pico de prevalencia por encima de los 55 años, demostrando un comportamiento bimodal, asociado con la edad (49). Dicho comportamiento bimodal también fue observado por Bruni y col. (21), en 2010, cuando desglosaron la prevalencia de VPH por continentes; en América del Sur hubo un primer pico de infección por VPH en mujeres menores de 25 años y un segundo pico por encima de los 55 años.

Los hallazgos de una revisión mundial (48) de prevalencia de VPH específica por edad, en su mayoría con citologías normales, la cual incluyó 346 160 mujeres de 134 estudios, muestran las variaciones en la prevalencia de esta infección viral entre regiones geográficas, reflejando las diferencias en el comportamiento sexual quizás relacionadas con la cultura y creencias. Considerando estas observaciones, es de interés epidemiológico realizar estudios en este medio, que abarquen un porcentaje representativo de la población venezolana, para establecer las características propias de la infección por VPH por grupos de edad, debido a que una pequeña fracción, que oscila de 15 % a 30 %, de pacientes con infección por VPH oncogénico y citología normal podría desarrollar NIC 2 o más en los siguientes 4 años (36, 44, 53).

En el marco de la prevención de cáncer de cuello uterino, la importancia de la caracterización de la infección por VPH en poblaciones locales y a nivel nacional, sin anormalidades celulares, especialmente en pacientes mayores de 30 años con infección por VPH-AR persistente, radica en que permite pronosticar cuáles pacientes podrían ser consideradas de riesgo a desarrollar una lesión clínicamente significativa, aunado a otros factores (35, 36).

Considerando que las pacientes con citologías negativas, pero VPH-AR persistentemente positivas, tienen un mayor riesgo para cáncer de cuello uterino (54), la noción de este estatus permitiría evaluar el impacto de las vacunas existentes en la actualidad en la población venezolana, así como las de futuro diseño para la prevención de esta neoplasia (23). De igual forma, el estudio de la prevalencia de VPH-AR con citología normal sugiere la necesidad de la vigilancia frecuente en estas pacientes, haciendo uso tanto de la citología como de los métodos moleculares para VPH

y así realizar una mejor evaluación de los beneficios clínicos de las vacunas existentes (26, 55 - 58).

Los datos obtenidos en este estudio podrían contribuir en la caracterización de la infección por VPH de la población venezolana, siendo imprescindible que se examine minuciosamente la población, para evaluar las características epidemiológicas, haciendo uso de metodología estandarizada, que posteriormente permita evaluar los resultados de una manera más precisa, a fin de establecer algoritmos de manejo clínico y medidas preventivas acordes con esta población, en las que aún no existe un programa de vacunación bien establecido, para prevención del cáncer de cuello uterino y sus lesiones precursoras.

En conclusión, los hallazgos de este estudio indican que la prevalencia de VPH en pacientes con citologías NLIM es elevada y heterogénea en este medio, observándose una mezcla tanto de VPH-AR (VPH 16, 18, 31, 58, 33, 52 y 53) como VPH-BR (VPH 6, 11, 67, 81 y 83) así como una elevada proporción de secuencias de ADN-VPH desconocidas. El VPH 16 es el VPH-AR más frecuente en esta población con citologías negativas. La infección por VPH en ausencia de alteraciones morfológicas celulares es más frecuente en el grupo de edad menor de 25 años. Las pacientes con citologías negativas pero positivas para VPH oncogénicos podrían constituir una población de riesgo para cáncer de cuello uterino.

Las autoras expresan su agradecimiento a los profesores Militza Quintero y Jhon Cruz de LABIOMEX, Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes, por realizar la detección y genotipificación de VPH en todas las muestras de este proyecto.

