



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
CURSO DE ESPECIALIZACIÓN DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA
HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CARACAS

**VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN EL EMBARAZO: COMPARACIÓN ENTRE
CITOLOGÍA Y CAPTURA HÍBRIDA**

Trabajo Especial de Grado que se presenta para optar al título de Especialista en
Obstetricia y Ginecología.

Tutor: Rafael Cortés

Martinez, Darlin

Palacios, Lydia

Caracas, Marzo 2014.



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



VEREDICTO


Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el **Trabajo Especial de Grado** presentado por: **PALACIOS GONCALVES LYDIA CLARA** Cédula de identidad N° 16.821.453, bajo el título "**VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN EL EMBARAZO: COMPARACIÓN ENTRE CITOLOGÍA Y CAPTURA HÍBRIDA**", a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **ESPECIALISTA EN OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA -HUC**, dejan constancia de lo siguiente:

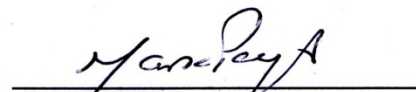
1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día 14 de Marzo de 2014 a las 12:30 PM., para que el autor lo defendiera en forma pública, lo que éste hizo en Auditorio del Decanato de Medicina Lorenzo Campins y Ballester/ Hospital Universitario de Caracas, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

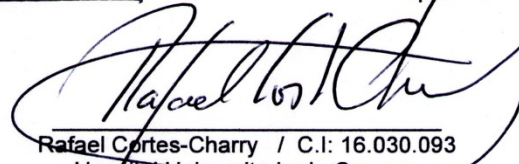
2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **aprobarlo**, por considerar, sin hacerse solidario con la ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo examinado cumplió con lo establecido en las normas para presentación de los trabajos especiales de grado.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los 14 días del mes de Marzo del año 2014, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Coordinador del jurado el Profesor Rafael Cortes-Charry.


Gustavo Salazar / C.I: 4.276.159
Hospital Universitario de Caracas


Maria Pérez / C.I: 6.431.301
Hospital Domingo Luciani


Rafael Cortes-Charry / C.I: 16.030.093
Hospital Universitario de Caracas
Tutor

GS/MP/RC Caracas, 14 de Marzo del 2014



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



VEREDICTO

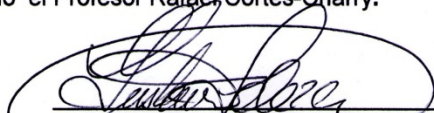
Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el **Trabajo Especial de Grado** presentado por: **PALACIOS GONCALVES LYDIA CLARA** Cédula de identidad N° 16.821.453, bajo el título **"VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN EL EMBARAZO: COMPARACIÓN ENTRE CITOLOGÍA Y CAPTURA HÍBRIDA"**, a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **ESPECIALISTA EN OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA -HUC**, dejan constancia de lo siguiente:

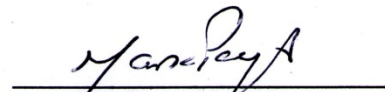
1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día 14 de Marzo de 2014 a las 12:30 PM., para que el autor lo defendiera en forma pública, lo que éste hizo en Auditorio del Decanato de Medicina Lorenzo Campins y Ballester/ Hospital Universitario de Caracas, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual respondió satisfactoriamente a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

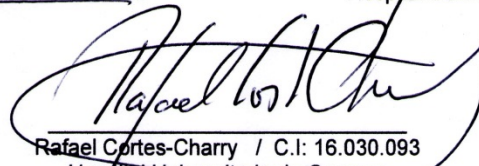
2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **aprobarlo**, por considerar, sin hacerse solidario con la ideas expuestas por el autor, que se ajusta a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo examinado cumplió con lo establecido en las normas para presentación de los trabajos especiales de grado.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los 14 días del mes de Marzo del año 2014, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Coordinador del jurado el Profesor Rafael Cortes-Charry.


Gustavo Salazar / C.I.: 4.276.159
Hospital Universitario de Caracas


Maria Pérez / C.I.: 6.431.301
Hospital Domingo Luciani


Rafael Cortes-Charry / C.I.: 16.030.093
Hospital Universitario de Caracas
Tutor

GS/MP/RC Caracas, 14 de Marzo del 2014



RAFAEL CORTES CHARRY

Jefe del Servicio de Obstetricia – Hospital Universitario de Caracas

TUTOR



ANA FERREIRA

Coordinador del Postgrado de Obstetricia – Hospital Universitario de Caracas



RICARDO BLANCH

Jefe del Departamento de Ginecología y Obstetricia

Director del Curso de Postgrado – Hospital Universitario de Caracas

DOUGLAS ANGULO

Asesor Estadístico – Universidad Central de Venezuela

VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN EL EMBARAZO: COMPARACIÓN ENTRE CITOLOGÍA Y CAPTURA HÍBRIDA

Darlin Martínez, C.I. 16.662.678. Sexo: Femenino, E-mail: darlinmartinez@hotmail.com. Telf: 0414-1241516/0212-7824959. Dirección: Hospital Universitario de Caracas. Curso de Especialización en Obstetricia y Ginecología;

Lydia Palacios, C.I. 16.821.453. Sexo: Femenino, E-mail: lycia_85@hotmail.com. Telf: 0412-9635042/0212-6902348. Dirección: Hospital Universitario de Caracas. Curso de Especialización en Obstetricia y Ginecología;

RESUMEN

Objetivo: Comparar las técnicas de citología y captura híbrida como métodos diagnósticos para la detección del virus de papiloma humano en pacientes embarazadas que acuden al servicio de obstetricia del Hospital Universitario de Caracas.

Métodos: Se realizó un estudio de tipo experimental, transversal y analítico; la población estuvo conformada por un total de 42 pacientes embarazadas en edad reproductiva, seleccionadas de manera aleatoria simple que acudieron al servicio de obstetricia del Hospital Universitario de Caracas en el período de Mayo a Noviembre del 2012.

Resultados: De las 42 pacientes, la captura híbrida resultó positiva en 6 de ellas (14,3%), de las cuales no hubo ninguna citología con hallazgos patológicos, es decir, que la concordancia entre ellas no fue estadísticamente significativa; a las 6 pacientes con captura híbrida positiva, se les realizó tipificación por PCR, resultando 5 pacientes (83%) con virus de alto riesgo oncogénico. De las

citologías realizadas, 1 (2,4%) resultó con atípicas, siendo la captura híbrida para esta paciente negativa.

Considerando la captura híbrida como el método diagnóstico Gold estándar, se planteó comparar los antecedentes ginecoobstetricos de las pacientes como edad gestacional, menarquia, primera relación sexual y el número de parejas sexuales lo cual no tuvo significancia estadística.

Conclusión: El método de captura híbrida no presentó resultados superiores a la realización de citologías en las pacientes gestantes estudiadas; sin embargo a pesar de los resultados no estadísticamente significativos, se emite una alerta, ya que el 14% de las pacientes estudiadas resultaron positivas para VPH, de las cuales el 83% correspondieron a virus de alto grado con infecciones subclínicas; siendo potencialmente susceptibles a un cáncer de cuello uterino en el futuro.

Palabras Clave: captura híbrida, citología, VPH, Embarazo.

ABSTRAC

Objective: Compare the techniques of cytology and hybrid capture as diagnostic methods for the detection of human papillomavirus in pregnant patients presenting to obstetric Caracas University Hospital.

Methods: consisted of a total of 42 pregnant patients of reproductive age who presented to randomly selected obstetrics Caracas University Hospital in the period from May to November 2012.

Results: Of the 42 patients, hybrid capture was positive in six of them (14.3%), of which there was no pathological findings cytology, meaning that the correlation between them was not statistically significant, at 6 patients positive hybrid capture, typing was performed by PCR, resulting in 5 (83%) with high-risk oncogenic viruses. Of the smears performed, 1 (2.4%) resulted with atypia, with hybrid capture negative for this patient.

Considering the hybrid capture as the Gold standard diagnostic method is proposed to compare reproductive background of patients as gestational age, menarche, first intercourse and number of sexual partners which was not statistically significant

Conclusion: The hybrid capture method did not show superior results to the performance of cytology in pregnant patients studied, but despite the results not statistically significant, an alert is issued, and that 14% of the patients studied were positive for HPV, of which 83% were high-grade virus with subclinical infections, being potentially susceptible to cervical cancer in the future.

