UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

TESIS DOCTORAL

Análisis de la prevalencia de tipos de VPH en muestras de citologías ginecológicas en la población no vacunada. Estudio en la Comunidad de Extremadura.

José Juan Fernández de Mera

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS

Conformidad de los directores:

Fdo: Dr. Javier Sáenz de Santamaría Morales Fdo: Dra. Inmaculada Catalina Fernández

2016

A mis padres, Moisés y Tere, que me regalaron el ser,
a mis hermanos, Moisés y Maite, que me regalaron su confianza,
a María, que me regaló a nuestros hijos, Pedro e Irene,
a mis hijos, Pedro e Irene, que me regalaron la vida.

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos que con su apoyo me han permitido llevar a buen puerto esta tesis.

A los compañeros del Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. A los técnicos y administrativos, pues sin su trabajo no se hubiera podido completar este proyecto.

A los Directores de esta tesis, el Dr. Sáenz de Santamaría y la Dra. Catalina Fernández, por imprimirme constancia y libertad para concluir este trabajo.

Pero sobre todo, me gustaría agradecer su presencia a mis amigos. A Ana por las risas y sabios consejos, a Myrian por darme cordura y su paciencia, y a Javier, también maestro, por introducirme en el mundo de la patología, guiarme por sus sendas y servirnos de faro. Y a mi amiga Viky, quien a pesar de la distancia siempre siento cerca.

Lista de abreviaturas usadas en el texto

ACG – Atipias de células glandulares

ANOVA – Análisis de la varianza de una vía

ASC-H – Atipia de células escamosas de significado incierto, no se puede descartar una lesión de alto grado

ASC-US – Atipia de células escamosas de significado incierto, no se puede descartar una lesión de bajo grado

ASCCP – *American Society for Colposcopy and Cervical Pathology*

Ca. – Carcinoma

CAP – *College of American Pathologists*

CDK – Quinasa dependiente de ciclina

CIN – Neoplasia cervical intraepitelial

Cols. – Colaboradores

COPF – Centros de Orientación y Planificación Familiar

DIU – Dispositivo intrauterino

DS – Desviación estandar

EE.UU. – Estados Unidos de América

ET – Error típico

FDA – *Food and Drug Administration*

H-SIL – Lesión intraepitelial de alto grado

HLA – Antígeno leucocitario humano

IC – Intervalo de confianza

L-SIL – Lesión intraepitelial de bajo grado

NLIM – Negativo para lesión intraepitelial y malignidad

Rb – Retinoblastoma

RR – Riesgo Relativo

SEAP – Sociedad Española de Anatomía Patológica

SEC – Sociedad Española de Citología

VPH – Virus del Papiloma Humano

VPH-AR – Virus del Papiloma Humano de alto riesgo

VPH-BR – Virus del Papiloma Humano de bajo riesgo

FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

Figura 1. Evolución de la población extremeña de 2000 a 2012.
Figura 2. Estructura del virus del papiloma humano.
Figura 3. Esquema de la organización genómica y acción de las principales protínas del VPH(64).
Figura 4. Clasificación del VPH .
Figura 5. Historia natural de la infección por VPH. (Modificado de Bladé et col. (93)).
Figura 6. Atipia escamosa de significado indeterminado (ASC-US).
Figura 7. Atipia de células escamosas, no puede excluirse H-SIL (ASC-H).
Figura 8. Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (L-SIL).
Figura 9. Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (H-SIL).
Figura 10. Carcinoma escamoso.
Figura 11. Atipias de células glandulares.
Figura 12. Protocolo de cribado atendiendo a los grupos de edad. (Tomado de Bladé y cols. (93)).
Figura 13. Distribución de citologías, mujeres estudiadas y número de estudios de PCR.

Gráfica 1. Distribución poblacional según grupos de edades de la población de extremeña en 2011.
Gráfica 2. Porcentaje de citologías según Área Salud.
Gráfica 3. Edades medias de las mujeres incluidas en el cribado, por Área de Salud.
Gráfica 4. Distribución de citologías según centro de origen.
Gráfica 5. Porcentaje de citologías por presencia de lesión.
Gráfica 6. Prevalencia de lesiones citológicas.
Gráfica 7: Prevalencia de lesiones citológicas por Áreas de Salud.
Gráfica 8. Distribución de lesiones escamosas entre mujeres.
Gráfica 9. Porcentaje de lesiones escamosas por Área de Salud.
Gráfica 10. Distribución de PCR positiva por lesiones citológicas.
Gráfica 11. Prevalencia de genotipos en mujeres estudiadas con PCR positivo y genotipo identificado.
Gráfica 12. Distribución de genotipos de alto riesgo en las mujeres estudiadas.
Gráfica 13. Distribución de genotipos de bajo riesgo en las mujeres estudiadas.
Gráfica 14 Distribución de genotipos de alto riesgo por diagnóstico citológico en mujeres.
Gráfica 15. Distribución de genotipos de bajo riesgo por diagnóstico citológico en mujeres.
Gráfica 16. Prevalencia de genotipos de alto y bajo riesgo entre los diagnósticos citológicos.
Gráfica 17. Prevalencia de infecciones simples y múltiples entre los diagnósticos citológicos.
Gráfica 18. Prevalencia genotípica por tipo de infección (IS: infección simple, IM: infección múltiple).
Gráfica 19. Edad media por Áreas de Salud.
Gráfica 20 . Porcentaje de mujeres por grupo de edad.
Gráfica 21. Edad media por centro de origen de las mujeres de estudio.
Gráfica 22. Edades media por diagnósticos citológicos.
Gráfica 23. Edad media de las mujeres infectadas y no infectadas por VPH.
Gráfica 24. Edad media de las mujeres infectadas por los distintos genotipos.

Gráfica 25. Distribución de mujeres con VPH por grupos de edad en la muestra considerada.
Gráfica 26. Distribución de mujeres con VPH por grupos de edad entre mujeres sin lesiones citológicas ni antecedentes ginecológicos
Gráfica 27. Distribución genotípica en las mujeres de entre 15-24 años.
Gráfica 28. Distribución genotípica en las mujeres de entre 25-34 años.
Gráfica 29. Distribución genotípica en las mujeres de entre 35-44 años.
Gráfica 30. Distribución genotípica en las mujeres de entre 45-54 años.
Gráfica 31. Distribución genotípica en las mujeres de entre 55-65 años.
Gráfica 32. Distribución genotípica en las mujeres de entre 66-75 años.
Gráfica 33. Distribución de genotipos de alto y bajo riesgo por grupos de edad.
Grafica 34. Distribución de infecciones simples y múltiples por grupos de edad.
Gráfica 35. Porcentaje de lesiones escamosas por grupos de edad.

Tabla 1. Número de habitantes por Áreas de Salud. Extremadura. Año 2012 (15).
Tabla 2. Cobertura de tarjetas sanitarias en Extremadura.
Tabla 3. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en Europa.
Tabla 4. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en África.
Tabla 5. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en América.
Tabla 6. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en Asia.
Tabla 7. Principales publicaciones sobre población española.
Tabla 8. Características de las variables de estudio.
Tabla 9. Porcentaje de citologías por Áreas de Salud e intervalos de confianza al 95%.
Tabla 10. Edad media de las mujeres incluidas en el cribado, según Área Salud de procedencia.
Tabla 11. Distribución por grupos de edad de las citologías según Área de Salud.
Tabla 12. Porcentaje de citologías por centro de origen e intervalos de confianza.
Tabla 13. Aportación de citologías por Áreas de Salud.
Tabla 14. Aportación de citologías por centro de origen.
Tabla 15. Porcentaje de mujeres por número de citologías e intervalos de confianza al 95%.
Tabla 16. Porcentaje de citologías por presencia de lesión e intervalos de confianza al 95%.
Tabla 17. Distribución de citologías valorables por Áreas de Salud.
Tabla 18. Prevalencia de diagnósticos citológicos e intervalos de confianza al 95%.
Tabla 19. Procedencia de las mujeres del estudio por Áreas de Salud.
Tabla 20. Procedencia de las mujeres del estudio por centro de origen.
Tabla 21. Distribución de diagnósticos citológicos por mujeres e intervalos de confianza al 95%.
Tabla 22. Porcentaje de lesiones escamosas por Área de Salud.
Tabla 23 Prevalencia de genotipos en mujeres estudiadas con PCR positivo y genotipo identificado
Tabla 24. Distribución genotípica por diagnóstico citológico, genotipos de alto y bajo riesgo e infecciones simples y múltiples.
Tabla 25. Prevalencia genotípica por tipo de infección (IS: infección simple, IM: infección múltiple).
Tabla 26. Estadísticos sobre la edad de las pacientes.

Tabla 27 . Porcentaje de mujeres por grupo de edad con intervalos de confianza al 95%.
Tabla 28. Estadísticos sobre edad y Áreas de Salud.
Tabla 29. Estadísticos sobre edad y positividad a la infección por VPH.
Tabla 30. Prevalencia de infección por grupos de edad e intervalos de confianza.
Tabla 31. Prevalencia de infección por grupos de edad entre mujeres sin lesiones citológicas ni antecedentes ginecológicos.
Tabla 32. Distribución de genotipos de alto y bajo riesgo por grupos de edad.
Tabla 33. Distribución de infecciones simples y múltiples por grupos de edad.
Tabla 34. Tiempos medios de progresión, persistencia, remisión y aclaramiento, asociado a genotipos de alto y bajo riesgo.

ÍNDICE

I. RESUMEN 1

II. INTRODUCCIÓN. CONTEXTO GEOSOCIAL 4

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA 8

1. **Breve reseña histórica** 8

1.1 Historia de la citología ginecológica 8

1.2 Historia del virus del papiloma humano (VPH) 13

2. **El virus del papiloma humano(VPH)** 16

2.1 Nomenclatura del VPH 16

2.2 Estructura del VPH 16

2.3 Clasificación. Tipos, subtipos y variantes 18

2.4 Trasmisión 21

2.5 Historia natural 22

2.6 Factores de riesgo y cofactores de progresión 26

2.7 Patogénesis 28

3. **Pruebas de cribado en el cáncer de cérvix** 36

3.1 Citología cervical 37

3.2 Nomenclatura de las lesiones cervicales 39

3.3 Control de calidad 45

3.4 Métodos de detección del VPH 47

3.5 Situación del cribado de cáncer en España 50

4. **Impacto mundial de la infección por VPH** 53

4.1 Prevalencia tipo específica del VPH 54

4.2 Prevalencia del VPH por edades 71

5. **Impacto de la infección por el VPH en España** 72

IV. OBJETIVOS 78

V. MATERIAL Y MÉTODOS 80

1.**Planteamiento metodológico** 80

2. **Población de estudio** 80

3.**Protocolo de estudio** 81

4.**Control de calidad** 82

5.**Estudio epidemiológico** 83

6.**Análisis estadístico** 83

7. **Referencias bibliográficas** 85
VI. RESULTADOS 87
1.**Estudio sobre citologías** 87
2.**Estudio sobre mujeres** 96
3.**Estudios moleculares par identificación del VPH** 98
4.**Distribución por edades y grupos de edad** 113
5.**Tiempos de progresión, persistencia, remisión y aclaramiento** 127
6.**Control de calidad** 127
VIII. DISCUSIÓN 130
1.**Consideración inicial** 130
2.**Características de la población de estudio** 132
3.**Diagnósticos citológicos** 134
4.**Diagnósticos citológicos y distribución por edades** 137
5.**Prevalencia de la infección por VPH** 139
6.**Distribución por edad de las mujeres infectadas por VPH** 143
7.**Distribución genotípica** 144
8.**Distribución genotípica por grupos de edad** 146
9.**Distribución genotípica por diagnósticos citológicos** 147
10.**Infecciones simples y múltiples** 147
11.**Tiempos y riegos de progresión, persistencia, regresión y aclaramiento** 148
VIII. CONCLUSIONES 152
1**. Estudio sobre citologías** 152
2.**Estudio sobre mujeres** 152
3.**Estudios moleculares par identificación del VPH** 153
4.**Distribución por edades y grupos de edades** 153
5.**Tiempos y riegos de progresión, persistencia, regresión y aclaramiento** 154
6.**Control de calidad** 154
BIBLIOGRAFÍA 156

I. RESUMEN

A nivel mundial el cáncer de cérvix eseltercertipo de cáncer más frecuente entre mujeres, representando el 14% de todos los tumores femeninos y la cuarta causa de muerte por cáncer (1). Existen diferencias en función del grado de desarrollo de las regiones consideradas, de tal forma que se llega al 15,7% en los países menos desarrollados y baja hasta el 9,9% en los más desarrollados. En España, la misma fuente (Globocan 2012, (1)) informa de que el 10,6% de todos los tumores femeninos son carcinomas de cérvix y supone la décima causa de cáncer entre mujeres y la decimotercera causa de muerte por cáncer. En la Comunidad de Extremadura la tasa de mortalidad, para 2008, por este tipo de cáncer también fue algo menor: 1.21 en la provincia de Badajoz y 0.93 en Cáceres, frente a un 1.51 en España (casos/100.000mujeres) (2).

La infección por ciertos tipos de virus del papiloma humano (VPH) ha sido reconocida como un factor causal y necesario para el desarrollo de cáncer cervical (3), (4). Hasta la fecha han sido identificados más de 40 tipos de VPH asociados a infecciones del tracto genital (5) y, de estos, al menos 30 se han relacionado con el desarrollo de cáncer cervical (6). Diversos estudios epidemiológicos revelan grandes diferencias en la prevalencia y la distribución genotípica de VPH entre diferentes grupos de edades y diferentes áreas geográficas (7), (8), (9), (10). De esta forma, la efectividad de la vacuna frente a VPH16 y VPH18, incluida en el calendario de vacunaciones sistemáticas infantiles de la Comunidad Autónoma de Extremadura desde el año 2008 (11), dependerá de la distribución regional de los tipos virales oncogénicos y de su circulación.

En este sentido, la determinación del DNA y el tipaje de VPH en las citologías ginecológicas de la Comunidad de Extremadura nos ha permitido llevar a cabo una estimación de la prevalencia y distribución genotípica del virus del VPH.
Con ese objetivo, se contemplan todas las citologías ginecológicas recibidas en el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz desde noviembre de 2002 hasta diciembre de 2013, procedentes de la Comunidad Autónoma de Extremadura, que se encuentra distribuida en ocho Áreas de Salud. El estudio incluye 355.938 citologías que correspondían a 173.841 mujeres con edades comprendidas entre 10 a 91 años, con una edad media de 36,30 años (DS 12,221), siendo la moda los 25 años. El 43,6% de las citologías procedieron del Área 1 (Badajoz) y se realizó una media de 2,04

estudios por mujer. Los diagnósticos citológicos se clasificaron atendiendo al consenso de Bethesda(12), con los resultados siguientes: negativo para lesión intraepitelial o malignidad 93,3%; ASC-US, 1%; ASC-H, 0,1%; L-SIL, 1,6%; H-SIL, 0,3%. Se realizó el diagnóstico de carcinoma escamoso en 42 ocasiones, de ACG en 55 y de adenocarcinoma en 42. 13.419 citologías fueron no valorables.

Se analizó la presencia de DNA de VPH utilizando PCR consenso con cebadores GP5/GP6 mediante *VPHDirectFlow CHIP* (Master Diagnóstica, Granada, España). Se detectó DNA de VPH en el 65% de las citologías ginecológicas analizadas, siendo la prevalencia de los diez primeros genotipos, en orden descendente, la siguiente: 16 (35%), 31 (15%), 53 (13%), 66 (11%), 42 (9%), 52 (9%), 6 (9%), 58 (8%), 58 (8%), 18 (8%). Los tipos VPH16, VPH33, VPH51 y VPH 31 se presentan en un mayor número de casos en infecciones simples. El genotipo 16 es el que más frecuentemente se asocia a otros genotipos en las infecciones múltiples, principalmente y por orden de frecuencia al 6, 31 y 18.

El genotipo más frecuente fue el VPH16, tanto en el total de casos positivos, como por grupos de edades, aumentando el porcentaje de infección con la edad de la paciente, lo que podría indicar una mayor capacidad de este genotipo para establecer infecciones persistentes. Con respecto a la distribución genotípica delVPH por lesión, encontramos que el 63% de las mujeres diagnosticadas de HSIL se encuentran infectados por VPH16, frente al 26,28% de las diagnosticadas con LSIL. Asimismo, atendiendo a la frecuencia de infecciones por VPH de alto o bajo riesgo oncogénico, se observa un mayor porcentaje de infecciones por VPH de alto riesgo oncogénico en HSIL que en LSIL (94,19% frente al81,12%).

Para establecer la prevalenciade infección en la comunidad de Extremadura, se identificaron 593 mujeres consecutivas sin alteraciones citológicas ni antecedentes ginecológicos, obteniéndose una prevalencia cruda del 6% y del 5,74% (3,94-8,58) ajustada por grupos de edad, según población mundial estándar para el años 2010(13).

Palabras clave: VPH, prevalencia, Extremadura.

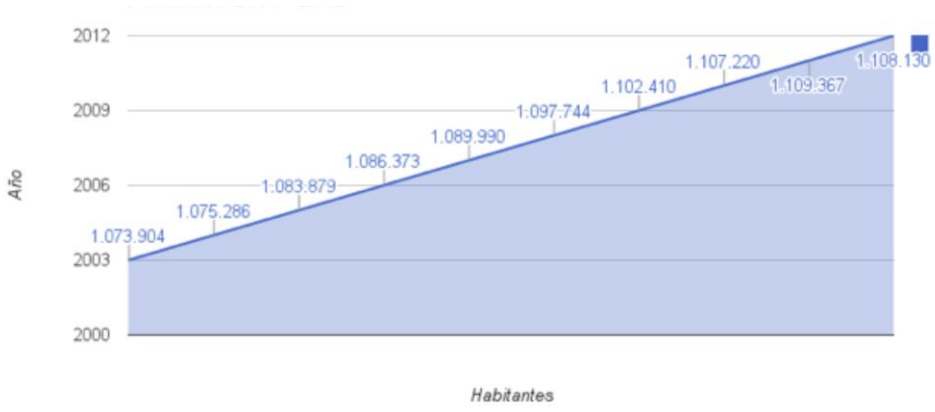
INTRODUCCIÓN

II. INTRODUCCIÓN. CONTEXTO GEOSOCIAL

Extremadura (14)está formada por las dos provincias más grandes del territorio nacional, si bien ocupa el quinto puesto en cuanto a tamaño de Comunidad Autónoma,con una extensión total de 41.635 km².