REFERENCIAS

1. Almonte M, Albero G, Molano M, Carcamo C, García PJ, Pérez G. Risk factors for human papillomavirus exposure and co-factors for cervical cancer in Latin America and the Caribbean. *Vaccine*. 2008; 26: L16 - 36.
2. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine* 2012;30 Suppl 5: F55 - 70.
3. Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, et al. Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine*. 2012; 30 Suppl 5: F24 - 33.
4. Parkin DM, Almonte M, Bruni L, Clifford G, Curado MP, Piñeros M. Burden and trends of type-specific human papillomavirus infections and related diseases in the Latin America and Caribbean region. *Vaccine* 2008; 26 Suppl 11: L1 - 15.
5. Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. Type-specific VPH prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2011; 6 (10): e25493.
6. Capote Negrín LG. Perfil epidemiológico y control del cáncer en Venezuela. *Gac Med Caracas*. 2013; 121 (1): 43 - 52.
7. Capote Negrín LG. Epidemiology of cervical cancer in Latin America. *E cancer medical science*. 2015; 9: 577.
8. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med*. 2003; 348 (6): 518 - 527.
9. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004; 324 (1): 17 - 27.
10. Toro de Méndez M. Caracterización inmunofenotípica del cáncer de cuello uterino asociado a la infección por virus de papiloma humano (VPH). [Tesis Doctoral]. Valencia (España): Universidad de Valencia; 2006.
11. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010; 11(11): 1048 - 1056.
12. Alemany L, Pérez C, Tous S, Llobat-Bosch A, Lloveras B, Lerma E, et al. Human papillomavirus genotype distribution in cervical cancer cases in Spain. Implications for prevention. *Gynecol Oncol*. 2012; 124 (3): 512 - 517.
13. Li N, Franceschi S, Howell-Jones R, Snijders PJ, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer*. 2011;128 (4): 927 - 935.
14. Correnti M, Cavazza ME, Herrera O, Rodríguez A. Presence of human papillomavirus infection determined by hybrid capture assay in cervical lesions in a Venezuelan population. *Invest Clin*. 2010; 51 (1): 27 - 35.
15. Correnti M, Medina F, Cavazza ME, Rennola A, Avila M, Fernández A. Human papillomavirus (VPH) type distribution in cervical carcinoma, low-grade, and high-grade squamous intraepithelial lesions in Venezuelan women. *Gynecol Oncol*. 2011; 121 (3): 527 - 531.
16. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2012; 100 (Pt B): 1 - 441.