Keywords: hybrid capture, cytology, HPV, Pregnancy

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	5
MÉTODOS	24
RESULTADOS	27
DISCUSIÓN	29
REFERENCIAS	33
ANEXOS	37

INTRODUCCIÓN

El cáncer cervical es el más común asociado con el embarazo, su incidencia es de aproximadamente 1 por 1000 a 2500 nacidos vivos en grandes centros de referencia. Por otra parte, el carcinoma in situ se estima que afecta a aproximadamente 1 de cada 750 embarazos.

Esta alta incidencia durante el embarazo, probablemente es consecuencia de la mejor vigilancia durante el control prenatal, debido a que se realizan citologías de rutina en dicha consulta, situación que no ocurre en pacientes no embarazadas; motivo por lo cual es 3 veces mas probable diagnosticar cáncer cervical en estadios iniciales durante el embarazo.

Con cierta frecuencia encontramos resultados de citologías anormales durante el embarazo y se ve reflejado hasta en el 10% de las mujeres embarazadas que se hacen citología durante la gestación, esto es debido a los cambios fisiológicos que se producen durante el embarazo. El uso de la citología para la detección de lesiones pre-invasoras no ha tenido mayor impacto en su diagnóstico ya que las tasas de morbi - mortalidad aún se mantienen altas en Latinoamérica.

Existen en la actualidad nuevas técnicas de tamizaje para la detección de lesiones pre-invasoras, en mujeres expuestas previamente al virus representan una gran oportunidad para la prevención del cáncer de cuello uterino.

Uno de estos métodos es la técnica de captura híbrida la cual es de uso frecuente en países desarrollados, esta puede llegar a informar sobre la presencia de los 20 subtipos virales más comunes que se encuentran en el aparato genital femenino y los clasifica en virus de bajo riesgo llamados del grupo 1 y de alto riesgo llamados del grupo 2, pero lo importante es que sirve como método de corroboración para aquellas mujeres que tengan sospecha de tener VPH.

Planteamiento y delimitación del problema.

El cuello uterino de las pacientes embarazadas presenta múltiples cambios durante el transcurso del embarazo debido a modificaciones histológicas y morfológicas que hacen del diagnóstico citológico un procedimiento difícil. Por ejemplo el espesor del epitelio pavimentoso exocervical aumenta debido a la mayor actividad de las células basales, donde son frecuentes las mitosis; en el endocervix, hay un aumento en el número de las criptas glandulares y en el tamaño de las mismas, la superficie epitelial es hiperplásica, simulando cambios adenomatosos, así como la degeneración de células deciduales, el sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto también pueden mimetizar lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado.

Hay una notoria activación del proceso de metaplasia escamosa, el estroma neovascularizado es infiltrado por células inflamatorias ocurriendo la decidualización, al parecer de origen embrionario entre un 10 y 34%, esto ocasiona que haya imágenes clínicas sugestivas de atipias en la zona de transformación evidenciándose imágenes citológicas complejas.

Se ha presentado a lo largo de la historia un alto porcentaje de falsos negativos en la citología, lo cual transmite inseguridad referente a este método de cribado, por lo cual nos hemos planteamos la siguiente interrogante:

¿Es suficiente realizar la citología a las pacientes embarazadas como método de pesquisa o es necesario complementar con otro examen como la captura híbrida para diagnóstico de VPH?

Este estudio se realizó en las mujeres gestantes que acudieron al Servicio de Obstetricia del Hospital Universitario de Caracas, en el lapso comprendido entre Mayo 2012 hasta 30 Noviembre del mismo año.

Importancia y Justificación.

El uso de la citología cervical convencional ha logrado reducir la mortalidad por cáncer de cuello uterino en países desarrollados, sin embargo este no ha sido el

caso de América Latina, donde a pesar de la disponibilidad de la prueba de Papanicolaou, alrededor de 32 000 mujeres mueren cada año por cáncer de cuello uterino. Estudios recientes han demostrado que aún con un adecuado control de calidad, la citología convencional tiene en promedio una sensibilidad de 53% ⁽¹⁾.

La exactitud diagnóstica de la prueba de Papanicolaou (Pap) puede ser complicada por los cambios fisiológicos del embarazo siendo esto una importante consideración, ya que la prevalencia de la citología cervical anormal durante el embarazo se estima en aproximadamente 0.5 a 3,0%. Por lo contrario las alteraciones displásicas reales podrían atribuirse de manera incorrecta a los cambios del embarazo y conducir en consecuencia a una citología falsa negativa. ⁽²⁾.

Por otro lado la prueba de ADN del VPH es un nuevo método molecular de tamizaje que detecta la presencia de tipos de VPH, esto ha demostrado tener una mayor sensibilidad que la citología cervical o los métodos de inspección visual permitiendo instaurar un tratamiento más temprano y eficaz. ⁽³⁾

La prueba de ADN del VPH ha sido incluida en la norma nacional de cuatro países, México, Estados Unidos, Italia y España, en conjunto con la citología cervical. ⁽¹⁾

De igual forma se debe mencionar el factor monetario a los pacientes y al personal encargado de los políticas de salud venezolanas, debido que a pesar de que la citología es mucho más económica que la captura híbrida, la sensibilidad de esta en el diagnóstico de VPH es menor al método de captura híbrida, aumentando de esta manera el número de falsos negativos y la evolución natural de la enfermedad, diagnosticándose en etapas avanzadas y aumentando la morbimortalidad, requiriendo métodos de tratamiento que implican mayor gasto económico. ⁽⁴⁾

Se propone hacer un estudio con ambas pruebas para establecer si existe diferencia significativa entre los dos métodos de tamizaje en la población gestante.

Antecedentes

Durante los años 60 sobre todo en Norteamérica, la conducta ante un resultado de citología con atipias solía implicar una conización diagnóstica. Las complicaciones ocurrieron en un 19,4 % siendo estas significativas tanto para la madre como para el feto: hemorragia, infección, estenosis e incompetencia cervical, corioamnionitis, flebitis y embolismo pulmonar, aborto, trabajo de parto prematuro y mortinato. Esto obligó a un esquema más conservador que incluyó la utilización de la citología a partir de la segunda década de los años setenta, de modo que solo aquellas que tuvieran cambios de alto grado o cáncer eran remitidas para estudios invasivos.⁽⁵⁾

Hacker en 1982 confirmó dichos resultados al evaluar todos los reportes publicados al cabo de un tiempo; el análisis de múltiples trabajos referentes a este tópico mostró una precisión diagnóstica para excluir cualquier tipo de enfermedad que no fueron detectados durante el examen físico de esa época; solo se requirieron 3.9 % de conizaciones y las complicaciones asociadas a la citología sólo representó el 0.6 %. McDonell en 1981 consideró que no era necesario estudiar con biopsia las citologías con anomalías Pap III y recomendó seguimiento citológico para estas pacientes acentuando esta conducta conservadora en una época de complicaciones.

Las citologías durante el embarazo con sospecha de lesiones de bajo grado no se estudiaban y se seguían con controles cada tres meses. De Petrillo en conjunto con los colaboradores en 1975 marcaron un hito e inauguraron esta tercera etapa al demostrar cómo la citología era segura durante la gestación pues ningún carcinoma pasó desapercibido durante el examen de 330 casos.

Si se observa desde una perspectiva histórica, la primera etapa del manejo de la citología anormal en el embarazo estuvo caracterizada por la toma aleatoria de biopsias cuya constancia de falsos negativos para lesiones invasoras fue del 8 al 40% cifra que era inaceptable⁽⁶⁾.

Históricamente se pensaba que el embarazo tenía un efecto adverso en la evolución del cáncer cervical, sin embargo estudios más recientes demostraron

que no existe diferencia en la supervivencia entre embarazadas y no embarazadas con cáncer cervical, cuando se comparan por edad, etapa y año del diagnóstico. El embarazo no altera de manera importante el avance o el pronóstico del cáncer cervical. ⁽⁷⁾

Marco Teórico.

El cáncer es la segunda causa de muerte en Venezuela desde hace décadas, en el año 2003 fallecieron 17.234 personas y se diagnosticaron 43.004 nuevos casos. Desde 2001 hasta 2003 se han diagnosticado 118.820 nuevos casos y murieron 49.354 personas. Vemos con mucha preocupación el aumento de la tasa de incidencia y mortalidad por cáncer, sobre todo desde el 2001 hasta el 2003. La tasa de mortalidad por cáncer en la mujer, experimentó un aumento significativo en este período. El cáncer de cuello uterino se encuentra ubicado como primera causa de mortalidad e incidencia y aunque se mantiene en aumento, se espera que quede desplazado a segunda causa de morbi-mortalidad por el cáncer de mama ⁽⁸⁾.