Según el Padrón Municipal de Habitantes, coordinado por el Instituto Nacional de Estadística (INE), la población de Extremadura a 1 de enero de 2012 era de 1.108.130 habitantes, con una densidad de población de 26,52 hab./km². La distribución por sexos erade 550.324 hombres (49,66%) y 557.806 mujeres (50,33%). Estas cifras, aunque con un discreto incremento se han ido manteniendo a lo largo del tiempo, como se representa en la Figura 1.

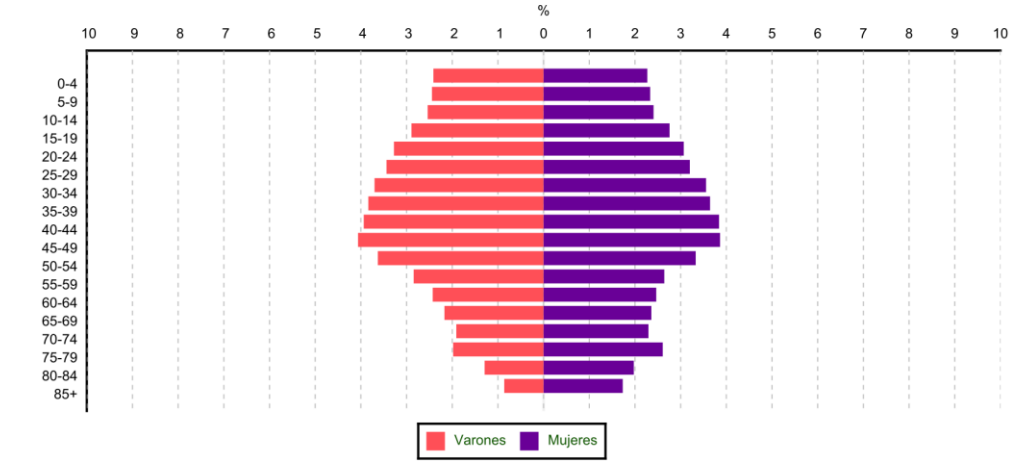
Figura 1. Evolución de la población extremeña de 2000 a 2012.



(http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=%2Ft20%2Fe260%2Fa2013%2F&file=pcaxis&N=&L=0)

Cuando se combina la estructura por sexos con la estructura por edades se obtiene la pirámide de población. En la Figura3.2 se representa la correspondiente a Extremadura en el año 2011 donde podemos observar la típica distribución de los países envejecidos, con baja natalidad típica de los países desarrollados.

Gráfica 1. Distribución poblacional según grupos de edades de la población de extremeña en 2011.



Fuente: INE Revisión del Padrón de Habitantes a 1 de Enero de 2011

(http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=%2Ft20%2Fe260%2Fa2013%2F&file=pcaxis&N=&L=0)

La Ley 10/2001, de 28 de junio, de Salud de Extremadura, establece la organización pública de los servicios sanitarios bajo la denominación de Sistema Sanitario Público de Extremadura y delimita territorialmente la Comunidad Autónoma en áreas y zonas de salud.

El área de salud se configura como la demarcación territorial básica del Sistema Sanitario Publico de Extremadura. Su organización debe asegurar la continuidad de la atención en sus distintos niveles y promover la efectiva aproximación de los servicios al usuario, así como la coordinación de todos los recursos en este ámbito.

El área de salud, a su vez, se organiza en zonas de salud, que constituyen el marco territorial y poblacional de la atención primaria. En ellas se proporciona una atención sanitaria continuada, integral y permanente mediante el acceso directo de la población.

La distribución de la población extremeña por áreas de salud puede observarse en la Tabla 2.

Tabla 1. Número de habitantes, superficie (km2) y densidad de población (habitantes/km2) por áreas de salud. Extremadura. Año 2012(15).

Áreas de Salud	Habitantes	Km^2	Habitantes / Km^2
Badajoz	276.154	6.237,80	44,27
Mérida	169.951	3.392,45	50,10
Don Benito-Villanueva	142.773	6.963,77	20,50
Llerena-Zafra	105.655	5.172,21	20,43
Cáceres	198.690	10.559,19	18,82
Coria	46.819	2.415,80	19,38
Plasencia	112.904	3.990,13	28,30
Navalmoral de la Mata	55.184	2.903,08	19,01
Extremadura	**1.108.130**	**41.634,43**	**26,62**

Fuente: INE. Entorno físico.
Elaboración: Dirección General de Planificación, Calidad y Consumo de la CSyPS.

La cobertura de tarjetas sanitarias en Extremadura asciende al 98,84% de la población.

Tabla 2. Cobertura de tarjetas sanitarias en Extremadura.

	Extremadura	España	Fuente
Población	1.098.248	46.593.236	INE – Cifras de población 1.07.2013
% Hombres	49,7	49,2	INE-Cifras de población 1.07.2013
% Mujeres	50,2	50,8	INE-Cifras de población 1.07.2013
% Población de 14 años y menos	14,3	15,2	INE – Cifras de población 1.07.2013
% Población de 15 a 64 años	66,2	66,9	INE – Cifras de población 1.07.2013
% Población de 65 años y más	19,4	17,9	INE – Cifras de población 1.07.2013
Tasa bruta de natalidad por 1.000 hab.	8,1	9,1	INE- Estadísticas Movimiento Natural de la población Nacimientos. 2013
Gasto sanitario público como % del PIB	9,5	5,8	MSSI- Estadística Gasto Sanitario Público 2012 (el 7,9% no se recoge territorializado)

Elaborado por la Subdirección General de Información Sanitaria e Innovación.
Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

La distribución territorial del mapa sanitario extremeño no es homogénea, debido a su gran extensión ya la baja densidad de población, por lo que coexisten áreas de salud pequeñas, que también pueden estar poco pobladas como Coria o Navalmoral de la Mata, junto a áreas más extensas como Badajoz o Mérida(15).

REVISIÓN DE LA LITERATURA

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

1. Breve reseña histórica

Se puede considerar al fisiólogo alemán Johannes Peter Müller (1801-1858) el padre de la microscopía médica, puesto que además de sus aportaciones científicas en el campo de la patología, trasmitió su entusiasmo ante este método de investigación a una generación de estudiantes desde su puesto como profesor en la Facultad de Medicina de Berlín (16). Entre ellos se encontraba Rudolf Virchow (1821-1902) quien sentó las bases de la patología moderna. En el primer volumen de la *Virchows Archive* (1847) publicó un extenso artículo sobre la naturaleza del cáncer, ilustrado con imágenes de los tejidos tumorales y células cancerígenas (16). Otro avance imprescindible para la interpretación de los tejidos y sus lesiones fue la introducción de tinciones especiales. Para este propósito Paul Ehrlich (16), en1879,comenzóa utilizar una mezcla de colorantes como fucsina (colorante ácido) y azul de metileno (colorante básico) para la visualización de no sólo las células sanguíneas si no también tumorales. En 1891, Ernst Malachowski y Dimitry Leonidovich Romanowsky desarrollaron de manera independiente sendas técnicas, haciendo uso de una mezclas de eosina y azul de metileno modificado. Estas técnicas fueron posteriormente modificadas por James Homer Wright (1902) y Gustav Giemsa (1904)(17).

Para abarcar la historia de la citología, esta se puede dividir en la historia de la citología aspirativa, la historia de la citología no ginecológica y en la que nos ocupa, la historia de la citología ginecológica.

1.1 Historia de la citología ginecológica

La primera vez que se relacionó el cáncer de cérvix con una posible trasmisión sexual fue en 1842 cuando Domenico Rigoni-Stern, cirujano en jefe del Hospital de Verona y profesor de la Universidad de Padua, publicó un trabajo en el que se analizaban las causas de muerte en Verona en el periodo comprendido entre 1760 y 1839(18). Sus conclusiones fueron que el cáncer de útero era más frecuente en mujeres casadas, que este tumor era más prevalente entre los 30 y 40 años de edad y que su frecuencia se duplicaba en las dos décadas siguientes para después decaer drásticamente, siendo raro entre mujeres no casadas y casi ausente entre monjas. Por este motivo concluyó que este tipo de cáncer

debía estar relacionado con los contactos sexuales. Sin embargo, para algunos autores este análisis es superficial ya que no diferencia entre cáncer de cérvix y de útero y porque nunca postuló un origen infeccioso (19). El trabajo de Rigoni-Stern fue, en realidad, de naturaleza estadística y emitió conclusiones epidemiológicas.

Como las técnicas histológicas no estaban bien implementadas, los estudios microscópicos llevados a cabo hasta algo más de mediados del siglo XIX se desarrollabasobre extendidos citológicos. En 1843, Gluge realiza las primeras ilustraciones de células cancerígenas procedentes de un raspado cervical (20), mientras que André François Donné en 1844 y F. A. Pouchet en 1847 describieron la citología de las secreciones vaginales (20). Posteriormente, en el Londres de 1854, Lionel Beale publicó el primer volumen sobre microscopía aplicada a la medicina: "Themicroscope in itsapllications to practical medicine" (20), donde se incluye la descripción exhaustiva de numerosas técnicas histológicas.

En 1871, Richardson (EE.UU) propone el diagnóstico del cáncer de cérvix obteniendo una muestra directa de la lesión mediante unas pinzas y ayudado de un endoscopio, para ser extendida posteriormente y visualizada al microscopio(17).

En1877 Ruge y Veit(21)introducen la biopsia uterina para el estudio histológico de estas lesiones, mejorando la identificación del carcinoma invasivo de cérvix y diferenciándolo de otros tumores uterinos. En 1897 Amanndescribióel componente celular de los carcinomas escamosos(22). Pero ni el, ni sus contemporáneos identificaron el origen del carcinoma invasivo. Este mérito le corresponde a un ginecólogo austríaco de Graz, W. Schauenstein, (23)quien en 1908 describió las similitudes entre el patrón histológico del epitelio canceroso superficial y el carcinoma escamoso superficialmente infiltrante de cérvix. Schauensteinconsideró que el epitelio superficial anormal merecía el nombre de carcinoma porque era el origen del carcinoma invasivo. Posteriormente Schottländer y Kermauner(24)acuñaron el término *carcinoma in situ*para describir el epitelio canceroso en la superficie del cérvix e interpretaron esta lesión como maligna.

En 1925, otro ginecólogo alemán, Hinselmann, consideró la necesidad de utilizar un aparato magnificador (el colposcopio) para poder identificar las lesiones poco evidentes del epitelio cervical causadas por el cáncer incipiente, usando una lupa de más de veinte aumentos y complementando estos estudios con la biopsia cervical.

En enero y abril de 1927, el Dr. Aurelio Babés y el Dr. Constantin Daniel, presentaron en sendas sesiones de la "BucureștiSocietatea de Ginecologie" sus hallazgos, cuyos resúmenes fueron publicados posteriormente en la revista oficial de dicha Sociedad

(25),(26) y seguidamente, en 1928 por el Dr. Babés, en la revista médica francesa, de mayor impacto internacional *PressMédicale*(27).En el artículo se hacía una descripción precisa de las células del carcinoma de células escamosas en frotis cervicales y se sugería el posible uso de los frotis para detectar procesos pre-invasivos. Las células se obtuvieron mediante el uso de un asa de platino para transferir material desde el cérvix uterino al portaobjetos. Estas muestras eran secadas al aire y se teñían con tinción de Giemsa. Este artículo es la única aportación importante del Dr. Babésa la citopatología, ya que aunque en 1931 publicó otro artículo sobre el carcinoma de células escamosas superficial de cérvix uterino, sólo hizo una pequeña referencia al método citológico de diagnóstico(28). Estas contribuciones pasaron desapercibidas por la sociedad médica hasta que en 1951, el ginecólogo canadiense J. E. Ayre en su "*Cancercytology of theuteros*" (29)mencionó el trabajo del Dr.Babés.

El verdadero impacto de la citología ginecológica llegó con los trabajos del Dr. Papanicolau en 1941 cuando publicó junto con el Dr. Herbert Traut "*Thediagnosticvalue of vaginal smears in carcinoma of theuterus*" (30), seguido dos años después por la monografía "*Diagnosis of UterineCancerbythe Vaginal Smear*" (31) donde se incorporaban los dibujos clásicos de estos autores. Estas dos publicaciones marcan el inicio de la era moderna de la citopatología, a pesar de que la primera contribución del Dr. Papanicolaou fue en 1928 cuando describió sus hallazgos sobre las células tumorales en los aspirados vaginales en la "*Thirdracebettermentconference*" en el Sanatorio de Battle Creek auspiciado por el Dr. John Harvey Kelloggs, sin grandes repercusiones científicas.

El Dr. Papanicolaou perfeccionó la técnica que llevaría su nombre y demostró que la citología convencional también podría ser utilizada para identificar lesiones precancerosas del cuello uterino(32). Papanicolaou proporcionó la primera clasificación de lesiones cervicales en 1954 (32), separando los hallazgos citológicos en 5 categorías orientadas, principalmente, a establecer las semejanzas de los hallazgos citológicos con las lesiones invasivas. El principal problemas de esta clasificación, que persistió aún en las múltiples revisiones a las que fue sometida, fueron los grados intermedios, difícilmente reproducibles o de difícil correlación con las lesiones histológicas. No obstante en Los Países Bajos se usa de forma habitual una modificación de la clasificación de Papanicolaou (CISOE-A) donde se han redefinido y subclasificado las cinco clases de Papanicolaou para correlacionarlas con la terminología histopatológica (33).

Sin embargo, fue Lombart, quien en 1948 introdujo la posibilidad de identificar lesiones precoces de cáncer de cérvix uterino mediante extensiones de secreciones vaginales (20).

En esa misma década el Dr. Ayre propone la obtención directa de muestras citológicas a través de la espátula, que aún lleva su nombre y un depresor específico para facilitar el acceso al cérvix uterino a través de la vagina(20).

También en 1948, la "*American CancerSociety*" organizó una conferencia nacional en Boston con el fin de estandarizar el cribado del cáncer cervical, obteniéndose como resultado las primeras recomendaciones para la realización del cribado de este tumor. Siguiendo estas recomendaciones, Nieburgs y Pund, en 1950(34)publican los primeros resultados del cribado de cáncer cervical en 10.000 mujeres, indicando que se identificaron numerosos casos de cáncer no sospechado. En esta misma publicación se establece el método Pap como el estándar para el estudio de la citología ginecológica. Estudios y publicaciones posteriores asentaron estos procedimientos como de gran valor para la identificación del cáncer cervical, lo que facilitaba su tratamiento y la prevención de sus formas invasivas.

La consolidación de la citología se llevó a cabo gracias a dos publicaciones de Leopold G. Koss. La primera, un artículo en la revista *Acta Cytologica* de 1957 y cuatro años más tarde por la primera edición de su libro "*DiagnosticCytology and itshistological bases*", a la que han seguido cuatro ediciones posteriores. Estos trabajos se han convertido en el cuerpo teórico y el conocimiento práctico de la citología y su correlación histológica(35).

En la década de 1960, la citología cervical se comenzó a utilizar ampliamente. Durante 30 años, el cribado citológico redujo la incidencia de carcinomas de cuello uterino hasta en un 75% en los países que fueron capaces de llevar a cabo programas de cribado con controles de calidad(36).

Como resultado de la mayor comprensión en la progresión de las lesiones cervicales, en los años 60, Richart, introdujo el término de Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN, por sus siglas en inglés) (37), (38). El concepto de Neoplasia Intraepitelial Cervical, enfatiza en el hecho de que Displasia y Carcinoma *in situ* son estadios sucesivos de un mismo proceso.

En los años 70, la Organización Mundial de la Salud se hizo eco del interés de algunos citopatólogos por contar con una clasificación más reproducible y capaz de ajustarse a los diagnósticos histopatológicos (39). Esta clasificación proporcionó mayor correlación citohistológica, pero incluye numerosas entidades que dificultan la reproducibilidad intraobservador e interobservador (40), (41).

Finalmente el proceso de cambio comenzó en 1987 con la publicación de Bogdanich "*LaxLaboratories*" el 2 de noviembre en el "Wall Street Journal". La cita "*ThePap Test*

MissesMuch Cervical CancerThroughLabsErrors" afirmaba que se producían falsos negativos por el escaso cuidado puesto por los facultativos en los estudios citológicos. Este artículo alertó a la opinión pública y se cuestionó la eficacia de la citología cervical, lo que llevó a la introducción, en 1988, del documento regulador gubernamental conocida como CLIA 88 ("*ClinicalLaboratoryImprovementAct*"), que imponían una serie de normativas para asegurar la calidad de las pruebas citológicas(20).

Al mismo tiempo, también en 1988, el *NationalCancerInstitute*promovió la normalización de la terminología del diagnóstico en la citología cervical. Se introdujo un nuevo sistema de clasificación denominado "Sistema Bethesda"(42). La contribución más importante del Sistema de Bethesda fue la creación de un marco normalizado para los informes citológicos que incluyeron un diagnóstico descriptivo y una evaluación de la adecuación de la muestra. Aunque no todala comunidad científica estuvo de acuerdo con todos los detalles de ese esfuerzo inicial, las recomendaciones del taller de 1988 recibieron amplia aceptación en la práctica. Un segundo taller se realizó en 1991 para modificar el sistema basándose en la experiencia de su uso clínico después de su implementación. Con el aumento de la utilización de las nuevas tecnologías y los últimos hallazgos de los estudios de investigación, en el año 2001 se consideró un momento oportuno para volver a evaluarlo.