INFECCIÓN POR VIRUS PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES CON
CITOLOGÍA DE CUELLO UTERINO NEGATIVA

17. Sánchez-Lander J, Cortiñas P, Loureiro CL, Pujol FH, Medina F, Capote-Negrín L, Bianchi G, García-Barricola V, Ruíz-Benni A, Avilán-Rovira J, Acosta H. Human papillomavirus in invasive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia 2 and 3 in Venezuela: A cross-sectional study. *Cancer Epidemiol.* 2012; 36 (5): e284-e287.
18. Castellsagué X, Ault KA, Bosch FX, Brown D, Cuzick J, Ferris DG, et al. Human papillomavirus detection in cervical neoplasia attributed to 12 high-risk human papillomavirus genotypes by region. *Papillomavirus Research.* 2016; 2: 61 – 69.
19. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer VPH prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet.* 2005; 366 (9490): 991 - 998.
20. de Sanjosé S, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, Bosch FX. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2007; 7 (7): 453 - 459.
21. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis.* 2010; 202 (12): 1789 - 1799.
22. Wang R, Guo XL, Wisman GB, Schuurin E, Wang WF, Zeng ZY, et al. Nationwide prevalence of human papillomavirus infection and viral genotype distribution in 37 cities in China. *BMC Infect Dis.* 2015; 15: 257.
23. Riethmuller D, Jacquard AC, Lacau St Guily J, Aubin F, Carcopino X, Pradat P, et al. Potential impact of a nonavalent VPH vaccine on the occurrence of VPH-related diseases in France. *BMC Public Health.* 2015; 15: 453.
24. Wu S, Chen G, Wang W, Xu Q, Gu H, Lu Y, et al. Value and feasibility of VPH DNA test in cervical scraping smears. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2005; 25(4): 451 - 453.
25. Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K, Wilkens LR, Zhu X, Thompson PJ, et al. Prevalence, acquisition, and clearance of cervical human papillomavirus infection among women with normal cytology: Hawaii Human Papillomavirus Cohort Study. *Cancer Res.* 2008; 68 (21): 8813 - 8824.
26. de Jonge M, Busecke G, Heinecke A, Bettendorf O. Human papillomavirus genotype distribution in cytologically screened women from northwest Germany. *Acta Cytol.* 2013; 57 (6): 591 - 598.
27. Kim MJ, Kim JJ, Kim S. Type-specific prevalence of high-risk human papillomavirus by cervical cytology and age: Data from the health check-ups of 7,014 Korean women. *Obstet Gynecol Sci.* 2013; 56 (2): 110 - 120.
28. Martín P, Kilany L, García D, López-García AM, Martín-Azaña MJ, Abaira V, Bellas C. Human papillomavirus genotype distribution in Madrid and correlation with cytological data. *BMC Infect Dis.* 2011; 11: 316.
29. Ogembo RK, Gona PN, Seymour AJ, Park HS, Bain PA, Maranda L, Ogembo JG. Prevalence of human papillomavirus genotypes among African women with normal cervical cytology and neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015; 10 (4): e0122488.
30. Zoa Assoumou S, Ndjoyi Mbiguino A, Mabika Mabika B, Nguizi Ogoula S, El Mzibri M, Khattabi A, Ennaji MM. Human papillomavirus genotypes distribution among Gabonese women with normal cytology and cervical abnormalities. *Infect Agent Cancer.* 2016; 11: 2.
31. Solomon D, Nayar R, Eds. *The Bethesda System for reporting cervical cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes.* New York: Springer; 2004.
32. Bernard HU, Chan S, Manos M, Ong CH, Villa L, Delius H, et al. Identification and assessment of known and novel human papillomaviruses by polymerase chain reaction amplification, restriction fragment length polymorphisms, nucleotide sequence, and phylogenetic algorithms. *J Infect Dis.* 1994; 170 (5): 1077 - 1085.
33. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006; 24: S1-S15.
34. Ahmed HG, Bensumaidea SH, Ashankyty IM. Frequency of Human Papilloma Virus (VPH) subtypes 31,33,35,39 and 45 among Yemeni women with cervical cancer. *Infect Agent Cancer.* 2015; 10: 29.
35. Reigosa A, Fernández A, Hung CY, Graterol I, Fernández Y, Espinal JD, Álvarez M. Genotipos del virus papiloma humano en el cuello uterino de mujeres de la región central de Venezuela. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2015; 75 (3): 177 - 186.
36. Wright TC Jr, Stoler MH, Sharma A, Zhang G, Behrens C, Wright TL, et al. Evaluation of VPH-16 and VPH-18 genotyping for the triage of women with high-risk VPH+ cytology-negative results. *Am J Clin Pathol.* 2011; 136 (4): 578 - 586.
37. Herrero R, Ferreccio C, Salmerón J, Almonte M, Sánchez GI, Lazcano-Ponce E, Jerónimo J. New approaches to cervical cancer screening in Latin America and the Caribbean. *Vaccine.* 2008; 26; (Suppl 11): L49-L58.
38. Sánchez GI, Bravo LE, Hernandez-Suarez G, Tous S, Alemany L, de Sanjose S, et al. Secular trends of VPH genotypes in invasive cervical cancer in Cali, Colombia 1950-1999. *Cancer Epidemiol.* 2016; 40: 173 - 8.
39. Abike F, Bingöl B, Yılmaz A, Temizkan O, Lutfi