El VPH es un grupo de virus de ADN de doble banda que pertenecen a la familia Papovaviridae, no poseen envoltura, y tienen un diámetro aproximado de 52-55 nm. ⁽⁹⁾

Las partículas virales están compuestas por una cápside proteica, conformada en un 95% por la proteína L1 y en un 5% por la proteína L2, las cuales se ensamblan para formar capsómeros hecosaédricos y que son usadas para la fabricación de vacunas profilácticas. ⁽¹⁰⁾

Hacia el interior de la cápside se encuentra un DNA circular de doble cadena de aproximadamente 8000 pares de bases, constituido por ocho genes y una región regulatoria no codificante, la cual contiene sitios de unión para factores proteicos y hormonales del hospedero, necesarios para que el virus pueda completar su ciclo de replicación. ⁽⁹⁾

El genoma del VPH, lo conforman dos tipos de genes, aquellos que son codificados en las etapas tempranas de la infección, conocidos como genes E, y

aquellos que son codificados durante las etapas tardías del ciclo de replicación, conocidos como genes L. Se conocen seis genes tempranos: E1, E2, E4, E5, E6 y E7 (aunque se considera que E4 es en realidad es un gen tardío), y dos tardíos: L1 y L2. Los genes tempranos codifican proteínas involucradas en la replicación y regulación viral, así como en su capacidad carcinogénica. Por otro lado los genes tardíos codifican las proteínas estructurales que conforman la cápside viral. ⁽¹¹⁾

Tipos de VPH.

Desde la 6ta década del siglo XX cuando Zur Hausen estableció la posible relación del VPH con el cáncer de cuello uterino, se han identificado más de 100 tipos virales y 85 se han caracterizado hasta la fecha, pero solamente 15 se han denominado virus del alto riesgo, con alto potencial oncogénico relacionándose con lesiones premalignas y cáncer de cuello uterino. ⁽⁹⁾

Un tipo se diferencia de otro en que los aminoácidos estructurales de la proteína mayor L1 de su cápside presentan una diferencia secuencial superior al 10%.

Se clasifican en cutáneos y mucosos. Los tipos de VPH mucosos asociados con lesiones benignas (tipos 6 y 11 principalmente) son conocidos como tipos de "bajo riesgo" y se encuentra preferiblemente en los condilomas acuminados, mientras que aquellos tipos asociados a lesiones malignas (tipos 16, 18, 30, 31, 33, 35, 45, 51 y 52, principalmente) son conocidos como virus de "alto riesgo", entre ellos, los VPH 16 y 18 son los oncogénicos más comunes, que causan aproximadamente el 70 % del cáncer cervical en todo el mundo. Otras clasificaciones menos estrictas incluyen a los tipos 56, 58, 59, 68, 73, 82, 26, 53 y 66 como probablemente carcinogénicos. ⁽¹²⁾

Ciclo vital del VPH.

El ciclo del VPH está estrechamente ligado con el crecimiento y diferenciación de las células epiteliales hospederas. El VPH inicia su ciclo productivo infectando

a las células poco diferenciadas de las capas basales del epitelio, donde inicia la transcripción de sus genes. La forma en que el VPH alcanza las células de los estratos bajos del epitelio, es a través de lesiones y abrasiones del tejido, el virus se une a su célula blanco a través de un receptor de membrana, (la molécula $\alpha 6$ -Integrina) y una vez ocurrida la infección, el virus se establece dentro del núcleo de las células basales; el DNA viral permanece en estado episomal (circular) fuera de los cromosomas del hospedero, replicándose a niveles muy bajos en coordinación con la división celular. Cuando las células infectadas se diferencian y migran desde la capa basal hacia el estrato espinoso del epitelio, la replicación viral se estimula, produciendo la acumulación de viriones dentro del núcleo. ⁽¹³⁾

El análisis de las moléculas de ARN mensajero viral durante las diferentes etapas de diferenciación de las células infectadas demuestra que la expresión de los genes tempranos ocurre a lo largo de todos los estratos epiteliales, sin embargo la expresión de los genes tardíos se observa únicamente en los queratinocitos totalmente diferenciados de los estratos más superficiales, donde también ocurre el ensamblado de las cápsidas virales que dan lugar a la formación de viriones, que al parecer siguen fases bien definidas pero variables en la infección transitoria y en el desarrollo de lesiones premalignas y malignas del cuello uterino que se han determinado por medio de marcadores celulares. ⁽¹³⁾

El VPH no presenta una fase lítica, por lo tanto se valen de las características propias de las células que los albergan para replicarse, posteriormente es liberado cuando las células terminales del estrato corneo sufren un proceso de descamación. ⁽¹²⁾

Cuando se estudian las lesiones histológicas y los marcadores moleculares, en un mismo tipo de lesión histológica puede mostrar diferentes marcadores, y en una misma biopsia puede haber diferentes expresiones. Estas anomalías tempranas en el ciclo viral pueden desencadenar el desarrollo de lesiones NIC o del Cáncer cervico uterino. ⁽¹⁴⁾

Se ha comprobado que la causa necesaria del Cáncer cervical es la infección por el VPH, cuya principal vía de transmisión es la vía sexual. Existe una asociación de más del 99% entre el VPH y el cáncer de cuello de útero.⁽¹⁵⁾

Epidemiología de la infección por el VPH.

La proporción de mujeres infectadas con el VPH varía entre poblaciones. Cuando se comparó la distribución en tres áreas de 11 países (Nigeria, India, Vietnam, Tailandia, Corea, Colombia, Argentina, Chile, Holanda, Italia y España), utilizando la prueba de reacción en cadena de la polimerasa para diagnóstico de VPH se encontró que la prevalencia de VPH estandarizada por edad varía cerca de 20 veces entre poblaciones, desde 1.4% (IC 95%) en España a 25.6% en Nigeria. Aunque la prevalencia total de VPH eran más altas en el África Subsahariana, las mujeres positivas al virus en Europa estaban mayormente infectadas con el VPH 16 que las del África Sub-sahariana (OR 2.64, $p=0.0002$), y fueron significativamente menos infectadas por tipos de VPH de alto riesgo diferentes al VPH 16 (OR 0.57, $p=0.004$) y/o tipos de bajo riesgo (OR 0.44, $p=0.0002$). Las mujeres de Suramérica tenían una prevalencia intermedia entre las de África y Europa; la heterogeneidad entre las áreas de Asia era significativa, y este hecho, debe ser tomado en cuenta cuando se desarrollen pruebas de cribado para el virus y predecir el efecto de las vacunas en la incidencia de la infección.⁽¹⁶⁾

En Venezuela Correnti y colaboradores en 2011⁽¹⁷⁾ evidenciaron que aproximadamente un 50% de la población se encuentra infectada por el VPH, de los cuales el 17% corresponde a virus de bajo riesgo y 82% a virus de alto riesgo; de igual forma comparó los resultados obtenidos por citología con el método de captura híbrida encontrando una asociación del 97% de virus de alto riesgo con LIE-AG y 74% de virus de alto riesgo con LIE-BG, concluyendo así que la población venezolana está expuesta en mayor porcentaje a virus oncogénicos asociados tanto a LIE-AG como a LIE-BG; encontrándose al realizar estudios de

tipificación con mayor frecuencia en nuestra población los serotipos 16, 18, 45, 52, 33 y 31 respectivamente.