El Sistema Bethesda 2001 (43)comprendió cambios basados en la experiencia clínica y en avances del conocimiento acerca de la biología del carcinoma cervical. El término diagnóstico se reemplazó por interpretación o resultado. En esta revisión se hizo un gran esfuerzo para aclarar el modo de informar las muestra que son insatisfactorias. La terminología actual enfatiza que para considerar que una muestra es "insatisfactoria" el laboratorio debe intentar, por todos los medios, su procesamiento y evaluación en toda su totalidad. La contribución más destacable de este sistema es una clasificación binaria de las anormalidades celulares preneoplásicas en el extendido citológico que denomina lesiones intraepiteliales de bajo y alto grado (LIP-SIL). El término lesión de bajo grado se corresponde con el CIN I de la Clasificación de Richart(38) e incluye las alteraciones celulares producidas por el virus del papiloma humano (VPH), mientras que el término lesión de alto grado incluye el CIN II y III y el carcinoma *in situ* de dicha clasificación.

En la década de 1990, la eficacia de la prueba de Papanicolaou alcanzó su punto más bajo, con distintas publicaciones demostrando que la sensibilidad y especificidad de una sola prueba de Papanicolaou en la detección de neoplasia intraepitelial cervical o cáncer

invasivo era del orden del 80% (85% y 76%, respectivamente)(40). Una revisión del programa del Reino Unido encontró que en mujeres que desarrollaban cáncer cervical invasivo, el 47% tenía un historial de investigación aparentemente adecuada durante los 5 años anteriores (44). Estos hallazgos fueron interpretados como el límite de la eficacia de la citología convencional siendo necesario implementar mejoras en los distintos pasos de la prueba, de la toma a la interpretación de los resultados, pasando por protocolos de cribado mejorados, así como mejoras en la terminología diagnóstica, como se ha comentado.

En este sentido y a pesar de los magníficos resultados que ha aportado el Sistema Bethesda, el Colegio Americano de Patólogos (CAP) y la Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical(ASCCP) han establecido una nueva terminologíacitohistológicas denominada LAST (*LowerAnogenitalSquamousTerminology*), que incluye los conocimientos actuales sobre la infección por el VPH, incorpora el uso de biomarcadores y facilitala comunicación entre profesionales (45). El motivo de esta nueva clasificación se encuentra en la gran similitud de todas las lesiones del tracto anogenital inferior en ambos sexos. Esta terminología se ha incluido en la última clasificaciónde la OMS para las neoplasias del tractogenital femenino publicada en 2014(46).

La terminología LAST clasifica las lesiones escamosasintraepiteliales (SIL) asociadasal VPH en dos grados, lesiones de “bajogrado”(L-SIL) y lesiones de “alto grado” (H-SIL). La terminología es la misma que la aportada por el Sistema Bethesda, que se describirá posteriormente. La determinación inmunohistoquímica de p16 se ha incluido para categorizar las lesiones equívocas y determinar de una forma cuantitativa la inclusión de las lesiones en alto o bajo grado, excluyendo las lesiones histológicas CIN2. De esta forma las lesiones con una fuerte expresión de p16 se considerarán de alto grado.

1.2 Historia del virus del papiloma humano (VPH)

Junto a la evolución del uso de la citología como método diagnóstico y de cribado, se establecía la asociación entre las lesiones cervicales y un agente vírico.

El primer modelo que se describió para analizar el desarrollo del cáncer cervical fue el aportado por Rous y Beard en 1934 (47), desarrollado durante la investigación sobre la frecuente progresión del papiloma del conejo hacia carcinoma escamocelular y por la que recibieron en 1966 el premio Nobel. A partir de ese momento aparecieron numerosas publicaciones en la literatura médica describiendo la transformación maligna de las

verrugas genitales y una persistente insistencia en el posible papel de la infección por el VPH en el cáncer cervical. Su protagonismo se incrementó cuando no se encontraron trazas de DNA del virus herpes simple tipo 2 (VHS2) en las biopsias de cáncer cervical, a pesar de que este fue el primer virus relacionado con cambios citopáticos en los extendidos cervicales(48).

La primera descripción de cambios citopáticos asociados a infección por VPH ("atipia coilocítica") fuerealizada por Ayre(49) en 1949. En sus ilustraciones se pueden identificar células que hoy podríamos identificar claramente como diagnósticas de infección por VPH. En este artículo también se ilustran los cambios histológicos correspondientes y fácilmente reconocibles como condilomas planos de cérvix. Cuando en 1951 publica su libro "*CancerCytology of theuterus*" (29) vuelve a describir el complejo celular precanceroso que denomina "nearocarcinoma"[1]. De nuevo las ilustraciones incluidas demuestran células y secciones tisulares de condilomas planos de cérvix. Ayre consideró estos cambios morfológicos como lesiones precursoras del carcinoma escamocelularpreinvasivo y ya mencionó que el cáncer invasivo se desarrollaría en un pequeño número de estas pacientes. Posteriormente, en 1960describe detalladamente los coilocitos y su posible relación con una infección vírica. Esta es la primera mención sobre esta posible asociación (50).

En 1976, Meisels y Fortin publicaron su histórico artículo "*Condylomatouslesions of thecervix and vagina. I. Cytologicpatterns*" (51)que contiene ilustraciones a todo color que no sólo incluyen los halos ya descritos en las células infectadas por VPH, si no que además, incorporan nuevos rasgos citoplasmáticos y nucleares relevantes, asociando estos cambios coilocíticos a lesiones condilomatosasde cérvix y vagina. Estas observaciones, con sus correlaciones histológicas, probablemente supongan el principal hito de la citopatología ginecológica desde que se introdujo la citología como herramienta diagnóstica ya que propició un amplio campo de investigación en la morfogénesis y causas del carcinoma escamocelular cervical. La historia completa de los cambios inducidos por el VPH en los extendidos cervicales fue narrada por Meisels(52) en un artículo presentado por primera vez en el "*AnnualScientific Meeting of the American Society of Cytology*" en 1982 con el título "*Thestory of a cell. The George N. Papanicolaou Award lectura*".

Poco después, en 1977, Purola y Savia(53) llegaron a las mismas conclusiones que las descritas por Meisels, que en el mismo año publicó un segundo artículo sobre lesiones

[1]Nearo: derivado del griego y significado de estadio precoz.

condilomatosas del cérvix en el que se describe por primera vez los condilomas cervicales de tipo “plano” e “invertido”(54).

Por fin en 1978, Della Torre(55) en Italia y Laverty(56) en Australia, demostraron por primera vez la presencia de viriones de VPH en los cuerpos densos de los coilocitos, pero no se pudieron realizar investigaciones más profundas por la incapacidad de propagar el VPH en cultivos celulares o en modelos animales simples. A finales de los años 70 las nuevas tecnologías de recombinación de DNA y clonación molecular proporcionaron nuevas herramientas para conocer la biología del VPH y confirmar el papel del papilomavirus en la etiología del cáncer cervical.

En 1983, zurHausen aisló, por primera vez, el genotipo 16 del virus del papiloma humanoen una biopsia de cáncer cervical y clonó su genoma. Usando la secuencia del VPH16 y la técnica de Southernblotting, zurHausen detectó este genotipo en la mitad de las biopsias de cáncer cervical(57) y pudo demostrar la transcripción selectiva de lasoncoproteínas E6 y E7 en las líneas celulares derivadas de cáncer cervical (58). Los hallazgos de zurHausen demostraron indirectamente la hetrogeneidad de la familia de los Papilomavirus humanos. Este hecho llevó a la clasificación de los VPH genitales endos grupos: de bajo riesgo y de alto riesgo oncogénico, dependiendo de su habilidad para inducir cáncer(5), (6). En 2008 el Dr. zurHausen recibió el premio Nobel de medicina.

Actualmente se acepta de forma universal la presencia del VPH de alto riesgo como un **factor necesario,pero no suficiente**, para el desarrollo del carcinoma cervical(3).

2.**El virus del papiloma humano**

2.1 Nomenclatura del VPH

En el año 1974, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV), incluyó a los papilomavirus junto con los poliomavirus, dentro de una misma familia, la familia Papovaviridae, debido a que ambos son virus con genomas de ADN circular de doble cadena y con cápsidesicosaédricas sin envoltura (59). El nombre de la familia derivaba de las dos primeras letras de cada genero, es decir, PApilomavirus y POliomavirus, mas dos letras del término "agente VAcuolante". Posteriormente, en el año 1999 se puso de manifiesto que los dos grupos de virus tenían genomas de distinto tamaño, organización genómica y secuencia diferentes por lo que el ICTV los reconoció como familias separadas: *Papillomaviridae* (PV)y *Polyomaviridae*(60).

La familia *Papillomaviridae*infecta tanto a humanos como a un gran número de especies animales. No obstante, se trata de una infección altamente específica de especie y no se han descrito especies de PVs provocando infecciones productivas en otras especies animales (61). Se han descrito más de 200 PVs, identificándose más de 130 tipos específicos de humanos(5), de los cuales al menos 30 son capaces de infectar la mucosa genital(5).Los virus mucosotrópicos que afectan a humanos, se pueden clasificar, dependiendo de su capacidad antigénica, en virus de alto y bajo riesgo (5), (6). Aunque la mayoría de ellos se han identificado en muestras de carcinoma de cérvix, otros se han aislado en carcinomas de orofaringe o anogenitales, e incluso en carcinomas cutáneos asociados a epidermodisplasiaverruciforme.

2.2 Estructura del VPH

Los papilomavirus son virus de ADN de doble cadena circular con cerca de 8000 pares de bases(62), (63). La organización del genoma vírico incluye ocho unidades reguladoras no codificantes (*ORF*, o también denominadas unidades largas de control, *LCR*) transcritas desde una única hebra de ADN. El genoma vírico se divide en 3 regiones: una región temprana constituida por seis genes (E1, E2, E4, E5, E6 y E7), una región tardíaconstituida por dos genes (L1 y L2) y una *LCR*(Figura 2). Los únicos elementos que comparten todos los miembros del género papilomavirus son una unidad reguladora no codificante, las proteínas tempranas E1 y E2 y las proteínas tardías L1 y L2. Los genes tardíos codifican

las proteínas de envoltura que permite al genoma empaquetarse en la cápside, se expresan al final del ciclo viral y sólo en células epiteliales superficiales (Figura 3).

Figura 2. Estructura del virus del papiloma humano (http://www.virology.wisc.edu/virusworld/images/hpv-HDblue-green.jpg).

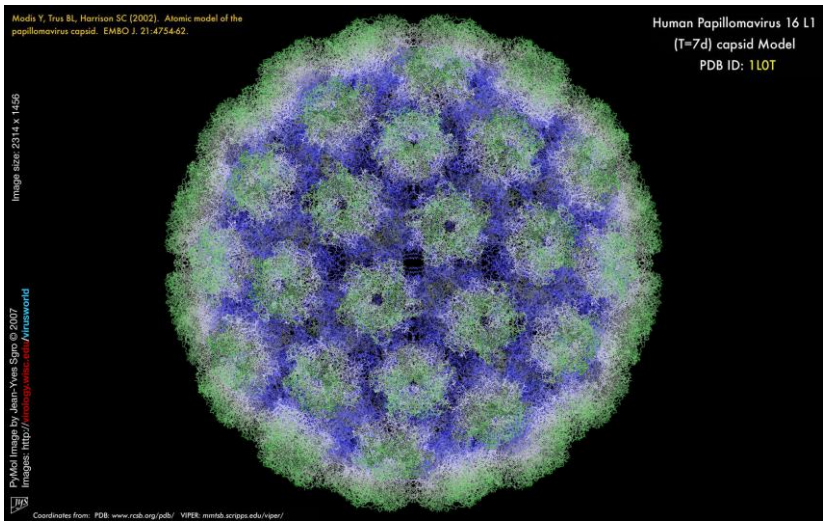
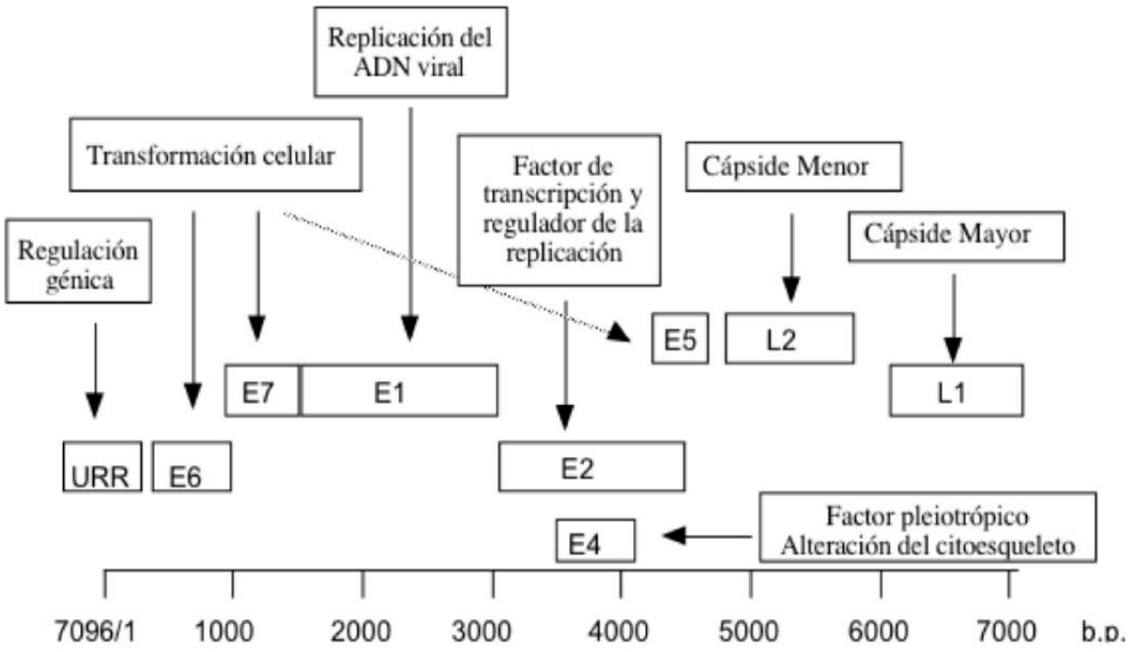


Figura 3. Esquema de la organización genómica y acción de las principales protínas del VPH(64).



Los genes tempranos codifican proteínas involucradas en la replicación y transcripción viral(E1, E2, E4 y E5), así como proteínas que interfieren en la regulación del ciclo celular normal (E6 y E7), inducen inestabilidad genómica y favorecen la transformación celular. En especial, la proteína E6 de los genotipos de alto riesgo, se une a p53, favoreciendo su degradación, mientras que E7 se une a pRB (gen supresor del retinoblastoma) inhibiendo

su función. Así mismo los genes E6 y E7 se asocian a las funciones de inmortalización y transformación tumoral.Estos genes son los primeros en expresarse durante el ciclo viral y sólo en el epitelio basal, parabasal e intermedio(65).E1 es una helicasa implicada en la replicación episomal. E2 es un factor transcripción que en los primeros estadios de la infección se expresa a bajos niveles y favorece la transcripción vírica, mientras que en las células ya infectadas se expresa en mayor cuantía y reprime la transcripción de los promotores tempranos, deteniendo la expresión de las proteínas tempranas (66), (67).

La región tardía codifica proteínas virales estructurales necesarias para la replicación viral. L1 es el componente principal de la cápside con capacidad de autoensamblado, mientras que L2 se une al ADN circular para empaquetarlo en la cápside.

La región larga de control contiene el promotor p97 que regula la replicación del ADN controlando la transcripción las unidades reguladoras no codificantes. Esta región es la más variable del genoma vírico.

Los genotipos de bajo riesgo afectan al ciclo celular de las capas epiteliales superiores, mientras que los de alto riesgo estimulan la proliferación de las capas basales. Los genotipos del VPH de alto y bajo riesgo tienen diferentes patrones de expresión génica viral y diferencias funcionales en las proteínas E6 y E7(6), (66).

La zona anatómica del cérvix uterino donde el VPH provoca las lesiones clínicamente más relevantes es en la zona de transformación, la zona donde el epitelio escamoso del ectocérvixcontacta con el epitelio glandular endocervical. Estainterfase es donde el epitelio columnar es reemplazado lentamente por epitelio escamoso por una metaplasia escamosa activa. Las células de la zona de transformación son especialmente susceptibles a la transformación neoplásica inducida por el VPH (66) y es la zona donde más frecuentemente se desarrollan los carcinomas escamosos (68).

2.3 Clasificación: tipos, subtipos y variantes

La actual clasificación del VPH se basa en la descripción detipos y subtipos en relación con el grado de homologíade su ADN. Para la clasificación se compara la secuencia de ADN de E6, E7 y L1con los distintos VPH. Una homologíainferior al 90% supone un nuevo tipo, mientrasque una superior al 90%, un subtipo del tipo anteriormentedescrito.

El número de tipos VPH identificados y caracterizadosse ha incrementado de forma considerable enlos últimos años. Hasta el momento se han identificadomás de 130 tipos diferentes de VPH. El aislamientoy caracterización de VPH todavía no conocidos está en

continua evolución. La identificación de nuevos VPH podríaser útil en el estudio de la etiología de una ampliavariedad de tumores humanos(5).La nueva metodología de clasificación ha llevado a la proliferación de virus que comprenden especies únicas y una taxonomía que tan solo proporciona datos descriptivos.

Tipos

Los nuevos tipos deben ser confirmados por el Centro de Referencia de Heidelberg, en Alemania, que designa el estatus oficial de tipo. De los 130 tipos identificados, alrededor de 60 infectan el tracto genital.

En función de la secuenciación del gen L1, la mayoría de genotipos de VPH se clasifican dentro del genero α-HPV y entre las especies α-1 a α-15 (5). Los tipos de VPH clasificados dentro de la misma especie suelen compartir potencial oncogénico y tropismo tisular. Gracias a la secuenciación de los genes E1, E2, E6, E7, L1 y L2 de los α-HPV conocidos se ha desarrollado un árbol filogenético donde se identifican 3 grupos heterogéneos de VPH con afinidad por el área genital(69), (70):

- Grupos de tipo de bajo riesgo 1 o tipos no oncogénicos (*LR1* o *NOT1*), donde se incluyen las especies α-1, α-8, α-10 y α-13, encontrados en verrugas genitales benianas y lesiones orales y laríngeas,
- Grupos de tipo de bajo riesgo 2 o tipos no oncogénicos 2 (*LR2* o *NOT2*), donde se incluyen las especies α-2, α-3, α-4 y α-15, encontrados en celularidad vaginal benigna,
- Grupos de tipo oncogénico de alto riesgo, donde se incluyen las especies α-5, α-6, α-7, α-9 y α-11,con capacidad de producir lesiones cervicales de alto grado y carcinoma de cérvix.