- Tapırsız O, Dunder I. HPV Infection and HPV Subtypes in Normal and Abnormal Cervical Cytology in Turkish Women. *J Virol Microbiol.* (Internet). 2013. (Revisado 2016); 2013: (Aprox 7 pag). Disponible en <http://ibimapublishing.com/articles/JVM/2013/640873/640873.pdf>
40. Salehi-Vaziri M, Sadeghi F, Hashemi FS, Haeri H, Bokharaei-Salim F, Monavari SH, Keyvani H. Distribution of Human Papillomavirus Genotypes in Iranian Women According to the Severity of the Cervical Lesion. *Iran Red Crescent Med J.* 2016; 18 (4): e24458.
 41. Evans MF, Adamson CS, Papillo JL, St John TL, Leiman G, Cooper K. Distribution of human papillomavirus types in ThinPrep Papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes. *Cancer.* 2006; 106 (5): 1054-1064.
 42. Schmitt M, Depuydt C, Benoy I, Bogers J, Antoine J, Arbyn M, et al. Multiple human papillomavirus infections with high viral loads are associated with cervical lesions but do not differentiate grades of cervical abnormalities. *J Clin Microbiol.* 2013; 51 (5): 1458 - 1464.
 43. Salazar KL, Zhou HS, Xu J, Peterson LE, Schwartz MR, Mody DR, Ge Y. Multiple Human Papilloma Virus Infections and Their Impact on the Development of High-Risk Cervical Lesions. *Acta Cytol.* 2015; 59 (5): 391 - 398.
 44. Youssef MA, Abdelsalam L, Harfoush RA, Talaat IM, Elkattan E, Mohey A, et al. Prevalence of human papillomavirus (HPV) and its genotypes in cervical specimens of Egyptian women by linear array HPV genotyping test. *Infect Agents Cancer.* 2016; 11: 6 - 15.
 45. Miranda PM, Pitol BC, Moran MS, Silva NN, Felix PM, Lima-Filho JL, et al. Human papillomavirus infection in Brazilian women with normal cervical cytology. *Genet Mol Res.* 2012; 11 (2): 1752 - 1761.
 46. Kovács K, Varnai AD, Bollmann M, Bankfalvi A, Szendy M, Speich N, et al. Prevalence and genotype distribution of multiple human papillomavirus infection in the uterine cervix: a 7.5-year longitudinal study in a routine cytology-based screening population in West Germany. *J Med Virol.* 2008; 80 (10): 1814 - 23.
 47. Ferreccio C, Van De Wyngard V, Olcay F, Domínguez MA, Puschel K, Corvalán AH, et al. High-risk VPH infection after five years in a population-based cohort of Chilean women. *Infect Agent Cancer.* 2011; 6 (1): 21.
 48. Smith JS, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. *J Adolesc Health.* 2008; 43 (Suppl 4): S5 - S25.
 49. Lee EH, Um TH, Chi HS, Hong YJ, Cha YJ. Prevalence and distribution of human papillomavirus infection in Korean women as determined by restriction fragment mass polymorphism assay. *J Korean Med Sci.* 2012; 27 (9): 1091-1097.
 50. Argyri E, Papaspyridakos S, Tsimplaki E, Michala L, Myriokefalitaki E, Papassideri I, et al. A cross sectional study of HPV type prevalence according to age and cytology. *BMC Infect Dis.* 2013; 13: 53.
 51. Akarolo-Anthony SN, Famooto AO, Dareng EO, Olaniyan OB, Offiong R, Wheeler CM, Adebamowo CA. Age-specific prevalence of human papilloma virus infection among Nigerian women. *BMC Public Health.* 2014; 14:656.
 52. Melo A, Vásquez AM, Andana A, Matamala M, Pino T, Guzmán P, et al. Genotyping of human papillomavirus in women under 25 years old treated in the screening program for cervical cancer. *Rev Chilena Infectol.* 2014; 31 (5): 542-548.
 53. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin.* 2012; 62 (3): 147 - 172
 54. Kaur P, Aggarwal A, Nagpal M, Oberoi L, Sharma S. Prevalence and Clinical Utility of Human Papilloma Virus Genotyping in Patients with Cervical Lesions. *J Obstet Gynecol India.* 2014; 64 (4): 279 – 283.
 55. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, Clifford GM. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer.* 2007; 121 (3): 621 - 632.
 56. Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2011; 103 (5): 368 - 383.
 57. Entiauspe LG, Silveira M, Nunes EM, Basgalupp SP, Stauffert D, Dellagostin OA, et al. High incidence of oncogenic HPV genotypes found in women from Southern Brazil. *Braz J Microbiol.* 2014; 45 (2): 689 - 694.
 58. Zhou H, Mody RR, Luna E, Arnylagos D, Xu J, Schwartz MR, et al. Clinical performance of the Food and Drug Administration-Approved high-risk VPH test for the detection of high-grade cervicovaginal lesions. *Cancer Cytopathol.* 2016; 124 (5): 317 - 323.