Por otro lado, también se evidenció en la comparación de la citología con la captura híbrida un 56% de falsos positivos para la citología con LIE-BG, y 10% para LIE-AG; considerando que las discrepancias entre las pruebas de ADN y la citología podría ser debido a un error en el diagnóstico citológico, un bajo número de copias del genoma del VPH, infección por otros serotipos o motivos desconocidos. ⁽¹⁷⁾

Según la Dra. Nina Gynee, Quintero Becerra titulado “VPH en el Embarazo” se establece que el VPH es la infección transmitida sexualmente más común en el mundo, existen 5.5 millones de nuevos casos de VPH cada año y aproximadamente 20 millones personas están infectados; más de 100 tipos de VPH y aproximadamente 20 a 30 tipos infectan el tracto genital femenino; ciertamente el VPH está asociado a varias condiciones clínicas, VPH 6 y 11 causan comúnmente los condilomas genitales y el VPH 16 y 18 causan neoplasia intraepitelial cervical y cáncer invasivo. ⁽¹⁸⁾

La función más importante del frotis de Papanicolaou anormal y la colposcopia durante el embarazo es identificar células de lesiones precursoras y cáncer cervicouterino. ⁽¹⁹⁾

El riesgo de infección por VPH ocurre después del comienzo de la primera relación sexual y la más alta prevalencia se observa en mujeres de menos de 25 años de edad, luego la prevalencia decrece rápidamente. Se dice que las infecciones por VPH son transitorias, pero varios factores incrementan la persistencia: genéticos o adquiridos como la edad, la inmunosupresión, la anticoncepción hormonal, el tabaquismo, y factores virales (genotipo, carga viral). ⁽²⁰⁾

El VPH es altamente transmisible y se considera hoy día como la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en la mayoría de las poblaciones, aunque muchas de las mujeres infectadas con este virus se negativizan en los 2 años siguientes a la infección, las que presentan persistencia de infección con virus de alto riesgo tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer cervical.

La infección por VPH puede ser asintomática, el sistema inmune combate la infección que luego se resuelve por si misma con diferentes tiempos para lograr la resolución.⁽⁷⁾

Por otro lado se desconoce si las infecciones persistentes por el VPH se caracterizan por una detección continua del virus o por un estado de latencia viral durante el cual el virus no se detecta, para luego reaparecer más tarde.⁽²¹⁾

Los estudios longitudinales muestran que la infección por VPH recurrente no se correlaciona con la re-emergencia del mismo genotipo, sin embargo las pacientes ya infectadas muestran un riesgo aumentado de adquisición de nuevos tipos de VPH comparadas con aquellas que habían sido VPH-negativas.⁽²²⁾

Se ha planteado que se pueden encontrar diferentes serotipos virales en una muestra de cuello uterino, lo que podría contribuir a las diferencias en el potencial carcinogénico, así como también hay una distribución diferente de los tipos virales en el mundo.

Más recientemente se ha encontrado que el VPH 18 es más oncogénico que el VPH 16, aunque éste último es más prevalente.⁽²³⁾

Pruebas de detección viral.

Entre las pruebas de sospecha de infección viral están y la inspección visual del cuello, la colposcopia, la citología cervical; la infección por VPH produce cambios importantes en la morfología celular, por ejemplo se observa la formación de una amplia vacuola perinuclear, el núcleo agrandado, irregular e hipercrómico, además de ser posible encontrar binucleaciones, las células que han sufrido esta serie de cambios son conocidas como coilocitos, (Meissels y Fortin, 1976) y son consideradas como la "huella digital" del VPH.⁽²⁴⁾

La sensibilidad de la citología ha sido medida ya en dos períodos diferentes, y siempre ha resultado en más de un 70 %, con una especificidad de alrededor la misma cifra.⁽¹⁹⁾

Se han diseñado varias pruebas que difieren en su sensibilidad, especificidad, valores predictivos, y complejidad técnica; entre ellas: Inmunoperoxidasa, la

Hibridación in situ con fluoresceína (FISH), el Southern Blot, la Reacción en cadena de polimerasa (PCR) y la prueba de captura híbrida que no solamente mide la carga viral sino que detecta y diferencia entre virus oncogénicos y no oncogénicos. ⁽²⁵⁾

Desde la década del 90, se están desarrollando tecnologías de biología molecular que permiten detectar la presencia de ADN de VPH de alto riesgo oncogénico en las células del cuello uterino; la prueba de VPH por captura híbrida (prueba de VPH-CH2) es una tecnología de biología molecular que detecta la presencia de ADN de los 13 tipos de VPH considerados de alto riesgo oncogénico, a través de un sistema de captura de híbridos (ensayo de hibridación de ácido nucleico en microplaca con amplificación de la señal), estos 13 tipos detectados por Captura Híbrida 2 mediante la detección del ADN viral (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52,56, 58, 59 y 68), en una etapa temprana, son de utilidad para el tamizaje del cáncer cervical y para muchos aspectos del manejo clínico en la prevención en una etapa temprana con una sensibilidad superior al 90%. ⁽²⁶⁾.

Un meta-análisis publicado en 2008 presenta la revisión de 31 estudios llevados a cabo entre los años 1995 y 2007 en diferentes países del mundo que han evaluado la sensibilidad de la captura híbrida utilizado como método de tamizaje primario; existen estudios en Latinoamérica que dan cuenta de las esta ventaja de esta prueba.

La prueba de VPH (Captura híbrida), presenta una especificidad de alrededor del 93% ⁽²⁷⁾. Esto hace necesaria la aplicación de una segunda prueba de tamizaje para identificar, del grupo de mujeres que resulten VPH positivas, aquellas con lesiones precancerosas o cáncer, que deberán ser luego confirmadas histológicamente. ⁽²⁶⁾ La citología como prueba de pesquisa ha sido implementada por países que ya han introducido la prueba de VPH como tamizaje primario, como por ejemplo, México y Argentina. ^(28,1)

El principio básico que se utiliza en el marco de la presente estrategia es el de aplicar en primer lugar, la prueba más sensible (en este caso, la prueba de VPH);

y en segundo lugar, la prueba más específica (la citología) en las mujeres VPH positivas, para determinar el posterior manejo y seguimiento de cada caso. ⁽²⁹⁾

En el contexto de salud pública en el que se introduce la prueba de VPH como tamizaje primario, es importante reducir el número de veces que se contacta a la mujer, con el objetivo de minimizar las pérdidas en el seguimiento y tratamiento, es por eso que la estrategia establece la doble toma de prueba: captura híbrida y citología en el mismo momento. La citología deberá leerse sólo en los casos de mujeres positivas para la prueba de VPH, no se leerán las citologías de mujeres negativas para la prueba de VPH ⁽²⁹⁾.

Diversos estudios han mostrado que una prueba de VPH negativa sola, o en combinación con una citología negativa, implica un intervalo libre de LIEAG mayor que el que otorga la citología sola; en mujeres VPH negativas, las tasas de LIEAG positivas a los cinco años son equivalentes a las observadas a los dos años en mujeres con citología negativa; solamente después de seis o más años las tasas de LIEAG en mujeres originalmente negativas a la prueba de VPH se equipararon a las que presentaron tres años después las mujeres tamizadas con la citología ⁽³⁰⁾. Esta evidencia sustenta la recomendación de ampliar el intervalo de tamizaje con seguridad entre tres y cinco años.

Las mujeres con prueba de VPH positiva y citología negativa requieren un seguimiento específico, para poder identificar al subgrupo de mujeres con VPH persistente, quienes tienen un riesgo aumentado de desarrollar lesiones preinvasoras de cuello uterino; en una población de mujeres tamizadas, el riesgo de no detectar LIEAG es sumamente bajo en pacientes con prueba de VPH positiva y citología negativa (2,4-5%). A menudo, mujeres mayores de 30 años con prueba de VPH positiva pueden pasar a VPH negativo durante el seguimiento. ⁽²⁹⁾

En la reunión de expertos llevada a cabo por la IARC en el año 2004, se concluyó que el tamizaje cada tres a cinco años permite reducir la incidencia de Cáncer cervical en por lo menos un 80%, y que no hay evidencia de que el tamizaje anual en cualquier grupo de edad resulte en una mayor efectividad en la reducción de la incidencia o mortalidad por esta causa ^(29,31).

Patogénesis

Si bien la infección por el VPH es necesaria para desencadenar lesiones cervicales de mayor severidad, no es suficiente; Otros factores del hospedero como genética e inmunosupresión y la presencia de otros co-carcinógenos, juegan papel fundamentalmente en su desarrollo. ⁽²⁸⁾

En cuanto al VPH, las proteínas derivadas de los genes E6 y E7 de los VPH de alto riesgo son capaces de interactuar con moléculas importantes para la regulación del crecimiento y replicación celular, así como para la reparación de daños sufridos por el DNA de las células sanas. ⁽⁷⁾ La E6 se une a la molécula p53, un importante factor regulador de la replicación celular, y el principal represor de tumores en el ser humano, e induce su degradación; la molécula p53 es capaz de regular de la replicación celular y se conoce como la principal represora de los tumores en el ser humano. ⁽²⁸⁾ Detecta los cambios sufridos por el ADN en cualquier célula del organismo, si el daño ha sido en una etapa del ciclo celular en la que aún no ha ocurrido la replicación del ADN, el p53 envía una señal para que el ciclo celular se pare y el daño sea reparado, una vez ocurrida la reparación la célula continúa su ciclo normal; cuando el daño es sufrido durante o inmediatamente después de la replicación del DNA, el p53 envía una señal para detener el ciclo celular, y como a este nivel es imposible reparar los daños, la célula sufre un proceso de eliminación por apoptosis originado por el p53; con esto no se permite que los daños causados al ADN sean heredados a células hijas que pueden, eventualmente, ser el origen de un tumor maligno. ⁽²⁸⁾

Una alta proporción del cáncer demuestra tener daños en el gen que codifica la proteína p53, el cáncer cervical es una excepción, ya que en este caso el gen se encuentra intacto pero la proteína no se encuentra presente en las células infectadas por VPH, ya que el E6 se ha encargado de eliminarla; de esta manera la célula queda desprotegida y los tumores se desarrollan cuando el número de mutaciones desfavorables aumenta y a la par, se incrementa la malignidad de las células ⁽¹⁴⁾.