La clasificación del VPH en grupos basados en la región temprana proporciona un grupo biológicamente coherente asociado al cáncer. Esta clasificación nos permite saber qué dominios están asociados con la capacidad patogénicay sugiere que las bases genéticas del potencial oncogénico se encuentran en la región temprana del genoma vírico(71).

Se han identificado distintos tipos de VPH de todos los canceres cervicales, aunque la mayoría eran tipos no oncogénicos. Los tipos oncogénicos más frecuentemente encontrados a nivel mundial son el VPH16 y el VPH18.

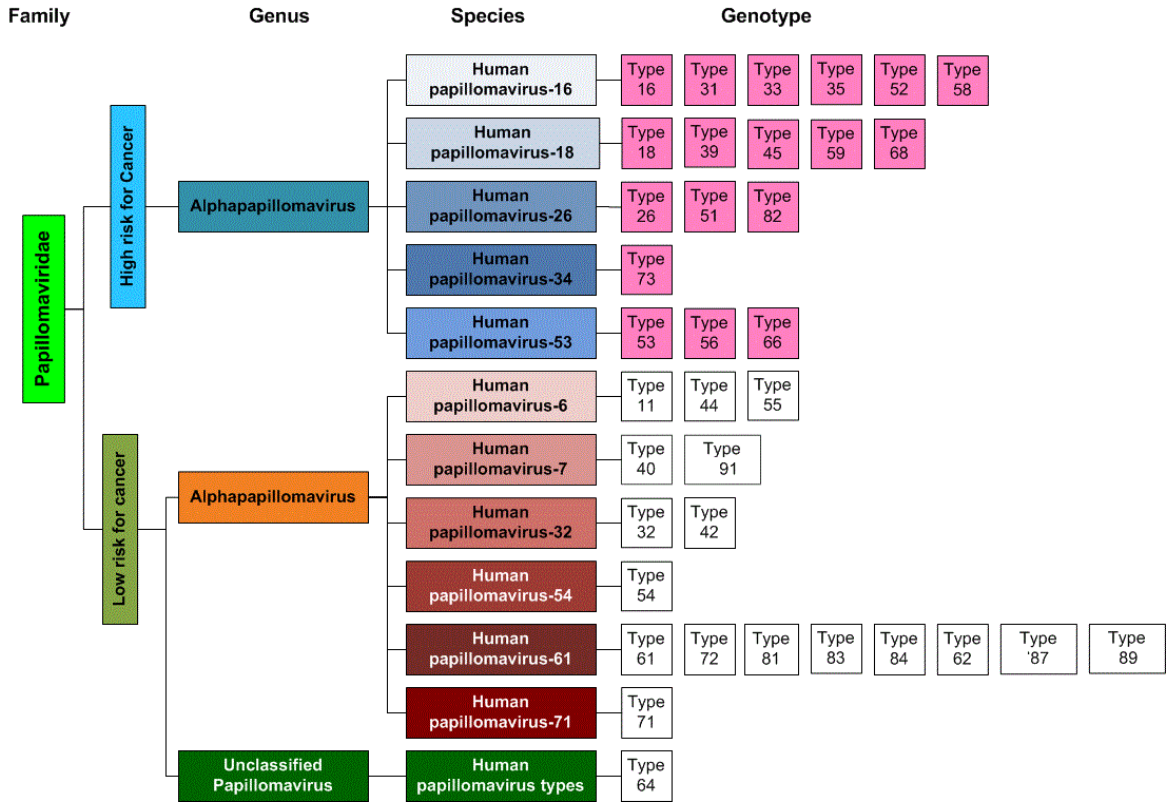
Subtipos

Cuando se identifica una divergencia de entre el 2% y el 10% en el ADN de dos virus, se les considera subtipos del mismo tipo de VPH. Los subtipos comparten entre el 90% y el 98% de su secuencia genética (5). Actualmente cinco tipos de α-HPV genitales tiene algún subtipo, incluidos los VPH34, VPH44, VPH54, VPH68 y VPH82. Dado que los subtipos no presentan grandes diferencias entre si, podrían representar la evolución de un tipo determinado.

Variantes

Las variantes se diferencian en menos de un 2% de la secuencia de la proteína L1 (5). Las variantes de un tipo específico se encuentran dentro de un grupo étnico o en algunas regiones. Generalmente la unidad reguladora no codificante es suficiente para clasificar las variantes.

Figura 4. Clasificación del VPH (Tomado de http://cvc.dfci.harvard.edu/hpv/HTML/classification/image002_24July2013.gif)



2.4 Trasmisión

Existen tipos de VPH con predilección exclusiva por epitelios escamosos o mucosas, siendo la mayoría de las infecciones asintomáticas y transitorias, desapareciendo entre 12 y 18 meses tras la infección. La trasmisión de los tipos epiteliales es por contacto directo entre superficies cutáneas, mientras que los tipos mucosos, especialmente los del área genital(68), (72), (73), se trasmiten por contacto sexual y constituyen la principal enfermedad de trasmisión sexual a nivel mundial.

Como consecuencia de la trasmisión horizontal de los tipos mucosos la prevalencia del VPH es tan alto entre mujeres jóvenes sexualmente activas y más frecuente en los primeros años del inicio de la actividad sexual (74), (72), asociado a un mayor número de infecciones múltiples (75), (76), (77), (78). El comportamiento sexual y la infección por VPH en el varón aumenta significativamente el riesgo de carcinoma cervicouterino, mientras que la circuncisión se asocia con una reducción significativa en el riesgo de cáncer cervical invasivo (68).

El uso del preservativo no garantiza la protección contra la infección, ya que el virus puede encontrarse en otras regiones de la zona anogenital no protegidas.

El número de parejas sexuales, tanto en hombres como en mujeres, a lo largo de la vida, parece ser un importante factor de riesgo en las infecciones cervicales por VPH (8), (79), (80), (81), (82). La edad de la primera relación sexual no parece ser una factor de riesgo independiente para la infección, sin embargo si parece predecir la presencia de lesión intraepitelialde grado 3 (CIN3) (83), (79), (84), (82).Manhart y cols.(85) identificaron que el 14,3% de las mujeres de entre 18 y 25 estarían infectadas si tenían una pareja sexual, que lo estaría el 22,3% si tuvieran dos y el 31,5% si tuvieran tres o más parejas sexuales.

La infección por VPH parece ser más frecuente y con mayor tendencia a persistir en mujeres coinfectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Este hecho parece asociarse a las alteraciones de la inmunidad celular, al aumento de la susceptibilidad a las infecciones y a la reactivación de infecciones latentes de VPH (86).

Otros factores asociados a la infección por VPH son los sociodemográficos como la edad, la región geográfica y el tener pareja estable (1), (8), (79), (82). Estos factores reflejan la naturaleza sexual de la trasmisión de la infección y se solapan unos con otros, sobre todo la edad. Un bajo nivel socioeconómico, medido mediante factores como los ingresos, educación, ocupación y condiciones de vida, también se ha asociado a un mayor riesgo de padecer carcinoma de cérvix. Este punto en concreto ha sido explicado por la mayor dificultad de acceso y cumplimiento de los distintos modelos de cribado cervical, así como

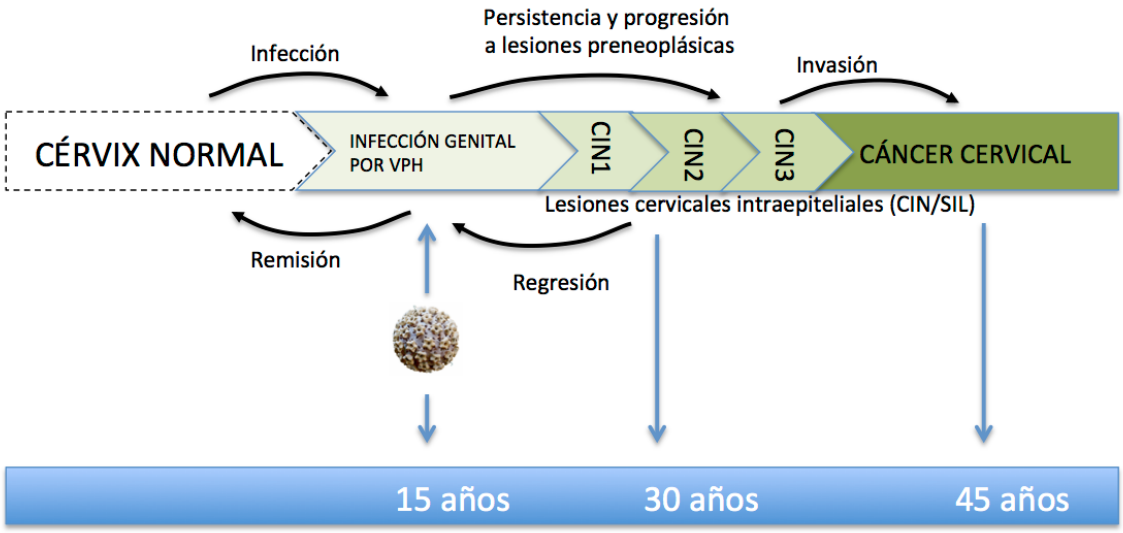
por los distintos modelos en la conducta sexual y su efecto en la infección por el virus (1), (8), (87), (88).

Una forma mucho menos frecuente y de menor repercusión global en términos de salud pública, es la trasmisión vertical, que sugiere la existencia de infección intrauterina por el paso transplacentario del virus o en forma ascendente secundaria a ruptura precoz de membranas. Se han encontrado verrugas anogenitales en los recién nacidos e incluso se ha detectado ADN del virus en restos mucosos de recién nacidos (68).
La trasmisión perinatal es aquella que se produce durante el parto cuando el recién nacido se pone en contacto con el canal del parto infectado por el virus, hecho que se ha demostrado de manera inequívoca para la papilomatosis respiratoria juvenil (89). La edad de la madre, el orden de nacimiento del niño y el tipo de parto se consideran importantes factores determinantes de la trasmisión, si bien se considera que la cesárea puede proteger contra la infección en el momento del parto (90).

2.5 Historia natural

Existen cuatro estadios en la interacción entre el VPH y su huésped: estado de latencia (seguido de aclaramiento o persistencia de la infección), periodo infectivo, progresión neoplásica y el desarrollo del carcinoma invasivo (91). El 70% de las nuevas infecciones desaparece en el primer años tras el contagio y el 90% lo hace en los dos años posteriores (74). La duración media de las nuevas infecciones es de ocho meses (74). El pico de edad de la infección se produce pocos años después del inicio de las relaciones sexuales, con un descenso de la prevalencia en las mujeres de mayor edad. Sin embargo, algunas infecciones persisten, y si ocurre asociado a tipos de alto riesgo, este es el principal factor asociado a las lesiones precursoras y carcinoma de cérvix(92).

Figura 5. Historia natural de la infección por VPH. (Modificado de Bladé et col. (93)).



El riesgo de persistencia y progresión depende del tipo de VPH. El VPH16 es un tipo más oncogénico que otros virus de alto riesgo, pero el tiempo que trascurre entre la infección y el desarrollo de lesiones precancerosas o de carcinoma invasivo, es igualmente de décadas.

Los virus pueden utilizar la maquinaria celular de las células basales para replicarse(72), (62),(94). Una vez en su núcleo, el genoma viral permanece como un episomaextracromosómico. Su principal actividad genética parece bloqueada, pero una expresión limitada de genes virales precoces aumenta la proliferación de las células infectadas. Por este motivo esta fase es denominada “latente” o “no productiva” de la infección, con una presencia muy baja de copias virales y favoreciendo así la no activación de la respuesta inmune. La fase productiva comienza cuando las células basales proliferativas migran a los estratos parabasal e intermedio, iniciando el programa de diferenciación y con él la transcripción de los distintos genes virales tempranos, regulados a través de la región LCR. Durante este periodo, el ADN replicará hasta cientos de copias por célula, gracias a las proteínas E6 y E7 que bloquearán la salida de las células del ciclo celular (proceso normal durante la diferenciación). En las capas superiores del epitelio (mucosas o epidermis) las partículas virales son ensambladas y liberadas junto con las escamas epiteliales (94), (72), (66), (73).

En la mayoría de los casos, tras la infección productiva tiene lugar la regresión y aclaramiento de la misma o bien el mantenimiento de los genomas virales como episomas en las capas basales. Sin embargo, en los casos de lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (L-SIL) el ciclo productivo tiene lugar sólo en cierta medida, de forma que la proliferación celular afecta a todo el tercio inferior del epitelio. En las lesiones

intraepiteliales escamosas de alto grado (H-SIL), estas células se encuentran hasta en las capas superiores, siendo detectables incluso en la superficie del epitelio. Se trata de lesiones que presentan infecciones abortivas, en las que la expresión de los genes virales no está adecuadamente regulada, de forma que no tienen lugar los eventos tardíos del ciclo celular(68). Los fenómenos moleculares que hacen que una lesión productiva progrese a neoplasia y finalmente a cáncer son desconocidos, pero parece que están relacionados con cambios en la expresión de los genes virales, en particular, con un aumento de la expresión de E6 y E7, que entre otras dianas tiene a la p53 y el gen del retinoblastoma, asociados a inestabilidad cromosómica y transformación maligna (95), (96). El desarrollo de cáncer cervical, requiere además una desregulación continua de estos oncogenes virales, que se verá facilitada por la integración del ADN del VPH en el cromosoma de la célula huésped.

Aunque la mayoría de las infecciones por el VPH son transitorias y se aclaran en pocos meses, la forma en que el virus elude el sistema inmune favorece su persistencia y progresión. Debido a la forma en que el virus se replica, es capaz de evitar la respuesta inflamatoria y el daño tisular, lo que retrasa el contacto entre los antígenos virales y las células presentadoras de antígeno del sistema inmune del huésped (96). La ausencia de respuesta inflamatoria parece que tiene lugar por múltiples motivos. En primer lugar, no existe respuesta inmune innata, dado que la infección por VPH no desencadena lisis celular. Al no existir secreción de citoquinasproinflamatorias, no se produce activación de células dendríticas, con lo que no se reclutarán células efectoras en el lugar de infección y/o su actividad será regulada negativamente (mediante regulación a la baja de la expresión de citosinas, tales como el interferón α)(97). El tiempo medio necesario para el aclaramiento vírico es de 8 meses (74), (98). Las infecciones por virus no oncogénicos se aclaran entre 4 y 9 meses y las infecciones por virus de alto riesgo persisten entre 12 y 18 meses (72). Más del 90% de las infecciones regresan espontáneamente en el plazo de 2 años (74), (68), (99), (100),(101), (102). En cuanto a lesiones epiteliales de cualquier grado, hasta el 90% de éstas regresan espontáneamente, entre mujeres de 13 a 22 años (100), mientras que en mujeres mayores de 34 años la frecuencia de regresión desciende al 40% (103). Boyes y cols. en 1982 notificaron regresiones espontáneas del 77% de lesiones preinvasivas (carcinomas *in situ*) entre mujeres menores de 40 años y del 61% en mujeres mayores de 40 (104).

El aclaramiento viral se produce como consecuencia de una respuesta humoral mediada por células que generalmente se acompaña, aunque no necesariamente, de seroconversión

y producción de anticuerpos contra la proteína de revestimiento L1 (72), (97). La tendencia a la regresión espontánea disminuye con la edad y con el grado de la neoplasia intraepeitalial existente. En una revisión de la literatura llevada a cabo por Mitchell y cols. en 1996 (105)se encontró un porcentaje estimado de progresión desde displasia severa y carcinoma *in situ* a carcinoma invasivo del 36%. También se ha informado que un 20% de mujeres con lesiones de alto grado (CIN3) sin tratar desarrollaron un carcinoma cervical o de vagina en el transcurso de 10 años y hasta el 31% en 30 años (106).El fracaso del aclaramiento o del control de la infección determinala persistencia de la infección, loque aumenta la probabilidad de la evolución hacia lesiones de alto grado y carcinoma invasivo, cuando los virus implicados son de alto riesgo oncogénico(66), (72), (74).

Se considera que una infección por VPH se ha eliminado o aclarado cuando la expresión genómica del virus es suprimida por la respuesta inmune celular de los linfocitos T. Sin embargo se ha podido demostrar la persistencia del virus en las células basales epiteliales incluso cuando el virus no era detectado mediante hibridación *in situ*, lo que sugiere que el virus puede permanecer como una infección latente tras la regresión inmune. La reactivación se previene por la vigilancia inmune del huésped, pero puede producirse tras un cambio de sus situación inmune (66), (98), (107), (108).

La persistencia de la infección se define como la positividad del VPH en dos o más controles, lo que se asocia a un mayor riesgo de progresión, sobre todo de las lesiones CIN2 y CIN3. De hecho, la persistencia de la infección por VPH16 se asocia con un riesgo acumulado de hasta el 30% de sufrir un CIN3 tras el diagnóstico de un CIN2 o CIN3 (73).

Es probable que el VPH16 persista más tiempo que otros virus de alto riesgo lo que favorezca la progresión neoplásica (99), (109). Incluso, como ya se ha comentado, variantes del propio VPH16 pueden tener riesgo de persistencia y de malignización diferentes (110). La coinfección con genotipos diferentes de VPH se ha asociado a una menor tasa de desaparición de la infección (74), (100). Las nuevas infecciones con genotipos de alto riesgo se han asociado con un bajo riesgo absoluto de persistencia de la infección. Algunos autores han asociado el riesgo de persistencia de la infección con el aumento de la edad de las mujeres (74), (102), aunque otros no lo hayan confirmado (98), (111), (112). Sin embargo, la persistencia no es suficiente para la transformación maligna de la lesión, ya que hay genotipos como el 61 que persisten en el tiempo sin

riesgocarcinogénico(73).

2.6 Factores de riesgo y cofactores de progresión

Aunque la infección por genotipos de alto riesgo es el principal factor de riesgo para desarrollar, tanto un adenocarcinoma como un carcinoma escamoso de cérvix, se conocen mucho mejor los estadios de transformación desde las primeras lesiones hasta el carcinoma escamocelular(72), (113). El desarrollo del cáncer cervical es un proceso de pasos sucesivos que lleva a un ultimo estadio de lesión invasiva que ya no es reversible. Se trata de un proceso lento que necesita entre 7 y 12 años desde la primera exposición para desarrollarse(114).

También es importante establecer las implicaciones de las infecciones múltiples con el progreso de la enfermedad y el riesgo de malignización. En las distintas publicaciones se observa una variabilidad de resultados, principalmente dependiente de las metodologías empleadas en la determinación del virus, así como de las variaciones poblacionales. En los estudios de Mazarico y cols.(115)encontraron una prevalencia de coinfecciones mayor entre mujeres infectadas con genotipos de alto riesgo, como ya se había descrito(116), (117). Así mismo, son numerosos los autores que reflejan una mayor frecuencia de coinfecciones entre mujeres jóvenes y un progresivo descenso con el aumento de la edad(115), (118), (119). También se ha indicado la posibilidad de que los genotipos de alto riesgo persistan durante el aumento de grado de la lesión, mientras que lo de bajo riesgo desaparecen (115), (119). Finalmente existe la controversia de si las infecciones múltiples son predictivas de severidad y transformación maligna de las lesiones. Algunos autores han encontrado datos para poder sustentar esta afirmación (118), (117), sin embargo, otros, sencillamente no lo han podido confirmar(115), (120).

La persistencia de genotipos de alto riesgo es necesario para que se desarrolle el cáncer cervical (3), (121), pero como sólo una fracción de estas infecciones progresan, deben existir otros factores, virales, del propio huésped o ambientales que contribuyan a la persistencia y progresión de la infección. Sin embargo estudiar el papel individual de cada uno de ellos es difícil puesto que se correlacionan con el comportamiento sexual de las distintas poblaciones de estudio(73).

El cofactor más ampliamente estudiado ha sido el tabaco que aumenta el riesgo de malignización en dos veces. El tabaco, a diferencia de otros cofactores, parece contribuir en aumentar el riesgo para el carcinoma escamoso, pero no para el adenocarcinoma (73), (122), (123), (70). El tabaco parece contribuir de forma directa sobre la historia natural del cáncer cervical a través de compuestos del humo y de alteraciones del sistema inmune. En 2012, Jensen y cols.(124)realizaron un estudio prospectivo sobre mujeres fumadoras, con infección por genotipos de alto riesgo, por un periodo de 13 años. Estos autores encontraron que el riesgo de padecer una lesión intraepitelial de alto grado (CIN3) se asociaba con el tiempo como fumadora (mayor o igual a 10 años) y la cantidad de cigarrillos (mayor o igual a 20 al día). El número anual de citologías no explicó las diferencias en el riesgo por el consumo de tabaco.

Otros factores de riesgo bien establecidos son el número de embarazos (73), (123), la inmunosupresión en mujeres trasplantadas y la infección por VIH (68), (86). El uso prolongado de anticonceptivos orales también se ha relacionado con el aumento del riesgo de carcinoma cervical y sus precursores (73), (80), aunque no ha sido corroborado en todos los estudios (83). Incluso en otros se ha comprobado que el uso de anticonceptivos en mujeres infectadas por genotipos de alto riesgo, disminuía el riesgo de aparición de lesiones de alto grado (CIN3) (125). El uso de dispositivos intrauterinos (DIU) no se ha asociado al desarrollo de lesiones preinvasivas o de cáncer e incluso se ha asociado a una reducción del riesgo de desarrollar adenocarcinoma cervical (123), (125).

Existen otras enfermedades de trasmisión sexual, así como respuestas inflamatorias asociadas a varios agentes infecciosos, que también se han asociado al aumento en el riesgo de transformación maligna (73). El agente más insistentemente relacionado (70), (73), aunque no por todos los autores (123) es la Clamydiatrachomatis.

Las mujeres con carcinoma cervical han demostrado una respuesta inmune reducida e incluso inexistente, lo que sugiere que la persistencia de la infección por VPH puede estar asociada con el fallo de la respuesta inmune o a una incapacidad de reconocer los antígenos virales (66). La variabilidad genética del huésped, especialmente los genes que controlan la respuesta inmune, como los de tipo HLA (*human leukocyteantigen*) son determinantes fundamentales para la persistencia y progresión de la enfermedad (97).

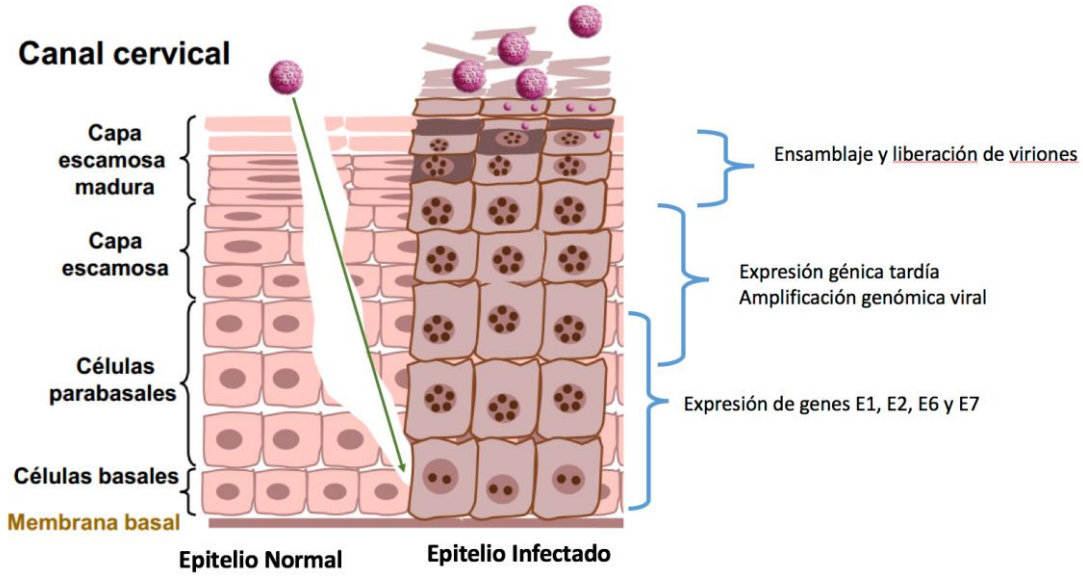
2.7 Patogénesis

La infección por el VPH es un factor necesario, pero no suficiente para desarrollar cáncer cervical(3). La implicación del virus en su desarrollo ha quedado bien demostrado, al haber encontrado trazas genómicas en la mayoría de estos tumores.

Ciclo vital del VPH

La replicación del virus comienza cuando el virus entra en contacto con las células basales del epitelio escamoso estratificado del cérvix. La mayoría de los virus infectan una célula diana y producen una línea vírica en esa misma célula. En las infecciones por VPH, la síntesis de nuevos viriones tan sólo ocurre tras la fase de mitosis de la célula anfitriona y cuando una de las células hijas se ha diferenciado. El ciclo vital del VPH está ligado al programa de diferenciación de las células huésped, los queratinocitos, con la producción de viriones maduros limitados a las células suprabasales diferenciadas (Figura 4. 5).

Figura 4.5.Ciclo vital del VPH (Modificado de Frazer y cols.(126))



Para que el VPH alcance la capa basal del epitelio, esta debe quedar expuesta por heridas o microtraumas. En ese momento el heparán sulfato actúa como mediador inicial para la unión entre el virus y la célula basal (63). Como receptor epitelial del VPH6 se ha propuesto a la integrina alfa-6, que no usan otrosgenotipos(66), (127), mientras que el VPH16, VPH33, así como otros genotipos usan el heparán sulfato como medio de anclaje

a las células epiteliales (66). También pueden estar involucrado en el anclaje del virus a las células basales otros receptores secundarios o proteoglicanos estabilizantes. Tras la infección, el genoma vírico se convierte en un elemento extracromosómico o episoma. Ya en el interior de la célula huésped, el ADN vírico se replica, lo que lleva a la expresión de genes víricos hasta la producción de 20 a 100 copias extracromosómicas del ADN viral por célula. En las capas basales la replicación viral no es productiva, lo que hace el virus es usar los recursos genómicos de la célula huésped para sintetizar su propio ADN (66). En los queratinocitos de las capas suprabasales del epitelio cervical, el virus amplifica su ADN a un mayor número de copias, sintetiza las proteínas de la cápside y se produce el ensamblado vírico (66). Los genomas del VPH son pequeños y no codifican polimerasas u otras encimas necesarias para su replicación. Sin embargo su patrón de expresión génica es muy compleja y depende de un epitelio completamente diferenciado. En las infecciones por el VPH, las células suprabasales mantienen su ciclo activo y un grupo de estas células vuelven a entrar en la fase S en las capas superiores del epitelio para que el genoma del VPH se replique. Este proceso es lo que se llama amplificación(71).

Interacción entre el VPH y la célula huésped

La capacidad de proliferación de estas células infectadas por el VPH es separada de la diferenciación celular y controlado por algunos factores celulares. El más importante es miembro de la familia del retinoblastoma (Rb) como p105, p107 y p130.

El fallo del sistema inmune para eliminar las infecciones persistentes por VPH puede llevar al desarrollo de cáncer de cuello uterino tras años o décadas. En las lesiones precancerosas, la mayoría de los genomas de VPH persisten en un estadio episomal mientras que, en muchas lesiones de alto grado, los genomas se encuentran integrados en el cromosoma del huésped. En la mayoría de los cánceres relacionados con el VPH existe integración de su genoma, lo que sugiere que este mecanismo podría jugar un papel muy importante en la progresión maligna.

Debido al hecho de que los VPH solo codifican de 8 a 10proteínas, estos virus deben utilizar varios factores de la célula huésped para regular su transcripción y replicación. La actividad de transformación primaria de los VPH de alto riesgo es proporcionada por las oncoproteínas E6 y E7. La replicación viral comienza cuando los factores de la célula huésped interactúan con la región LCR del genoma del VPH y comienza la transcripción de los genes virales E6 y E7, las dos proteínas más importantes en la patogénesis de la

enfermedad maligna. Un fenotipo maligno siempre requiere la expresión de ambas proteínas. Ambas proteínas actúan cooperativamente para transformar las células y desarrollarcáncer, ya que uno de los factores complementa al otro, aunque E7 es capaz de transformar una célula sin la presencia de E6. Los productos de los genes E6 y E7 cambian el ciclo de crecimiento celular mediante la unión y la inactivación de proteínas de supresión tumoral, ciclinas celulares y quinasas dependientes de ciclina(66). Las proteínas E6 y E7 de los tipos de VPH de alto riesgo actúan como oncoproteínasvirales. Sin embargo, en los tipos de VPH de bajo riesgo estas proteínas no tienen la misma función.

Las proteínas se encuentran localizadas tanto en el núcleo como en el citoplasma de la célula huésped. La expresión de la oncoproteína E7 de los tipos de alto riesgo puede inmortalizar los queratinocitos humanos de forma infrecuente, pero E6 no tiene tal actividad. Sin embargo, la combinación de E6 y E7 es altamente eficaz para conseguir la inmortalización celular, actuando en las vías de control del crecimiento celular. Como el crecimiento celular está regulado por p53 y pRB, es sobre estos genes donde actúan las proteínas E6 y E7. En las células normales, la p53 es un regulador negativo del crecimiento celular, el control de tránsito del ciclo celular de G0 / G1 a la fase S (mediante la regulación de la actividad de la familia E2F de factores de transcripción) y también funciona como una proteína supresora de tumores. La familia E2F consiste en al menos ocho miembros, algunos de los cuales actúan como activadores transcripcionales y otros funcionan como represores. E2F1 a E2F5 contienen dominios de unión para las proteínas de la familia del Rb, pero E2F6 a E2F8 carecen de estos dominios y regulan la expresión génica de forma independiente de los miembros de la familia de Rb. La p53 detiene el crecimiento celular después de un daño cromosómico y permite que las enzimas de reparación del ADN actúen. En el cáncer de cuello de útero, p53 no está mutado(66). La proteína E6 de los tipos de alto riesgo, se une a p53 como parte de un complejo trimérico con la ubiquitinaligasa celular, E6AP, lo que determinan la detención de G1, la apoptosis y que la reparación del ADN se suprima. Esteproceso deja a la célula sin control de sus errores genéticos, tiene un efecto antiapoptóico y permite la acumulación de mutaciones cromosómicas sin reparación del ADN. Este hecho podría ser la causa principal de la inestabilidad cromosómica en VPH de alto riesgo. La interacción de E6 con p53 también puede afectar a la regulación y a la degradación de la familia Src de no receptores de tirosina quinasa, lo que podría permitir jugar un papel en la estimulación de la actividad mitótica en las células infectadas. Al contrario que la proteína E6, la proteína E7

sintetizap53 de tipo salvaje que frena la apoptosis, pero provoca un efecto antiapoptóico en células con p53 mutado.

La proteína Rb inhibe el efecto de la regulación del crecimiento positivo y en respuesta al daño del ADN, produce el crecimiento celular o induce la apoptosis celular. Una de las funciones de Rb es conectar el factor de transcripción E2Fy hacerlo inactivo. E2F controla la síntesis de ADN y la función de la ciclina y promueve la fase S del ciclo celular. E7 interactúa con la proteína Rb a través de un complejo de proteínas E2F/Rb. Cuando E7 se une a la proteína Rb, E2F se libera y permite a la ciclina A promover el ciclo celular. El gen de HPV E7 se une a la familia de proteínas supresores tumorales del retinoblastoma, así como a otras proteínas implicadas en la regulación del ciclo celular(128). El producto del gen E7 de HPV se une a la forma hipofosforilada de la familia de pRB. Esta unión resulta en la liberación de E2F-1 y este factor permite la transcripción de genes necesarios para que la célula entre en fase S.Las proteína E7 inactiva a los inhibidores de quinasa dependientes de ciclina (CDK) p21 (CIP-1) y p27 (KIP-1), que pueden estimular el crecimiento de las células infectadas por el VPH.

p21 y p27 son importantes reguladores de la detención del crecimiento durante la diferenciación epitelial.p21 podría actuar como supresor tumoral en la carcinogénesis cervical. El objetivo principal de p21 y p27 en los queratinocitos humanos es facilitar el paso de la fase G1 a la S.

El resultado final es la proliferación celular y la estimulación de la síntesis del ADN celular. La presencia de E7 conduce a una retención característica de los núcleos a lo largo de todas las capas de epitelios infectados. No sólo son las oncoproteínas virales necesarias para la inmortalización celular y la retención de la capacidad del ciclo celular en la diferenciación, sino que E6 y E7 también han demostrado ser necesarios para el mantenimiento de las formas extracromosómicosdelVPH en las células basales no diferenciadas(66).

La interacción de E7 con Rb podría permitir a las células con ADN dañado evitar la inhibición de la fase G1 normalmente inducida por p53 de tipo salvaje. Estas interacciones permiten el crecimiento celular sin control en presencia de inestabilidad genómica, lo que puede conducir transformación maligna. La inhibición de la unión entre Rb y E7 detiene su capacidad transformadora.

Las funciones de las proteínas E4 y E5 aún no se entienden completamente; sin embargo, se piensa que ambos están implicados en la regulación de las actividades virales tardías(66).

El producto del gen E5 aumenta la actividad mutágena, la mejora de las respuestas celulares a factores de crecimiento y diferenciación, lo que resulta en la proliferación continua y la diferenciación retardada de la célula huésped.

El producto del gen E4 es el más altamente expresado de todas las proteínas de VPH. La proteína E4 de los tipos de alto riesgo pueden estar involucrados en la regulación de la expresión de genes debido a que interactúan con una helicasa de ARN (E4-DBD) que participan en el empalme de ARN, transporte y traducción genómica (66), así como en la maduración y liberación de partículas del virus del papiloma.

Los productos génicos E1 y E2 son los siguientes en sintetizarse. El producto del gen E2 es una proteína de ADN que bloquea la transcripción de los genes E6 y E7 y permite que el producto del gen E1 se una al origen de replicación viral dentro de la LCR. Este accesorio inicia la replicación del genoma viral como elementos extracromosómicos en la fase S del ciclo celular. En las lesiones que contienen VPH episomales, la proteína E2 viral reprime la expresión del gen temprano como parte del mecanismo para regular el número de copias. La integración de ADN viral generalmente altera la expresión de E2, que conduce a la expresión desregulada de los genes virales tempranos así como una mayor capacidad proliferativa (un paso crucial en la progresión a cáncer). La reintroducción de la proteína E2 en células cancerígenasque son positivas para el VPH pero que sólo contienen genomas integrados del virus, determina la senescencia celular.

La expresión de las proteínas de replicación viral E1 y E2 de episomas, podría iniciar la replicación del ADN a partir de partículas virales integradas, lo que resulta en su amplificación y la inducción de anomalías cromosómicas. La replicación de partículas integradas implican la activación de los sistemas de reparación y recombinación de ADN, que aumentan la probabilidad de adquirir mutaciones celulares, de aumentar la inestabilidad genómica y la progresión maligna.

De todas las regiones de lectura abierta de los papillomavirus, la más conservada de todas es la que codifica la proteína E1, que se expresabajos niveles en las células VPH-positivas. La función de las proteínas E1 es reconocer secuencias ricas en ATP durante la replicación del VPH.

La infección con los tipos de VPH de alto riesgo provoca alteraciones tanto con la función de las proteínas celulares como con la expresión de los productos de sus genes. Hay sobre regulación de 178 genes y baja regulación de 150 genes celulares, que se ha demostrado con estudios de chips de genes de células infectadas con VPH31 (129).