Por otra parte, la proteína codificada por el gen E7 se une específicamente al producto del gen represor de tumores Rb, otro factor regulador del ciclo celular, que se une directamente al factor transcripcional E2F, que a su vez induce la transcripción de elementos involucrados con la replicación celular; la proteína E7 de los VPH de alto riesgo tiene una alta afinidad por el sitio de unión de Rb a E2F, cuando la célula ha sido infectada por el virus, la proteína E7 se une a este sitio en vez del Rb impidiendo que éste mantenga controlado a E2F, el cual queda libre e induce la replicación celular continua, de esta manera E6 y E7 cooperan eficientemente en la transformación de las células, produciendo tumores cervicales a largo plazo. ⁽²⁸⁾

Por otra parte el proceso neoplásico asociado al VPH no se limita solamente al epitelio escamoso, sino que está involucrado también en el desarrollo de lesiones en células cilíndricas, el VPH 18 se asocia fuertemente con el adenocarcinoma del cuello uterino. ⁽²⁹⁾

El ciclo de infección viral depende del programa de diferenciación del queratinocito, el intervalo de tiempo transcurrido entre la infección y la liberación de las nuevas partículas víricas es muy variable pero puede estimarse en un mínimo de 4-6 semanas. Los estudios sugieren que en el caso de la infección del epitelio cervical por VPH 16, el intervalo es como mínimo 3-4 meses. ⁽²⁸⁾

En los pacientes con VPH se han descrito diversas alteraciones inespecíficas del sistema inmunitario entre ellos la disminución del factor de necrosis tumoral alfa, interleucina 1 y los interferones, las que normalmente contribuyen al control de las infecciones. Las reacciones de hipersensibilidad retardada y las respuestas linfoproliferativas y citotóxicas frente los antígenos de VPH especialmente E6 y E7, son frecuentes en los pacientes infectados pero no se detectan en todos ellos. ⁽⁷⁾

Impacto social de la infección por el VPH.

Entre los problemas sociales del diagnóstico de la infección por VPH se pueden citar varios:

El problema se basa en la alta prevalencia que tienen las mujeres muy jóvenes de infección por el virus, así en mujeres de 14-19 años la prevalencia de la infección es del 35 %, (IC 95 %: 32-38%), y luego entre las mujeres de 50-64 años la prevalencia es de 6 % (IC 95 %: 4- 8 %).⁽⁸⁾

En EEUU la prevalencia ha sido del 6 % en mujeres de 57-85 años, mientras que entre las mujeres de 14-59 años llegó a ser del 26.8 %, basado en un estudio de 1921 mujeres que se tomaron pruebas con aplicador entre 2003-2004, con variaciones por grupos de edad, llegando hasta un 44.8 % en la franja etaria de 20-24 años, para luego disminuir.⁽⁸⁾

Inclusive antes de la primera relación sexual se han hecho detecciones virales, y en 110 niñas entre 4-15 años, la prevalencia de la infección era de 17 %, con 14,5 % de cepas de alto riesgo de VPH.⁽⁷⁾

Se recomienda entonces comenzar el cribado del VPH después de los 25 años, y mejor aún después de los 30 años, ya que en edades anteriores a éstas, puede haber un sobre registro de la infección sin consecuencias nefastas para las pacientes. Por otra parte, la detección de virus de alto riesgo puede ser útil para la referencia de las pacientes a la Consulta de Colposcopia.⁽⁷⁾

En resumen, tanto la edad de la infección como la prevalencia, y los genotipos virales encontrados son variables, por tanto las estrategias deben ser personalizadas, específicas para cada contexto y escenario.

Se necesitan mensajes adecuados, y es necesario transmitirles que se trata de un virus común, con relativamente bajo riesgo para la mayoría de las personas infectadas, y que en muchos casos se elimina, constatando la inmunocompetencia de la persona, y que las infecciones persistentes son claros marcadores de riesgo.

Otros de los aspectos que han sido considerados como preocupantes, sobre todo de grupos religiosos o algunos políticos, es si la prevención primaria de la infección por VPH podría incentivar a los jóvenes a tener relaciones sexuales sin protección; la preocupación anterior no deja de ser cierta, hasta ciertos límites.

Historia del VPH durante la gestación

El VPH está involucrado en la mayoría de las lesiones preinvasivas e invasivas del cérvix, ambos tipos oncogénicos y no oncogénicos pueden complicar el embarazo. La infección por VPH con tipos oncogénicos puede conducir a una citología cervical anormal detectada durante el embarazo la cual requiere un diagnóstico oportuno y en casos indicados realizar tratamiento. ⁽³⁰⁾

El efecto del embarazo en la historia natural de la lesión intraepitelial cervical es controversial, algunos autores reportan que el embarazo no modifica la progresión de las lesiones moderadas a severas y otros describen una alta incidencia de regresión en el postparto. ⁽³¹⁾

En un estudio de 138 mujeres con citología cervical anormal durante el embarazo, Ahdoot y colaboradores, reportaron un porcentaje de regresión postparto en células escamosas atípicas de significado incierto (ASCUS) del 65%, en lesiones intraepiteliales escamosas de 64% y en lesión intraepitelial escamosa de alto grado del 47%. ⁽³²⁾

En un estudio australiano en donde se incluyeron 811 pacientes con citología anormal anteparto, encontraron un porcentaje de regresión similar a Adhoot y colaboradores; pero reportaron un porcentaje de progresión del 7% a lesión intraepitelial de alto grado. Hasta la fecha no existe evidencia de que los efectos del embarazo modifican la ineffectividad, prevalencia o persistencia de las infecciones por VPH. ⁽³²⁾

Citología Anormal en La Gestación

El embarazo es la oportunidad ideal para realizar un tamizaje de patologías cervicales, por lo que se recomienda realizar un Papanicolaou en la primera visita prenatal y otra a las seis semanas del postparto, lo que ha demostrado reducir el porcentaje de falso negativo. ⁽²⁾

Sin embargo la exactitud diagnóstica del Papanicolaou puede ser alterada debido a los cambios fisiológicos del embarazo.

La prevalencia de la citología anormal en el embarazo se estima de aproximadamente 0.5 a 3.0%.⁽²⁾

Los estudios realizados de PAP anormales, reportan los siguientes hallazgos citológicos durante el embarazo:^(2,33)

- Abundancia de células deciduales degeneradas que pueden simular una lesión intraepitelial escamosa de alto grado, morfológicamente solo difieren por el mayor tamaño celular.
- El citotrofoblasto se distingue tan sólo por la presencia de un nucléolo prominente, también puede confundirse con lesión intraepitelial escamosa de alto grado.
- Las células del sincitiotrofoblasto pueden confundirse con el VPH.
- La metaplasia inmadura se ve con frecuencia, y también puede tener una imagen similar a lesión intraepitelial escamosa de alto grado en una citología.
- Las células de la reacción Arias-Stella con citoplasmas vacuolado y núcleos atípicos agrandados con un nucléolo prominente puede imitar anomalías citológicas asociadas con adenocarcinoma endocervical.^(2,34)

En un estudio retrospectivo de 1377 citologías de pacientes obstétricas reveló que las células endocervicales estuvieron presentes en solo 44.1% de las muestras prenatales en comparación al 82% de las muestras en las citologías postparto.⁽³⁵⁾

Todas las citologías anormales deben ser evaluadas de una forma similar al estado de no embarazo, siendo importante mencionar que no se deberá realizar curetaje endocervical en el embarazo, y no se repetirá el Papanicolaou en menos de 6 semanas postparto.⁽³⁶⁾

Sin embargo ellos dieron pie para iniciar los estudios relativos al VPH y los falsos positivos relacionados con las mujeres gestantes, mas solo estuvo basado en el examen de la citología.⁽³⁶⁾

Según Dr. Vicente Olguin Macedo y la Dra. Angélica Martínez en su trabajo titulado "VPH en casos especiales"⁽¹⁸⁾ establece que la infección por VPH con tipos oncogénicos puede conducir a una citología cervical anormal detectada

durante el embarazo la cual requiere un diagnóstico oportuno y en casos indicados realizar tratamiento. ⁽³⁷⁾

Objetivo General.