Inmortalización de las células infectadas

La inmortalización de las células infectadas puedeproducirse a través de la acción de los oncogenes E6 o E7, pero la interacción cooperativa entre ellos aumenta la eficiencia de la inmortalización. Sin embargo, ni los genes individuales ni su interacción cooperativa es suficiente para transformar las células normales en células malignas. Actualmente, hay dos hipótesis para explicar cómo se produce la progresión de la inmortalización de las células malignas. La primera hipótesis hace hincapié en que la alteración en el ADN de la célula huésped podría interactuar con las oncoproteínas virales para permitir la progresión desde la inmortalización de la célula hasta su transformación. Además, las células no modificadas, pero ya infectadas por el VPH de alto riesgo, pueden bloquear los mecanismos de inmortalización mediante el control intracelular de la función de la oncoproteína viral. La segunda hipótesis explica que una cascada de señalización separada, ya sea dentro o entre las células, bloquea la progresión de las células inmortalizadas hacia su malignización(71). La transcripción de oncogenes o la expresión de la oncoproteína viral puede ser regulada a través del receptor de ácido retinoico o por citoquinas, tales como el factor de crecimiento transformante β, el interferón α o el factor de necrosis tumoral α.

Estos datos sugieren que el control intercelular mediado por citoquinas juega un papel importante en la supresión de la transformación maligna, incluso en las células inmortalizadas. La progresión de las células malignas implica un cambio genético en las vías de control de señalización intracelular o intercelular. La inestabilidad cromosómica presente en la infección por VPH puede conducir a estas modificaciones genéticas.

Para llegar a ser inmortal, las células deben inducir la expresión de la telomerasa, una enzima activada a menudo en cánceres que es importante para la replicación de las secuencias de ADN en los extremos de los cromosomas llamados telómeros. La proteínas E6 de los tipos de alto riesgo activa la transcripción de la telomerasa transcriptasa reversa (TERT) que, junto con la inactivación de Rb por E7, es un paso esencial en la inmortalización. E6 activa a TERT y a la telomerasa a través de E6AP mediante la interacción con MYC y la modulación de la actividad de proteínas represoras,del factor de transcripción nuclear NFX1-91 y activadores (myc, MAX, SP1 y histona acetiltransferasas) que se unen al promotor de TERT. E6 se une también con NFX123 para aumentar los niveles de TERT través de varios mecanismos. E7 también puede promover el mantenimiento de los telómeros en ausencia de E6, a través de la vía alternativa ALT.

Aunque altos niveles de telomerasa se detectan en la mayoría de los cánceres cervicales, algunas lesiones cervicales tempranas carecen de expresión de TERT detectable. La activación de ALT por E7 podría ser importante en el mantenimiento de la longitud del telómero temprano en el desarrollo del cáncer para reducir la inestabilidad genómica y producir la progresión del tumor.

Se deben producir otros procesos oncogénicos adicionales, tales como la inestabilidad genómica para que se produzca la progresión maligna, debido al largo período de latencia entre la infección inicial y el desarrollo del cáncer. E6 y E7 inducen inestabilidad genómica en células normales. La mayoría de los tumores inducidos por VPH tienen distintas anomalías cromosómicas. La inestabilidad genética podría ser un evento temprano en los cánceres inducidos por VPH, pasando por la integración del virus en los cromosomas del huésped.

La expresión de E6 y E7 induce varias alteraciones mitóticas tales como puentes en anafase, aneuploidía y mitosis multipolar. Las mitosis multipolares son características de la mayoría de las lesiones inducidas por VPH de alto riesgo y también están asociadas con un número de centrosoma anormales,lo que puede conducir al desarrollo de aneuploidía. En las células que expresan E6, el número anómalo de centrosomas puede asociarse a atipia nuclear tras períodos prolongados. Por el contrario, las células que expresan E7 inducen rápidamente amplificacióncentrosómica, que se correlaciona con los errores de división celular y ocurre antes de la detección de la inestabilidad genómica. La duplicación del cromosoma aberrante es un evento temprano que podrían conducir a la inestabilidad cromosómica.

Además, E6 y E7 podrían eludir los puestos de control de la mitosis, lo que resulta en la acumulación de células poliploides que pueden conducir a aneuploidía. Además, la derogación de estos puestos de control podría ser importante para la replicación viral, pero puede conducir a la inestabilidad genómica en células VPH-inmortalizadas. Es probable que estos defectos mitóticos ocurran con poca frecuencia y no conduzcan a menudo a una progenie viable.

E6 y E7 también pueden inducir inestabilidad genómica produciendo daños en el ADN y la activación de la vía de ATM-ATR. Las oncoproteínas E6 y E7 inducen daño del ADN y aumentan la frecuencia de integración del ADN en el genoma del huésped. E7 activa la vía ATM en los queratinocitos indiferenciados y diferenciados. El núcleo contiene una histona especial (γ-H2AX) que reparan el ADN y es inducida por el VPH. ATM y ATR se pueden activar tras la replicación de copias integradas de genomas del VPH, lo que conduce a la

amplificación de secuencias de HPV integradas. La activación de la respuesta al daño del ADN en células que contienen tanto formas episomalescomo integradas del genoma viral, podría resultar en alteraciones cromosómicas y la inducción de inestabilidad genómica, importantes factores en la progresión hacia la malignidad. La activación de vías de daño en el ADN por varias proteínas del VPH es necesaria para la replicación viral productiva, pero esto también contribuye a la progresión maligna.

Proteínas del VPH también pueden ampliar la capacidad proliferativa de las células infectadas mediante el bloqueo de la apoptosis. La inducción de la proliferación aberrante o la síntesis de ADN en ausencia de señales de crecimiento podría conducir a una apoptosis dependiente de p53. El bloqueo de las funciones Rb por oncoproteínas E7 sensibiliza a las células a la apoptosis dependiente de p53 y este efecto es bloqueado por la detención E6.

3. Pruebas de cribado en el cáncer cervical

En 1968 Wilson y Jungner (130) describieron los criterios que debía cumplir cualquier programa de cribado:

a. La enfermedad debía constituir un importante problema de salud.

b. La historia natural de la enfermedad debía entenderse y debía existir un período temprano de la enfermedad o un período latente reconocible.

c. Debía existir una prueba diagnóstica fácilmente aceptable por la población.

d. Debe existir un claro consenso sobre a qué pacientes tratar y un tratamiento aceptado para la enfermedad.

e. El cribado es un proceso continuo y el diagnóstico y tratamiento durante el programa deber ser costo-efectivo.

La historia natural de la infección por VPH cumple todos estos criterios. Existe un largo periodo de infección antes de desarrollarse cambios citopáticos que conduzcan al carcinoma de cérvix, por lo que la lesión puede ser identificada de forma precoz. Habitualmente el pico de incidencia de lesiones de alto grado se alcanza hasta 15 años tras la infección (110). Incluso aquellas mujeres que son diagnosticadas de carcinoma invasivo en un cribado citológico, tienden a ser hasta 10 años mayores que las mujeres con lesiones de bajo grado (68).

El cribado cervical tiene la facultad de distinguir entre mujeres con un alto potencial de transformación maligna de sus lesiones, de las que presentan un riesgo mínimo de transformación. El cribado cuyo objetivo es identificar aquellas lesiones benignas causadas por el VPH no es costo-efectivo pues el riesgo de carcinoma invasivo es muy bajo. Sin embargo localizar a las mujeres con lesiones de alto grado se considera un cribado exitoso, ya que el riesgo de desarrollar un carcinoma invasivo es muy alto y puede ser tratada antes de que eso ocurra.

El objetivo último del cribado cervical es reducir la mortalidad por cáncer de cérvix, pero además, la detección y tratamiento de las lesiones precancerosas también disminuyen la incidencia de cáncer cervical. La eficacia del cribado citológico convencional nunca ha sido demostrada en ensayos clínicos randomizados, aún así, se ha estimado que más del 80% de los cánceres cervicales y de las muertes por cáncer cervical se pueden evitar con un cribado organizado y asociado a controles de calidad adecuados (95), (131). Por otro lado el cribado citológico se ha revelado más eficaz para prevenir el carcinoma escamoso invasivo que el adenocarcinoma de cérvix (132), (133).

Los principales beneficios de un cribado estandarizado son la curación de mujeres tratadas tras la detección precoz de lesiones precursoras, mejorando localidad de vida de las pacientes a las que se les evita tratamientos más agresivos y el beneficio de una respuesta rápida. Sin embargo pueden asociarse perjuicios potenciales en cualquier plan de cribado, como pueden ser el sobrediagnóstico y tratamientos innecesarios consiguientesoposibles diagnósticos falsos negativos.

El principal inconveniente de los programas de cribado es la dificultad de acceso por parte de algunos segmentos de la población, sobre todo en planes de cribado oportunista, donde pueden existir diferencias de asistencia de hasta el 50% de la población (134).

En la última década se ha introducido en los programas de cribado la detección molecular del virus lo que ha condicionado una marcada revisión de los programas de cribado en todo el mundo.

3.1. Citología cervical

El desarrollo histórico de este proceso ya se ha descrito, sin embargo es importante resaltar de nuevo, que el cambio del uso de la citología como medio diagnóstico de lesiones invasivas a medio de detección de lesiones precursoras fue un hito en la prevención del cáncer(32) y ha supuesto un descenso de hasta el 75% en la presencia de carcinoma de cérvix en aquellos países con protocolos de cribado supervisados por procesos de calidad específicos (36).

El estudio citológico del cérvix consiste en recoger células exfoliadas del cuello uterino y someterlas a tinciones especificas que permitan su análisis bajo el microscopio. El VPH provoca cambios morfológicos que pueden solaparse a los producidos por otros gérmenes o situaciones como la presencia de dispositivos intrauterinos o tratamientos hormonales. La habilidad del citotecnólogo y de los patólogos permitirá decidir sobre el riesgo de evolución maligna de las lesiones presentes en cada citología con una conducta de seguimiento o terapéutica determinada. Pero además, la precisión de la citología convencional va a depender de la edad y de la historia de cribados anteriores de la mujer, así como del diseño del modelo de cribado y la capacidad de acceso de las mujeres a los programas (135).

La sensibilidad de la citología convencional para identificar un CIN2 varía del 30% al 87% y la especificidad del 62% al 100% (95). Las estimaciones de la precisión acumulada obtenidas en estudios europeos y de EE.UU. fueron de una sensibilidad del 53% y de una

especificidad del 96,3%. Ambas aumentaban de forma paralela a la edad de las pacientes (136). En el estudio ATHENA se alcanzaron valores semejantes con una sensibilidad del 52% y una especificidad del 93% (137). Sin embargo se hanreseñado sensibilidades tan bajas como del 22,1% (138) en Chile o sensibilidades del 83% y especificidades del 94% en Finlandia (139).

La citología líquida, aplicada a la citología ginecológica se introdujo hace 25 años(140). Esta tecnología ha servido para mejorar la precisión de la citología ginecológica gracias a un método estandarizado, mejora de la calidad de las muestras, disminuir los casos inadecuados para diagnóstico y acorta el tiempo de lectura al microscopio, ofreciendo un ligero aumento de la sensibilidad y la especificidad en la detección de lesiones intraepiteliales de alto grado (141). El material citológico puede permanecer semanas en perfecto estado en el líquido conservante y ser usado para estudios moleculares y determinación del VPH o imunohistoquímicos para la detección de p16/ki67. Debido a la mayor limpieza de las muestras en monocapa se han podido desarrollar tecnologías de lectura automatizada con sistemas basados en análisis de imagen.

Sin embargo, aún con todaesta nueva tecnología a nuestra disposición, existe una amplia variabilidad en los resultados obtenidos durante el cribado citológico, dependientes de las regiones geográficas que se investiguen, países o comunidades, ya que los protocolos en incluso las clasificaciones adoptadas pueden llegar a ser muy diferentes. Las costumbres sexuales o los criterios de inclusión de las mujeres en los distintos estudios también pueden provocar grandes diferencias en los resultados. Es por este motivo que la mayoría de los estudios se centran en poner de manifiesto la presencia del virus del papiloma humano en lugar de hacer cuantificaciones de los resultado citológicos.

Un dato interesante a tener en cuenta son las causas que pueden llevar a la toma de muestras inadecuadas o insuficientes. En una amplia revisión llevada a cabo por Anttila y cols.(142) en 2004, se llegó a la conclusión de que las principales causas se encuentran en una baja cobertura dentro de la población diana, deficiencias en el registro, evaluación y seguimiento, pero también a un excesivo número de citologías por mujeres y en cortos periodos de tiempo. Todas estas deficiencias se han ido subsanado gracias a protocolos de cribado más racionales, como el propuesto actualmente en España (93).
La nomenclatura usada en el diagnóstico citológico de rutina es el aportado por el SB y

que se resume a continuación.

3.2. Nomenclatura de las lesiones cervicales (Sistema Bethesda)(12)

Calidad de la muestra

El Sistema Bethesda recomienda que el informe citológico debe empezar con una referencia a la calidad de la muestra. Ésta puede ser:

a) satisfactoria para su evaluación,

b) no satisfactoria para su evaluación.

La muestra satisfactoria para su evaluación debe incluir un mínimo de células escamosas para su evaluación, con preservación adecuada, para su correcta visualización. Por otro lado, una muestra citológica óptima debería incluir representación de la zona de transformación endocervical, aunque su ausencia no convierta la muestra en "no satisfactoria", es un indicador de calidad importante.

En el caso de que una muestra sea insatisfactoria, es preciso indicar si el laboratorio procesó o evaluó el preparado. Se considerauna muestra citológica como no satisfactoria y debe ser rechazada, sino se remite correctamente identificada o su calidad la descarta completamente para su correcta evaluación. Las muestras en las que más de un 75% de las células escamosas no son claramente visibles para efectuar una evaluación adecuada deben ser calificadas de insatisfactorias, siempre que no se identifique células anómalas. La presencia de un componente inflamatorio o hemático superior al 75% de la preparación también limita la valoración de la muestra y debería constar en el informe citológico. Cuando del 50 al 70% de las células están en estas condiciones, es preciso aclarar que en la muestra la celularidad está parcialmente cubierta después de calificarla de satisfactoria.

Negativo para lesión intraepitelial y malignidad (NLIM)

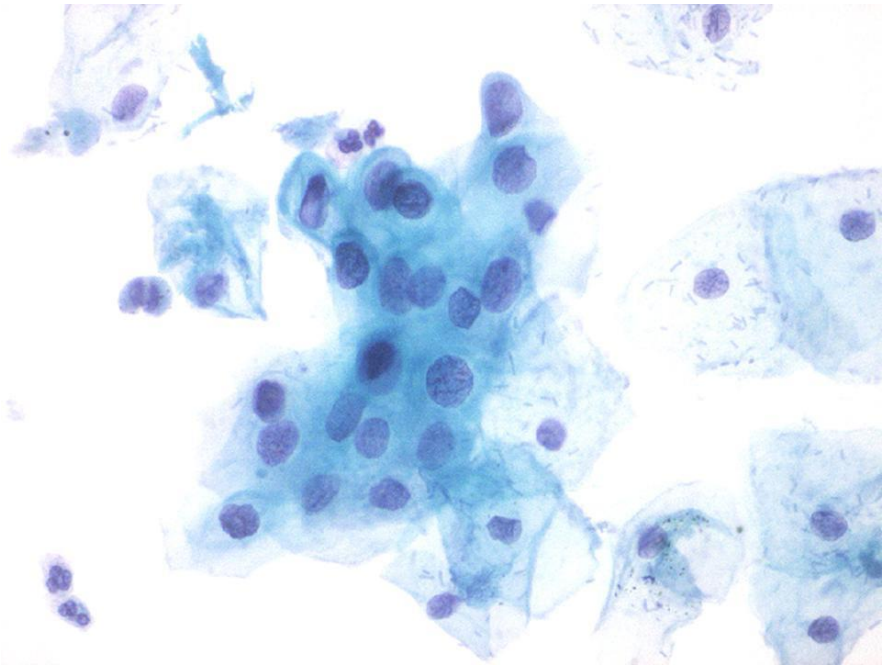
Se utiliza esta categoría cuando no hay evidencia de neoplasia, con independencia de si se observan o no microorganismos u otros hallazgos no neoplásicos. En el Sistema Bethesda 2001(43)se fusionaron las categorías "cambios celulares benignos" y "dentro de los límites normales" en esta nueva categoría.

Atipia escamosa de significado indeterminado (ASC-US)

ASC-US son las siglas de *atypicalsquamouscells of undeterminedsignificance*, o células escamosas atípicas de significado incierto. La catalogación de un proceso como ASC-US se realiza por exclusión y se refiere a cambios más acusados que los atribuibles a un proceso reactivo, pero no son cuantitativa o cualitativamente suficientes para clasificarlos con seguridad como lesión intraepitelial (SIL).

En la reversión de 2001(43) del Sistema Bethesda se definió el ASC-US como "alteraciones citológicas sugestivas de una lesión intraepitelial", pero insuficientes para una interpretación definitiva. Como guía de frecuencia, se recomienda que el número de ASC-US en un laboratorio determinado no debería exceder en 2-3 veces la tasa de SIL diagnosticados (Figura 6).

Figura 6. Atipia escamosa de significado indeterminado (ASC-US)



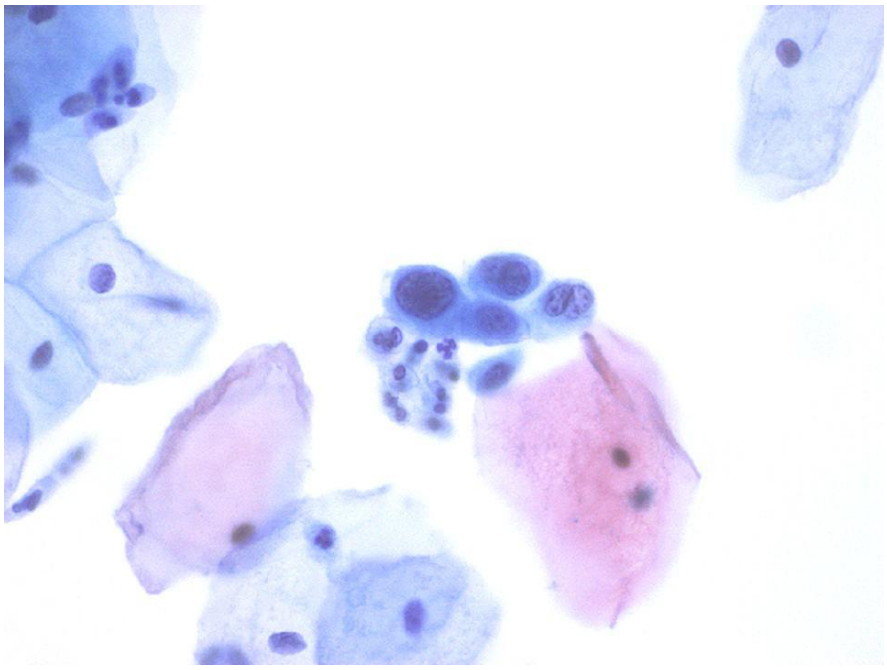
Atipia de células escamosas, no puede excluirse H-SIL (ASC-H)

Esta denominación se refiere a los casos en que las alteraciones celulares son en células de tamaño similar a las células metaplásicas y que son sugestivas, pero no concluyentes, de una lesión intraepitelial de alto grado.

La Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical (ASCCP), desde la revisión

del año 2001 del Sistema Bethesda(43), recomiendan, para las pacientes con ASC-US, un seguimiento distinto al recomendado para las mujeres con diagnóstico de ASC-H. Se recomienda efectuar la prueba del ADN del VPH oncogénico (de alto riesgo) en los casos de ASC-US cuando puede efectuarse junto con la citología, pero también es aceptable volver a realizar el examen citológico y una colposcopia inmediata. Por el contrario, para los casos de ASC-H se recomienda efectuar una colposcopia. Respecto de las pacientes que presentan ASC-H tras una colposcopia que no confirma un diagnóstico histológico de CIN II ni una lesión de mayor grado, el tratamiento debe de ser realizado sobre la base de todos los hallazgos anatomopatológicos y clínicos (Figura 7).

Figura 7. Atipia de células escamosas, no puede excluirse H-SIL (ASC-H)

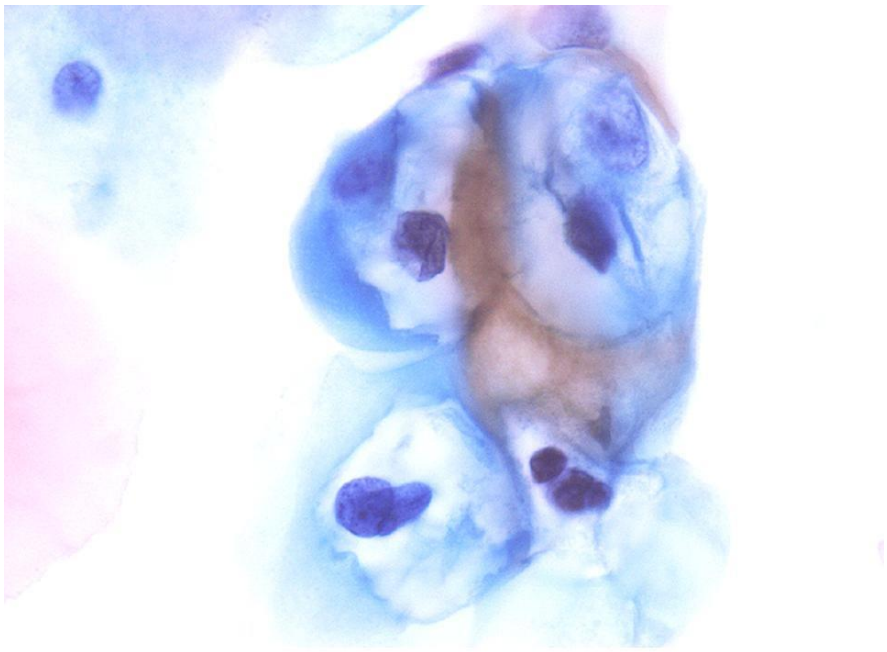


Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (L-SIL)

Los cambios de células escamosas asociados a la infección por VPH abarcan la displasia leve y el CIN I. Puesto que estas lesiones comparten tipos similares de VPH, y su comportamiento biológico y su tratamiento clínico son similares, está justificado emplear un solo término para describirlas. Las pautas elaboradas en el ASCCP recomiendan efectuar una colposcopia como primera medida en los casos de L-SIL. Las pruebas para la detección de VPH probablemente sean de utilidad para detectar la persistencia de la

infección viral de alto riesgo en las pacientes que tienen SIL (Figura 8).

Figura 8. Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (L-SIL)



Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (H-SIL)

La mayoría de pacientes que tienen un resultado citológico de H-SIL tienen lesiones de CIN II o III confirmadas mediante biopsia dirigida por imagen observada en el momento de la colposcopia. Las pautas elaboradas por consenso en la ASCCP 2001 recomendaron que, si no se identifica ninguna imagen de CIN mediante biopsia en una paciente con una interpretación citológica de H-SIL, es preciso, tras la revisión del material citológico e histológico, efectuar un procedimiento diagnóstico por escisión (Figura 9).

Carcinoma escamoso

Se define como un tumor maligno invasor con diferenciación escamosa. El Sistema Bethesda no subdivide el carcinoma de células escamosa en queratinizantes y no queratinizantes. Aunque existen criterios citológicos para su identificación, a menudo estas entidades no son distinguibles con facilidad, ya que pueden coexistir en un mismo extendido citológico (Figura 10).

Figura 9. Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (H-SIL)

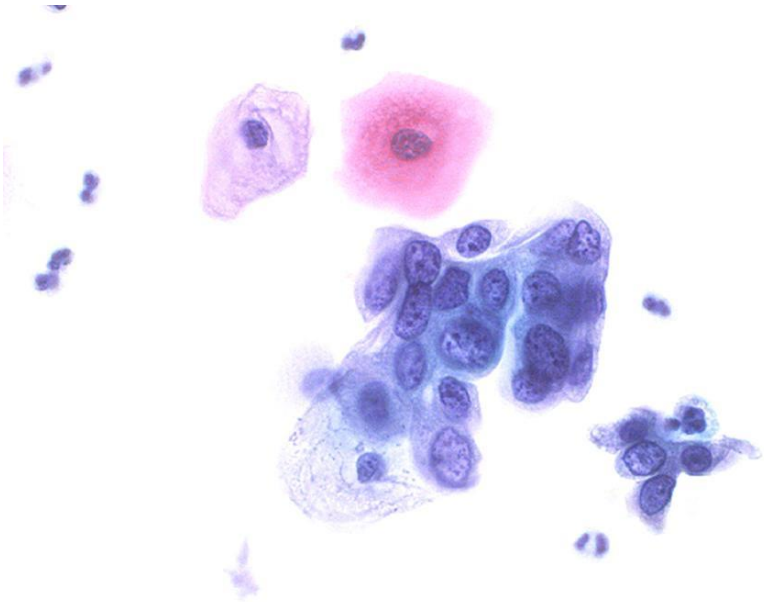
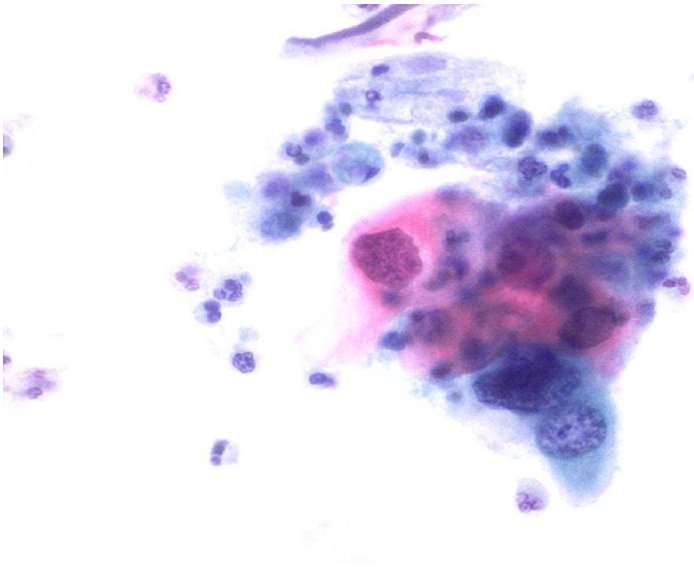


Figura 10. Carcinoma escamoso

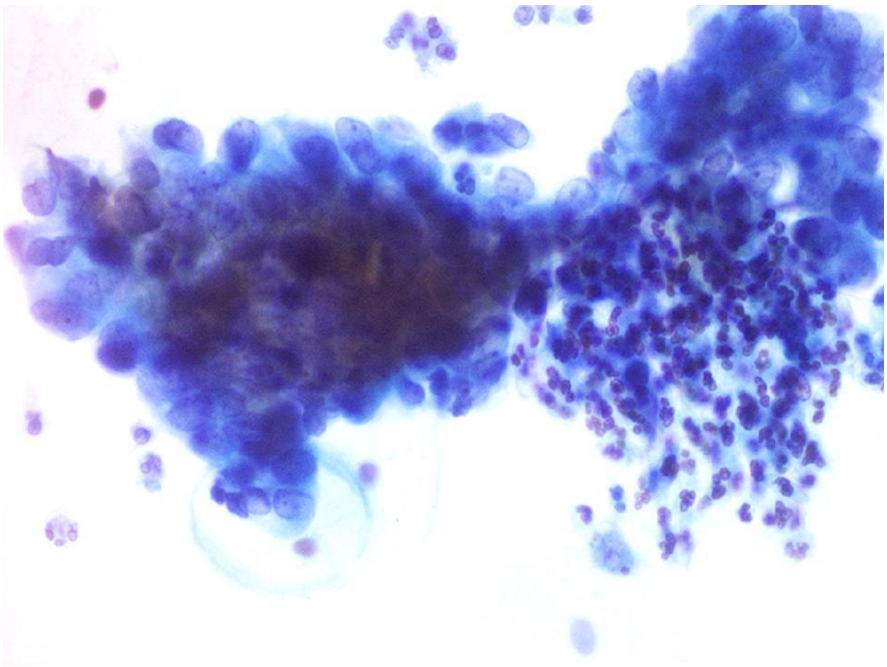


Atipias de células glandulares (ACG)

El estudio citológico cervical es principalmente un estudio de cribado en busca de lesiones escamosas intraepiteliales. Su sensibilidad para detectar lesiones glandulares está limitada por problemas relacionados con la obtención de la muestra y su interpretación. Los hallazgos glandulares atípicos deben clasificarse, siempre que sea posible, según la estirpe celular de origen, endocervical o endometrial. El seguimiento de las muestras citológicas

interpretadas como “atipias glandulares” demuestra que se identifican lesiones de alto grado en un 10 a un 40% de los casos, y que éstas son escamosas (CIN II o III) con más frecuencia que glandulares (Figura 11).

Figura 11.Atipias de células glandulares



En definitiva, el objetivo del Sistema Bethesda es promover una comunicación más eficaz de los resultados de la citología cervical desde el laboratorio a los clínicos. La revisión de la terminología de 2001 se desarrolló a través de un proceso diseñado para incorporar los nuevos datos científicos y fomentar la participación de una amplia gama de personas que participan en la detección del cáncer de cuello uterino. A raíz de esta unificación terminológica se espera una mejor gestión de la patología cervical con mejores protocolos de detección y seguimiento, revisada de nuevo en el año 2015 (12).

3.3. Control de calidad

Como ya se comentó, en 1988 se introdujo el documento regulador gubernamental conocido como CLIA 88 (“ClinicalLaboratoryImprovementAct”)(20), que imponían una serie de normativas para asegurar la alta calidad de las pruebas citológicas, a la que se fueron uniendo otros organismos de acreditación para la garantía de calidad en citología ginecológica. Entre otros parámetros, los utilizados habitualmente son los siguientes:

Porcentaje de células escamosas atípicas (ASC)

El porcentaje de células escamosas atípicas se calcula sumandolas lesiones atípicas de significado incierto (ASC-US) y aquellas en las que no es posibledescartar una lesión de alto grado (ASC-H), dividido por el número total de citologías del mismo período. Aproximadamente el 90% de las citologías de un laboratorio corresponden a ASC-US y el 10% a ASC-H (143). Las referencias específicas para cada lesión epitelial encontrada en las citologías ginecológicas se detalla en el "*Cytopathologychecklist*" de la Comisión de Acreditación de Laboratorios del Colegio Americano de Patólogos(144). En este documento se indican los valores de cada una de las lesiones de acuerdo con el tipo específico de preparación citológica usada. Así mismo, debe tenerse en consideración la población que se atiende, de tal forma que en una población de bajo riesgo debe encontrarse una tasa de ASC <5%(145). Sin embargo una tasa mayor podría considerarse ante una población de mayor riesgo. No obstante es importante considerar la posibilidad de sobrediagnosticar o infradiagnosticar las lesiones. Para superar esta posibilidad se pueden usar otros dos indicadores: el porcentaje ASC/SIL y el porcentaje de VPH de alto riesgo en los casos de ASC-US.

Razón ASC/SIL

En el caso de que se atendiera una población de alto riesgo, el porcentaje de ASC podría superar el 5% pero, en general, no debe exceder de 2 a 3 veces el porcentaje de SIL, por lo que se recomienda una relación inferior a 2-3:1 (146). Los valores de referencia específicos para la razón ASC/SIL también están disponibles a través de la lista de verificación del CAP(144). Si los valores de esta razón caen fuera de los percentiles 5 o 95, deben buscarse motivos específicos. En caso de existir valores anómalos tanto de ASC como de SIL, podrían encontrarse valores "normales" si estas variables se usan inadecuadamente. Para evitar esta posibilidad, se puede aplicar otro parámetro: el porcentaje de citologías con diagnóstico de ASC-US con presencia de genotipos de alto riesgo del VPH.

Positividad del virus papiloma humano de alto riesgo (VPH-AR) en casos de ASC-US.

El porcentaje "esperado" de casos de ASC-US positivos para VPH-AR se encuentra entorno al 50% (147). Este valor es una variable adicional para evaluar lapresencia de ASC y la relación ASC/SIL. Cibas y cols.(148) describen ocho patrones de distorsión en función de los resultados obtenidos y discutenlas conclusiones para cada escenario.

Correlación citohistológica

En un reciente estudio del Colegio Americano de Patólogos (149) se demuestra que la correlación citológica-histológica es la medida más útil en un programa de control de calidad. Sin embargo, no existen datos consensuados de carácter internacional que determinen los valores de correlación citohistológica correctos o esperados. Sin embargo, existen organismos oficiales en algunos países que si tienen en cuenta estos valores, como el "*NationalPathologyAccreditation and Advisory Council*" (NPAAC)(150) organismo australiano que supervisael funcionamiento de los laboratorios de citología y exige que al menos al 65% de las muestras citológicas diagnosticadas de H-SIL se les practique estudio histológico en el plazo de 6 meses. Este valor estándar se encuentra dentro del rango indicado en la literatura donde se establece que la relación entre el diagnóstico citológico e histológico para H-SIL, se encuentra entre el 65% y el 85%(151), (152).Otros valores notables de correlación citohistológica, aún sin ser normas, son los porcentajes de H-SIL en biopsias tras diagnósticos citológicos de ASC-US, L-SIL y H-SIL, que deberían ser del 10% a 15%, 15% a 25% y 30% a 40%, respectivamente(143).

Otro parámetro incluido en los criterios de calidad es la frecuencia de citologías no valorables. Según los criterios de calidad descritos por el Colegio Americano de Patólogos (144), (149), el percentil 50 corresponde al 1,1% del total de citologías y el percentil 5 y el 95 corresponden al 0,1% y al 3,4% de las citologías, respectivamente, y para citologías procesadas mediante el método ThinPrep®. En España se identificó un valor entre los percentiles 75 y 90, considerando que todos los estudios hubieran sido realizados con ThinPrep®, correspondiente a un porcentaje de citologías no valorables del 1,9% (153). Este valor es ligeramente superior al descrito en otro trabajo referente a un país de nuestro entorno, Gran Bretaña, donde estiman un valor de citologías no valorables de entre el 1% al 2%, valores que se encuentran entre los percentiles 50 y 90 (154).

3.4. Métodos de detecciónde la infección por VPH.

Dado que le VPH no puede ser cultivado, su identificación recae de forma casi exclusiva en la identificación de sus ácidos nucleicos, principalmente ADN en los tejidos infectados. Se han desarrollado un gran número de pruebas que pueden detectar el genoma de estos virus (68), (135), (155), (156). Unos métodos realizan amplificación genómica, otros amplificación de señal, identifican ARN vírico o usan métodos mixtos. La diferencia entre ellos estriba en las diferentes sensibilidades y especificidades analíticas (68). Estas variaciones no sólo dependen de la prueba utilizada, si no también del método en la toma de la muestra, del medio conservante, de la purificación del ADN, del buffer de la PCR y el medio de la amplificación, así como de la interpretación de los resultados(157). Pero también pueden expresar diferentes sensibilidades y especificidades clínicas (68), (158). Una alta sensibilidad analítica, lo que permitiría detectar un bajo número de copias virales, es fundamental para una gran precisión en la detección del virus y sus genotipos. Sin embargo, con objetivos de cribado, la detección del VPH no es útil a no ser que se indique la presencia o el desarrollo de una lesión de alto grado, por lo que el método de detección precisaría de una alta sensibilidad clínica (158).

A continuación se describen escuetamente los métodos aprobados por la *Food and Drug Administration*(FDA) estadounidense como métodos de cribado del carcinoma cervicouterino junto con la citología (110), (158), (159).

Métodos en los que se realiza hibridación y amplificación de señal

Los métodos de amplificación de señal de basan en una hibridación de ácidos nucleicos dirigidos a dianas específicas. La señal que identifica la hibridación es amplificada y visualizada con alguno de los métodos comercializados (156).