Comparar las técnicas de citología y captura híbrida como métodos diagnósticos para la detección del virus de papiloma humano en pacientes embarazadas que acuden al servicio de obstetricia del Hospital Universitario de Caracas.

Objetivos específicos:

1. Determinar el número de pacientes con hallazgos citológicos positivos y negativos y Captura híbrida positivas y negativas.
2. Correlacionar los resultados de citologías con los resultados de la captura híbrida
3. Caracterizar tipificación del virus mediante PCR en pacientes con captura híbrida positiva.
5. Relacionar el número de pacientes con resultados citológicos alterados y con captura híbrida negativa y positiva.
6. Correlacionar las características epidemiológicas y los antecedentes ginecoobstétricos de las pacientes estudiadas con la presencia de DNA viral.

Aspectos éticos.

Se le explicó a las pacientes de manera sencilla y aclarando todas sus dudas sobre la investigación, en la cual podía participar de manera voluntaria. Posteriormente se le facilitó el consentimiento informado en donde se expresó la confidencialidad de cada uno de los datos obtenidos en el estudio y se enfatizó en que el examen físico que se realizó para la obtención de la muestra no implicó ningún riesgo de morbilidad materna o fetal, firmando posteriormente sin ninguna medida de presión este consentimiento, cumpliendo de esta manera con

los principios fundamentales de la bioética (Autonomía, Maleficencia y no maleficencia, justicia).

MÉTODOS

Tipo de Estudio.

Se realizó un estudio de tipo experimental, transversal, analítico.

Población y Muestra

La población estuvo representada por las pacientes gestantes que acudieron al servicio de obstetricia del Hospital Universitario de Caracas en el período de mayo a noviembre del 2012, de las cuales fueron seleccionadas de manera aleatoria simple, con un error muestral de estimación de 5% y un Nivel de confianza del 95% , tomando en cuenta sus antecedentes médicos, un total de 42 pacientes embarazadas en edad reproductiva que representó la muestra para la realización del estudio.

Criterios de Inclusión

- Pacientes embarazadas
- Pacientes en edad reproductiva.
- Pacientes embarazadas pertenecientes a los tres trimestres de gestación.

Criterios de Exclusión.

- Pacientes con antecedente de VPH.
- Pacientes inmunosuprimidas.
- Pacientes en inicio o en de trabajo de parto.
- Pacientes con sangrado genital.

Procedimiento

Se seleccionaron aleatoriamente (cumpliendo los criterios de inclusión y exclusión) 42 pacientes distribuidas en los tres trimestres de gestación que acudieron al servicio de obstetricia del Hospital Universitario de Caracas, y se les realizaron citologías (método de Papanicolaou) y muestras de cérvix para captura híbrida (en el mismo instante) con la utilización del hisopo cervical, estas muestras posterior a ser fijadas fueron trasladadas al Instituto de Anatomía Patológica e Instituto de Hematología de la UCV donde se procesaron.

Detección de VPH.

Para la extracción del DNA se utilizó el kit de extracción **QIAMP DNA mini kit (250) (QIAGEN. Hilden, Alemania)**. Para la detección de VPH se utilizó el kit Captura de Híbridos 2, el cual reporta las muestras como positivas o negativas. Las positivas las diferencia en alto y bajo riesgo oncogénico. La tipificación viral se realizó por una PCR múltiple con el estuche comercial **Seeplex HPV4 ACE Screening** (Seegene, Inc.), el cual identifica genotipos de bajo riesgo como el 6 y 11, y genotipos de alto riesgo como el 16 y 18, así como una banda de 16 genotipos de alto riesgo (26,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73,82). Además presenta un control interno de 1000 pb.

Genotipo	Tamaño del amplificado (pb)
Control interno	1000
VPH-16	588
VPH Alto riesgo*	465
VPH-6/11	302
VPH-18	230

*26,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68,73,82

Tratamiento estadístico adecuado.

Se calculó el promedio y la desviación estándar de las variables continuas; en el caso de las variables nominales se calcularon sus frecuencias y porcentajes.

Los contrastes de las variables nominales-continuas se hicieron con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney; en el caso de las variables nominales-nominales, se aplicó la prueba chi-cuadrado de Pearson.

Se consideró un valor significativo de contraste si $p < 0,05$. Los datos se analizaron con la aplicación JMP-SAS versión 11.0

RESULTADOS.

La muestra estuvo conformada por 42 pacientes, la edad promedio de éstas fue 25 ± 7 años, con una edad gestacional de 22 ± 8 semanas; la edad de menarquia fue 12 ± 2 años; y la edad de primera relación sexual ocurrió a los 17 ± 3 años. El número de parejas sexuales fue 2 (rango: 1 - 10 parejas). Estos resultados se resumen en la tabla 1.

La tabla 2 muestra los resultados de las pruebas diagnósticas, la captura híbrida resultó positiva en 6 (14,3%) de las pacientes; de las citologías realizadas, 1 (2,4%) resultó positiva; de los cuellos evaluados, 9 (21,4%) presentaron secreción patológica y en 33 (78,6%) no tuvo presencia de secreción; la prueba de Schiller resultó positiva en 1 (2,4%) paciente.

La tabla 3 muestra la concordancia entre el resultado de la captura híbrida y la citología, de acuerdo al estadístico kappa, el valor obtenido fue -0,043 (no estadísticamente significativo), de acuerdo al criterio de Fleiss, se consideró este valor como “*no concordante*”. Ningún resultó tuvo concordancia positiva, tanto por captura híbrida como por citología, de los resultados discordantes, 1 resultado negativo de captura híbrida fue citología positiva; 6 resultados positivos de captura híbrida fueron negativos en citología (falso negativo de la citología); 35 pacientes tuvieron un resultado concordante negativo, tanto de captura híbrida como de citología.

Considerando la captura híbrida como el método diagnóstico gold estándar, se planteó comparar los antecedentes ginecoobstetricos de las pacientes con resultados positivos y negativos de este procedimiento, la edad no se correlacionó con el resultado ($p = ns$); como tampoco edad gestacional ($p = ns$); edad de la menarquia, de la primera relación sexual y el número de parejas sexuales, se asoció a la presencia de infección evaluados por captura híbrida. Estos resultados se resumen en la tabla 4.

La tabla 5 muestra la relación de los antecedentes y la respuesta positiva de captura híbrida, este resultado no fue significativo, como tampoco la presencia o no de secreción y en cuanto a la prueba de Schiller, solo 1 resultado positivo de éste, coincidió con captura híbrida positiva lo cual tampoco fue estadísticamente significativo.

DISCUSIÓN.

El diagnóstico de infección cervical por VPH en embarazadas, se realiza generalmente por estudios clínicos, citológicos e histopatológicos; en Venezuela, como en otros países, no se emplea en forma sistemática las técnicas modernas de biología molecular que garantizan la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de infección por VPH, además de permitir la instauración de decisiones terapéuticas más precisas.

Los aportes derivados de esta investigación se compararon con los resultados obtenidos en otros trabajos realizados:

La edad media y el número de parejas sexuales en este estudio se mostró similar al realizado por García y colaboradores en 2011, sin embargo hubo discrepancia en cuanto a edad gestacional promedio e inicio de relaciones sexuales, obteniéndose en dicho estudio el mayor número de pacientes en el tercer trimestre de gestación, con edades comprendidas entre los 18 y 25 años de edad.

En cuanto al Schiller positivo evidenciamos que al realizar esta prueba aislada tiene baja sensibilidad lo cual no concuerda con lo descrito por Sankaranarayanan R, y cols.⁽³⁸⁾

Con respecto a las infecciones genitales Veteramo y colaboradores identificaron una asociación significativa de VPH con *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, no así con bacterias involucradas comúnmente con vaginosis bacteriana, por lo que se puede considerar importante la evaluación simultánea de diversos microorganismos que pueden tener efectos patológicos sinérgicos con el VPH; que aun cuando en este estudio no fueron identificados, se encontró 50% de secreciones anormales asociados a captura híbrida positiva.

En la comparación entre resultados negativos de citología con los de captura híbrida negativa, en este trabajo encontramos una concordancia de 97% similar a lo descrito en la literatura.

La prevalencia de la citología cervical anormal durante el embarazo se estima en aproximadamente 0.5 a 3,0%, situación similar a la hallada en nuestro estudio.

En relación a los resultados de citologías positivas con verificación por captura híbrida los hallazgos obtenidos difieren de los encontrados por Correnti y colaboradores quienes obtuvieron 70% de correlación en su población.

En 1 paciente con diagnóstico citológico de atipias celulares no se demostró la presencia de ADN viral; Esto difiere con lo reportado por diversos autores quienes han demostrado buena correlación entre las citologías patológicas con la detección del ADN de VPH; estas diferencias pudieran explicarse por la variabilidad que existe entre observadores, además, cabe señalar que en este estudio se evaluó cada citología en una oportunidad, por lo cual consideramos que las discrepancias entre las pruebas de ADN y la citología podrían ser debido a un error en el diagnóstico citológico, un bajo número de copias del genoma del VPH, infección por otros serotipos, cambios fisiológicos del embarazo o por las células del cito y sincitotrofoblasto que morfológicamente pueden ser confundidas con atipias celulares.

Raska y colaboradores encontraron un 15% de citologías negativas con pruebas de captura híbrida positivas lo cual concuerda con lo encontrado en este estudio.

En cuanto a las pacientes con PCR positivas para VPH, los resultados de Correnti y colaboradores en 2011 son similares a los obtenidos en este estudio, evidenciándose que el 17% corresponde a virus de bajo riesgo y 82% a virus de alto riesgo, concluyendo que la población venezolana está expuesta en mayor porcentaje a virus oncogénicos. En cuanto a la muestra en la cual no fue posible la identificación del genotipo detectado por el Kit, aun cuando se comprobó por PCR la infección por VPH, nos atrevemos a suponer que tal vez pudiera tratarse de genotipos que no son tan frecuentes o que no están incluidos en el Kit.

En este estudio, las citologías con componente celular normal, demostraron la presencia del ADN viral mediante el método de captura híbrida, correlacionándose con los resultados de múltiples autores, los cuales han confirmado la presencia de VPH en mujeres con citología normal, a pesar de que en nuestro estudio no fue estadísticamente significativo, esto pudiera explicarse por el limitado número de pacientes; la citología es un método subjetivo y poco sensible para establecer el

diagnóstico de infección por VPH, aunque no se niega el extraordinario valor de la misma en el despistaje de cáncer cervical, sin embargo en vista de los resultados de este estudio se emite una alerta debido a que el 14% de las pacientes estudiadas resultaron positivas, de las cuales el 83% correspondieron a virus de alto grado con infecciones subclínicas; siendo potencialmente susceptibles a un cáncer de cuello uterino en el futuro.

En vista de los resultados obtenidos en este trabajo hemos concluido que no se justifica sustituir la Citología por el método de captura híbrida en embarazadas debido a que no hubo diferencia estadísticamente significativa con respecto a las variables epidemiológicas y antecedentes ginecoobstétricos como la edad de la paciente, menarquia, sexarquia, edad gestacional, antecedentes de Infecciones ginecológicas no se correlacionaron con la presencia de DNA viral en la muestra estudiada.

Se sugiere realizar investigaciones similares con una muestra de mayor tamaño, realizar estudios de otras infecciones genitales como clamidia y ureaplasma ya que están asociadas a mayor prevalencia de infección por VPH, seguimiento y tratamiento de las pacientes, en vista que son portadoras asintomáticas de la infección, con prevalencia de Virus de Alto riesgo oncogénico, seguimiento de los recién nacidos al menos en los primeros dos años de vida y seguimiento de la pareja y tratamiento en caso de ser necesario

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecemos al tutor del trabajo el Dr. Rafael Cortes por incentivarnos a realizar este proyecto, de igual forma a las pacientes que nos prestaron su entera colaboración para la realización de esta investigación; así mismo queremos agradecer a la Dra. María Correnti Y Lcda Andreina Sanchez investigadoras pertenecientes, al Instituto de hematoncología UCV que a través del Proyecto FONACIT LPL 2007001088 autorizaron y proporcionaron el kit para la toma de muestras utilizadas para la detección y tipificación de VPH, necesario para llevar a cabo nuestro estudio.

REFERENCIAS

1. Almonte M et al. Nuevos paradigmas y desafíos en la prevención y control del cáncer de cuello uterino en América Latina. *Salud Pública Mex*, 2010, 52:544-559.
2. Brown D, Berran P, Kaplan KJ, Winter WE 3rd, Zahn CM. Special situations: abnormal cervical cytology during pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 2005; 48:178-85.
3. Mongelós P, Páez M, Rodríguez-Riveros I, Giménez G, Castro A, Mendoza L. Detección del virus del papiloma humano de alto riesgo por captura híbrida II® según hallazgos citológicos en mujeres tratadas por lesiones escamosas intraepiteliales de cuello uterino, período 2006/2010. *Rev Bras Epidemiol* 2013; 16(1): 40-8.
4. Herrero R et al. New approaches to cervical cancer screening in Latin America and the Caribbean. *Vaccine*, 2008, 265:49-58
5. Muller, C. Harriet, S. Neoplasia cervical que complica el embarazo. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas de Norteamérica*. 32 (2005) 533 – 546.
6. Robinsson, W. Webb, S. Management of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy with LOOP excision. *Gynecology Oncology* 1997 Jan; 64(1):153-5.
7. Sarkola, M. Human papillomavirus (HPV) in mothers before and after delivery – a three year follow-up study. University of Turku and Department of Obstetrics and Gynecology. Turku 2009.
8. Correnti M, Medina F, Cavazza M, et al. Human papillomavirus (HPV) type distribution in cervical carcinoma, low-grade, and high-grade squamous intraepithelial lesions in Venezuelan women. *Gynecologic Oncology* 2011; 527-531.
9. Cortez, C. Castellón, M. Incidencia y manejo del cáncer de cérvix y embarazo en el Hospital Materno Infantil German Urquidi. 2004 - 2008. *Gac Med Bol*, 2010, vol.33, no.1, p.23-27. ISSN 1012-2966.

10. Seratti, M. Ucella, S. Latersa, M. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy. *Acta Obstetrica y Ginecologia Scand.* 2008;87(12):1296-300
11. Raksha A, Arunaz K, Bhupesh P, Uma K, Swaraj B, Bhudev D. Prevalence of high-risk human papillomavirus (HR-HPV) types 16 and 18 in healthy women with cytologically negative Pap smear. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 121 (2005) 104–109.
12. Meijer C, Snijders P, Castle P. Clinical utility of HPV genotyping. *Gynecologic Oncology* 103 (2006) 12–17.
13. Meijer C, Berkhof J, Verheijen R. HPV testing in cervical screening. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology* Vol. 20, No. 2, pp. 253–266, 2006.
14. Instituto Nacional del Cáncer. Prevención del cáncer cèrvico-uterino. Argentina 2011.
15. López C, Aranda C. Cáncer cervicouterino y embarazo. Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia. Abril 2010.
16. Claire, M. The Papanicolaou Smear and the Obstetric Patient: A Simple Test with Great Benefits. *Diagnostic Cytopathology*, Marzo 2009, Vol 21, No 1.
17. Correnti M, Cavazza M, Herrera, O and Rodriguez, 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.
18. Olguín V, Martínez V. Tratamiento del VPH en casos especiales. XXI Reunión científica de la sociedad médica del hospital de los Ángeles Pedregal. Febrero 2009.
19. Huff, Colvin B. Abnormal Cervical Cytology in Pregnancy: A Laboratory and Clinical Dermatologic Perspective. *The Journal of Perinatal & Neonatal Nursing* Issue: Volume 14(1), June 2000, p 52–62.
20. Hernandez-Girón C, Smith JS, Lorincz A, Lazcano E, Hernández-Avila M, Salmerón J. High-risk human papillomavirus detection and related risk factors

- among pregnant and nonpregnant women in Mexico. *Sex Trans Dis* 2005; 32:613-18.
21. Ault KA. Human papillomavirus infections: diagnosis, treatment, and hope for a vaccine. *Obstet Gynecol Clin North Am.*2003; 30:809-17.
 22. Tenti P, Zappatore R, Migliora P, Spinillo A, Maccarini U, De Benedittis M, et al. Latent human papillomavirus infection in pregnant women at term: a case control study. *J Infect Dis* 1997; 176:277-80.
 23. Ahdoot D, Van Nostrand KM, Nguyen NJ, Tewari DS, Kurasaki T, DiSaia PJ, et al. The effect of route delivery on regression of abnormal cervical cytologic findings in the postpartum period. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:1116-1120.
 24. Bruce Patsner, et al,. Infecciones genitales por virus del papiloma humano durante el Embarazo. *Obstetricia y Ginecología.*1994; 193(105):253-260.
 25. Deng D, Wen L, et al. A study of human papillomavirus infection during pregnancy and transmission of virus to fetus. *Zhonghua Shi Yan he Lin Chuang du Xue Za Zhi.* 1997;11(4):369-71.
 26. Mendoza JA MM, Vielma S, Noguera MA, López M,et al. Infección Cervical por el Virus del Papiloma Humano: Diagnostico por Citología y por Captura de Híbridos del ADN Viral. . *Rev ObstetGinecol Venez* 2000; 60:103-7.
 27. Broderick D, Matityahu D, Dudhbnai M, Alter S. Histologic and colposcopic correlates of ASCUS pap smears necessary during pregnancy.*J Lower Genital Tract Dis* 2002;6:116-19.
 28. Rivera ZR DD, Painel PV, Barrero PR, Larrain HA. . Mecanismo de Infección y Transformación Neoplasica producido por Virus de Papiloma Humano en el Epitelio Cervical. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2006; 7:135-40.
 29. Dolac Chi, et al. Repeat Colposcopic evaluations of anormal pap smears necessary during pregnancy. *Mosby-Year Book.* 2003; 189(6):133.
 30. Gonzalez Antonio, et al. Resultado anormal de la citología cervical durante la gestación. *Coloma Obstet Ginecol.* 2000; 51(2).
 31. Ueki M, Ueda M, Kumagai K, Okamoto Y, Noda S, Matsuoka M. Cervical cytology and conservative management of cervical neoplasia during pregnancy. *Int J Gynecol Pathol* 1995; 14:63-9.

32. Garcia, C. "Genotipificación del Virus de Papiloma Humano (VPH) en Mujeres Embarazadas e Infeccionadas del Instituto Nacional de Perinatología". Instituto politécnico nacional escuela superior de medicina, sección de estudios de postgrado. Mexico, Abril 2011.
33. Curiel J LR, Berumen J, Briones J, Catarino A. Detección citológica de virus del papiloma humano y su correlación con PCR. Rev Mex Patol 1999; 46:74-8.
34. Unger ER, Duarte-Franco E. Human papillomaviruses: into the new millennium. Obstet Gynecol Clin North Am 2001; 28: 653-66.
35. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for Obstetrician-Gynecologists. Number 61, April 2005. Human papillomavirus. Obstet Gynecol 2005; 105:905-18.
36. Donders GG. Management of genital infections in pregnant women. Curr Opin Infect Dis 2006; 19:55-61.
37. Audra P. The management of pregnant women presenting with genital HPV infections. Rev Fr Gynecol Obstet 1990; 85:561-3.
38. Sankaranarayanan R, y cols.: Accuracy of conventional cytology: results from a multicentre screening study in India. J Med. Screen; 11(2):77-84, 2004.

ANEXOS.

Tabla 1.
Características de la muestra.

Variables	Parámetros
n	42
Edad (años)	25 ± 7
Edad gestacional (semanas)	22 ± 8
Menarquia (años)	12 ± 2
Edad de PRS (años)	17 ± 3
Número de parejas sexuales	2 (1 - 10)

Tabla 2.

Característica de los resultados de las pruebas diagnósticas.

Variables	Parámetros	
Captura híbrida		
Positivo BR	1	2,4%
Positivo AR	5	11,9%
Negativo	36	85,7%
Citología		
Con atipias	1	2,4%
Sin atipias	41	97,6%
Secreción Patológica		
Presente	9	21,4%
Ausente	33	78,6%
Prueba de Schiller		
Positiva	1	2,4%
Negativa	41	97,6%

Tabla 3.

Análisis de concordancia de la captura híbrida y citología.

Captura híbrida			
Citología	Positiva	Negativa	Total
Positiva	0	1	1
Negativa	6	35	41
Total	6	36	42

kappa = -0,043 (p = ns)

ns = no estadísticamente significativo

Tabla 4.

Relación del resultado de captura híbrida con las variables ginecológicas.

Variab les	Captura híbrida		p
	Positivo	Negativo	
n	6	36	-
Edad (años)	23 ± 4	25 ± 7	ns
Edad gestacional (semanas)	20 ± 8	22 ± 9	ns
Menarquia (años)	13 ± 2	13 ± 3	ns
Edad de PRS (años)	17 ± 2	17 ± 3	ns
Número de parejas sexuales (*)	3 (2 - 6)	2 (1 - 10)	ns

(*): Valores expresados como mediana (mínimo - máximo)

ns = no estadísticamente significativo

Tabla 5.
Relación de variables epidemiológicas y captura híbrida.

VARIABLES	Captura híbrida				p
	Positiva		Negativa		
Secreción patológica					ns
Presente	3	50,0%	6	16,7%	
Ausente	3	50,0%	30	83,3%	
Prueba de Schiller					ns
Positiva	1	16,7%	0	0,0%	
Negativa	5	83,3%	36	100,0%	

Consentimiento informado

Su firma en este consentimiento informado indica que comprende el contenido de la hoja de información al paciente que acompaña este formulario y que acepta su participación en la investigación bajo la modalidad que usted indica abajo.

Yo, _____, C.I.
Nº _____ de ____ años de edad, he leído y comprendo el contenido de la hoja de información al participante del proyecto de investigación denominado: VIRUS DE PAPILOMA HUMANO: COMPARACION ENTRE CITOLOGIA Y CAPTURA HIBRIDA, aclarando todas las dudas que he tenido al respecto, en forma satisfactoria.

En este sentido, por medio la presente proporciono mi consentimiento para participar en la referida investigación.

En mi calidad de voluntario, reconozco que no estoy obligado a firmar este consentimiento, y aun habiéndolo firmado, puedo retirarme en cualquier momento durante la ejecución de los procedimientos previamente aceptados por mi persona, sin perjuicio alguno.

Con mi firma, certifico que este consentimiento lo acepto de manera voluntaria sin presiones de ningún tipo, y que mi participación se realizará el día: _____. Además reconozco recibir el acto de esta firma una copia de presente consentimiento y de la hoja de información correspondiente.

Paciente

C.I.

Testigo

C.I.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DENOMINADO: VIRUS DE PAPILOMA HUMANO: COMPARACION ENTRE CITOLOGIA Y CAPTURA HIBRIDA

Usted ha sido seleccionado al azar para formar parte de este proyecto de investigación que será llevado a cabo por residentes del tercer año del postgrado de Obstetricia y Ginecología. De usted necesitar una información adicional a la expuesta en esta hoja de información, debe solicitarla a los investigadores responsables del proyecto: Dras. Darlin Martinez y/o Lydia Palacios, quienes aclararán cualquier duda que pudiera tener al respecto.

Propósito del Proyecto

El objetivo del estudio es comparar la citología con la captura hibrida como métodos diagnósticos para la detección del virus de papiloma humano en pacientes embarazadas que acuden al servicio de obstetricia del Hospital Universitario de Caracas

Procedimiento

De usted participar en el estudio, se le tomará una muestra de citología de cuello uterino y otra muestra de captura hibrida las cuales se compararán una vez que tengamos el resultado, contactándolas en caso de ser positivo para tratamiento.

Riesgos

No existe ningún riesgo ni para la madre ni para el feto.

Beneficios

La participación en esta investigación permitirá diagnosticar una infección por el virus de papiloma humano lo cual le permitirá el tratamiento precoz y control de la lesión.

Confidencialidad

Todos los datos obtenidos en la investigación serán totalmente confidencial. Sólo se utilizarán para los fines de esta investigación. Su nombre y otros datos personales no serán expuestos en la misma.

Participación Voluntaria

Su participación es voluntaria y usted puede retirarse del estudio después de haber dado su conformidad para participar. Puede realizar cualquier pregunta para aclarar dudas a los investigadores.