CAPTURA DE HÍBRIDOS

La captura de híbridos (Hibryd Capture® 2 o HC2, Quiagen Inc. Gaithersburg, MD, USA) es el método másusado para la identificación del VPH a nivel mundial (156), (155). HC2 es un producto comercial, con una alta sensibilidad, gracias a que usa una secuencia de ARN, en lugar de ADN, que es complementaria a 13 genotipos de alto riesgo, que incluye

a los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68, sin identificar a ninguno de ellos. Los híbridos son marcados mediante un producto luminiscente, por lo que el resultado es de positividad o negatividad para VPH de alto riesgo, pero pudiéndose cuantificar la respuesta en unidades relativas de luz (URL), lo que resulta en una estimación de la carga viral presente(160), (161). Gracias a su alta sensibilidad clínica es un método altamente recomendado para el cribado y al estar ampliamente contrastado es el método de elección para comparar con nuevos métodos de detección vírica (158). Sin embargo existe una "zona gris" que afecta a los resultado en el punto de corte entre positivos y negativos y hace que en este punto el método sea poco reproducible. Sin embargo este hecho no es relevante desde el punto de vista del cribado(162).Este método solo se aplica sobre células en suspensión, no permitiendo su uso en muestras tisulares y está aprobado por la FDA para realizar el cribado de mujeres de 30 años o más junto a citología y para el triaje citológico en mujeres con diagnóstico de ASC-US.

CERVISTA®

Cervista® (Hologic. Madison, WI, USSA), al igual que HC2 tan sólo permite detectar VPH en muestras de citología líquida. Se presentan dos tests: el *Cervista HPV-HR Test*, aprobado por la FDA y el *Cervista HPV 16/18*. El primero es una técnica automatizada de detección del VPH basada en la hibridación que detecta lapresencia de 14 tipos de VPH-AR en tres grupos diferentes (Mix 1: 51,56, 66; Mix 2: 18, 39, 45, 59, 68, y Mix 3: 16, 31, 33, 35, 52, 58), sin identificarlos de forma individual ni cuantificar la carga viral. Tras laextracción del ADN se aplica el test de Cervista®, que realiza la lecturamediante un método denominado invader, basado en una reacciónluminiscente. El resultado informa de la positividad o negatividadpara VPH-AR. Es muy sensible y adecuadopara el cribado. Paratipificar los VPH presentes debe procederse a una segunda prueba(162).Al igual que HC2 está aprobado por la FDA para realizar el cribado de mujeres de 30 años o más junto a citología y para el triaje citológico en mujeres con diagnóstico de ASC-US.

Métodos en los que se realiza amplificación deácidos nucleicos

Estos métodos se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con amplificación del ADN del virus mediantela aplicación de unos cebadores complementariosde secuencias del ADN vírico, en ciclos de altas y bajastemperaturas y gracias a la acción de polimerasas

del ADN, se obtieneun gran número de copias de un fragmento de ADN particular. Este método se puede usar en muestras líquidas y tejidos frescos o parafinadas, aplicando distintos protocolos

COBAS 4800® (Roche Molecular Systems Inc. Alameda, CA, USA)

Se trata de un método basado en PCR a tiempo real disponible, como en los casos anteriores, para citología líquida. Es un método automatizado que informa de la presencia o no de infección por VPH-AR, así como de la carga viral. Si la prueba es positiva indica si está presente el VPH16, VPH18 o algún otro de entre los siguientes genotipos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, 66, 68. Esta prueba está validada por la FDA para el cribado de mujeres de 30 o más años junto a citología, triaje en mujeres de 21 años o más con diagnóstico citológico de ASC-US, en mujeres de 21años o más con presencia de VPH16 y VPH18 con diagnóstico citológico de ASC-US o para mujeres de 30 años o más con presencia de VPH16 y VPH18, junto a citología.

APTIMA® (Gen-Probe Inc. San Diego, CA, USA)

Es otro método automatizado para citología líquida que permite la detección de 14 genotipos de VPH-AR. Se utiliza una PCR para amplificación de ARN mensajero viral de las oncoproteínas E6 y E7. Está aprobada por la FDA para realizar el cribado de mujeres de 30 años o más junto a citología y para el triaje citológico en mujeres con diagnóstico de ASC-US.

VPH DIRECTFLOW CHIP® (Mastger Diagnóstica, Granada, España)

Si bien esta prueba no ha sido aprobada por la FDA, la sensibilidad analítica de la prueba fue validada tras participar con éxito en el*OMS VPH LabNetProficiencystudy* de 2011 donde demostró un 100% de concordancia con los valores de referencia en 43 muestras evaluadas en diferentes concentraciones (de 5 a 500 GE) entre infecciones simples y múltiples. Al no observarse reactividad cruzada entre los genotipos, la especificidad analítica para estas muestras fue del 100 % (163). El *VPHDirectFlow CHIP*permite la detección y genotipado del VPH, que cumple las normas CE-IVD para dispositivos médicos de la Unión Europea. El sistema de PCR directa permite una amplificación

múltiple basada en [GP5+/GP6+] a partir de extractos crudos de células, ya provengan de citología líquida o tejidos embebidos en parafina y no requiere la extracción previa de ADN, con la consecuente reducción en tiempo de manipulación de muestras y obtención de resultados.Tras la amplificación de un fragmento de la región vírica L1 mediante PCR se procede a una hibridación en membrana con sondas de DNA específicas, mediante la tecnología DNA-Flow. Este método detecta 18 genotipos de alto riesgo: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82; y 18 genotipos de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 84, y 89(163).

Este es el método usado en la detección de VPH y sus genotipos en el presente trabajo.

3.5. Situación del cribado de cáncer de cérvix en España

El objetivo de un cribado de salud es identificar a los individuos de una población susceptibles de beneficiarse de una acción preventiva sobre unaenfermedad por la que no se ha buscado atención médica por síntomas relacionados (164), (165). Además la OMS considera la necesidad de integrar estos planes de cribado en programas más amplios que incluyan seguimientos y tratamiento de los pacientes (166).

En España no existen recomendaciones nacionales para el diseño de la estrategia de cribado del carcinoma de cérvix, ya que su aplicación es competencia de cada comunidad autónoma. Sin embargo, el Sistema Nacional de Salud ha definidouna serie de objetivos para la detección precoz de esta neoplasia(93). Para ello se pretende optimizar la realización de las pruebas de cribado en mujeres de medio y bajo riesgo. Para ello define la población diana de mujeres a aquellas asintomáticas, con relaciones sexuales y edad comprendida entre 25 y 65 años. Se recomienda como principal prueba de cribado al a citología cervical, recomendando intervalos de entre 3 y 5 años entre exploraciones tras dos citologías iniciales normales realizadas en el intervalo de un año. Así mismo, se establece como objetivo que el 70% de las mujeres de entre 30 y 60 años tengan una citología de cribado realizada en los 5 años anteriores.

Se pretende garantizar un seguimiento mediante programas específicos organizados para mujeres de riesgo elevado. Para alcanzar dichos objetivos, el Sistema Nacional de Salud(93) recomienda organizar la actividad del cribado siguiendo las recomendaciones de las Guías Europeas de Control de Calidad y de las sociedades científicas implicadas.

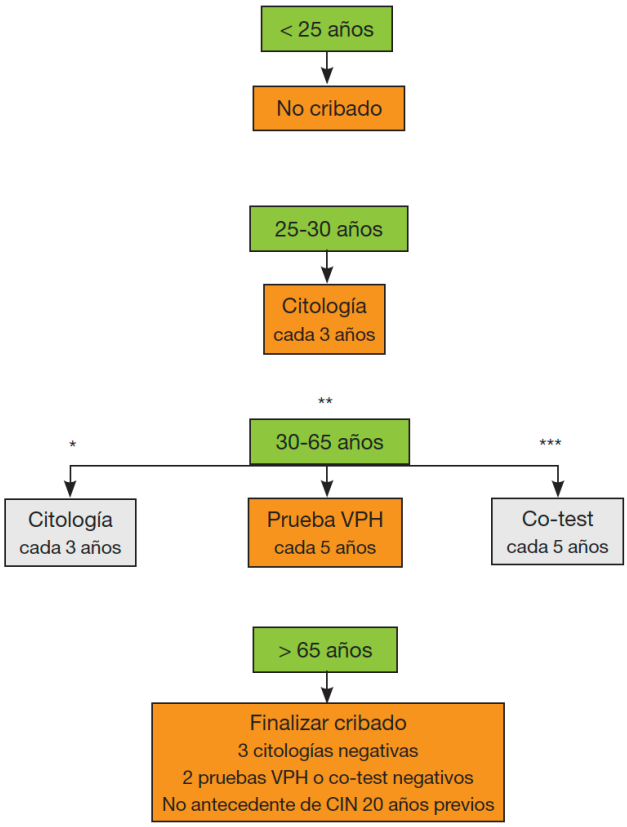
Aunque las citologías no se realicen en el marco de un programa organizado con carácter poblacional, estas deberían estar sujetas a las recomendaciones de controles de calidad que se exigen en los programas de cribado poblacional. Se organizarán programas de seguimiento específico para mujeres con riesgo elevado de padecer carcinoma cervicouterino.

Finalmente se recogerá la información en relación con la práctica de estas pruebas a fin de poder evaluar si se siguen los criterios establecidos. De ello se encargará la Encuesta Nacional de Salud.

En Extremadura, el programa de prevención del cáncer ginecológico se promovió desde la Consejería de Sanidad y Consumo de la Junta de Extremadura en el año 1989(167), con carácter universal y dirigido a mujeres mayores de 20 años o menores sexualmente activas (167). Actualmente el programa de cribado es oportunista, si bien, desde atención primaria se potencia la información para aumentar la participación de la población diana. Se recomienda iniciar el cribado a los 25 años o a los tres años tras el comienzo delas relaciones sexuales, para finalizarlo a los 65 años. Tras dos citologías valorables consecutivas en el mismo año, se continúa con citologías cada tres años.

Como consecuencia de la alta heterogeneidad en los programas de cribado, en el años 2014 se llegó a un consenso entre distintas sociedades científicas españolas (Sociedad Española de Ginecología (SEGO), la Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia (AEPCC), Sociedad Española de Citología (SEC) y la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP)) (93), (168) (Figura 12).

Figura 12. Protocolo de cribado atendiendo a los grupos de edad. (Tomado de Bladé y cols.(93))



4. Impacto mundial de la infección por VPH

Los estudios sistemáticos y meta-análisis sobre la prevalencia del VPH están restringidos a mujeres con citología normal o ASC-US, lo que permite una homogeneización en las comparaciones de éstos (7), (8), (169), (170). El metaanálisis más influyente fue el realizado por Bruni y cols. (169) publicado en el año 2010, que comprendió un millón de mujeres y 194 estudios de todo el mundo, la mayoría procedentes de cribados cervicales de rutina. En este trabajo se estimó una prevalencia mundial del 11,7% con marcadas diferencia regionales y por edades, después de haber realizado ajustes por subregiones geográfica, por edades, año de finalización del estudio, método de detección de VPH y proporción del número de VPH-AR y VPH-BR incluidos en los test. África (21,1%) y América Latina (16,1%) presentaron prevalencias mayores que Europa (14,2%), América del Norte (4,7%) y Asia (9,4%), con variaciones, tras ajustes por regiones, que oscilaron entre el 1,6% y el 41,9%. La distribución por grupos de edad reveló una curva bimodal en la mitad de las regiones, incluida Europa del sur, donde se incluye a España, con un primer pico en las edades más tempranas (<24 años) y otro en el grupo de mayor edad, generalmente en mayores de 45 años. Pero las diferencias de prevalencia también se encontraron dependientes del método de detección del virus. Mediante HC2 se encontró una prevalencia del 5,1% y entre los métodos de PCR se identificaron prevalencias tan elevadas como del 41,3% para la PCR a tiempo real SPF10 o tan bajas como el 7,1% mediante el uso de GP5/6 o GP5+/6+. Mediante el método del Chip de ADN se obtuvo una prevalencia del 15,1%. Las prevalencias también variaron en función del método de reclutamiento de mujeres para los estudios. De los estudios poblacionales se estimó una prevalencia del 9,8%; de los basados en cribado la prevalencia resultó ser de 4,9% y de los estudios de casos-control se estimó una prevalencia del 6,2%.

En el metaanálisis llevado a cabo por de Sanjosé y cols. (8) en el año 2007, se incluyeron 157.879 mujeres procedentes de 78 estudios. Aún con cifras inferiores se obtuvieron resultados semejantes ya que se estimó una prevalencia global de infección por VPH del 10,4% y variaciones regionales semejantes con las prevalencias de África (22,1%) y América Latina (Central, 20,4% y del Sur, 12,3%) superiores a las de Europa (8,1%), América del Norte (11,3%) y Asia (8,3%), si bien la prevalencia para América del Norte resultó ser mucho más elevada. En este estudio también se realizaron los ajustes pertinentes en relación a regiones geográficas o grupos de edad.

En un metaanálisis del años 2012, Guan y cols. (171) agrupan a 115.789 mujeres positivas para VPH, procedentes de 423 estudios. Se identifica una prevalencia global de infección por VPH del 12% en mujeres con citologías normales. También se indican las prevalencias de infección en ASC-US (52%), L-SIL (76%), H-SIL (85%) y carcinoma invasivo (89%). La prevalencia más baja en mujeres sin lesión citológica se siguen describiendo en Europa (9%), mientras que en este estudio la prevalencia más alta se identifica en Oceanía (33%). Aún con variaciones regionales se observa una progresión en la frecuencia de mujeres infectadas según se incrementa el grado de lesión citológico. Estos autores tan sólo encontraron consistencia entre las distintas regiones para la presencia del VPH en el carcinoma de cérvix (en torno al 90%).

4.1. Prevalencia tipo específica del VPH por regiones geográficas

EUROPA

Al realizar el cribado del cáncer de cérvix es importante establecer la prevalencia de los genotipos de alto riesgo en la población de cada país. Estos datos son de relevancia para monitorizar el impacto de la vacunación del VPH. Los principales estudios poblacionales llevados a cabo en Europa se describen en la Tabla 3.

En 2013, Europa tenía una población de 346,55 millones de mujeres y cada año 58.373 de ellas son diagnosticadas con cáncer de cuello de útero, de las cuales 24.385 mueren a causa de la enfermedad. En este continente, el cáncer cervical es el sexto cáncer más común en mujeres y el segundo tipo de cáncer más frecuente entre mujeres de 15 a 44 años de edad(172). La prevalencia de infección por VPH en mujeres de la población general se estimó en un 11,9% y el 75,1 % de los cánceres de cuello uterino invasivo se atribuyen alVPH16 y alVPH18(172).

La prevalencia de los genotipos de alto riesgo es muy variable. De forma excepcional fue muy elevada en Dinamarca con un 22,8%, mientras que en el resto de la de países varió entre el 4.3% de Alemania y el 16.1% de Francia. El genotipo 16 fue el más frecuente en la mayoría de los países, seguido por el 31 (el más frecuente en Portugal), con una prevalencia media del 2% en nueve estudios de todas las regiones de Europa. El segundo puesto también varió: en Alemania y Dinamarca está ocupado por el VPH52 y en Grecia por el VPH35.

Existe una clara disminución de la prevalencia de la infección en sentido norte-sur (169), sin embargo, en países como Suecia se identificaron prevalencias bajas en relación con los países de la zona, mientras que en Dinamarca, Francia y Bélgica fueron más altas. También hay que resaltar las importantes diferencias, no solo entre países o regiones, si no también entre estudios realizados sobre esas mismas regiones. Esto puede ser debido a los distintos criterios y métodos de selección empleados por los autores en los distintos trabajos (68), (173).

El número de genotipos del VPH de alto riesgo detectados en los distintos estudios, tienen su efecto sobre la distribución de la prevalencia global. La categorización de estos genotipos fue más estricta en los estudios de Alemania, Rusia y Francia con 13 genotipos, mientras que en el estudio de Escocia se llegó a 18 genotipos.

En Bélgica, Francia o Polonia se tipificaron todos los VPH, pero en la mayoría de los estudios la determinación genotípica se realizó sobre los de alto riesgo. En los distintos estudios descritos, independientemente del método utilizado o sondas usadas, se llevaron a cabo controles internos que reforzaban el método del estudio.

La distribución por edades de las poblaciones motivo de estudio garantizaron el resultado final de las prevalencia en cada país, ya que está estrechamente relacionada con la edad (Taba 4). La prevalencia tan elevada, descrita en Dinamarca puede ser explicada por la edad media de las mujeres estudiadas, que fue de 36,4 años, una de las más bajas de la revisión, con una prevalencia extremadamente alta, del 44,7% para mujeres de entre 20 y 24 años (76).

También se aprecian variaciones de la prevalencia dependiendo de los métodos de identificación del VPH que se usen (169).

En el Reino Unido de Gran Bretaña y el Norte de Irlanda las seis infecciones de VPH más comunes en las mujeres con citología normal fueron el VPH16, VPH61, VPH62, VPH53, VPH89 y VPH54, en orden descendente. El VPH18 fue el decimonoveno tipo más común. La infección por VPH de alto riesgo se identificó en el 12,2% de las participantes (174).

Tabla 3. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en Europa

País (Referencia)	Rango de edad	N	Primers	VPH-AR (%)	16 (%)	18 (%)	31 (%)	33 (%)	35 (%)	39 (%)	45 (%)	51 (%)	52 (%)	56 (%)	58 (%)	59 (%)
Grecia(180)	20-59	4139*	MY09/11	5.9	1.4	0.3	0.6	0.1	0.6	0.1	0.1	0.4	0.2	0.1	0.2	0.1
Bélgica(131)	14-97	9284	Otros§	15.2	3.7	1.5	3.0	0.8	0.5	1.5	0.5	2.3	1.6	1.1	1.1	1.7
Polonia(181)	18-59	834‡	GP5+/6+	11.3	3.7	0.7	1.4	1.1	0.4	0.4	1.6	1.1	1.4	1.7	0.8	0.4
Países Bajos(182)	18-65	45362	GP5+/6+	5.6	1.8	0.5	0.8	0.4	0.2	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.1
Reino Unido (Escocia), (183)	16-78	3444	GP5+/6+	15.7	6.4	2.2	2.1	1.2	0.0	1.1	1.4	2.2	1.8	1.3	1.1	1.3
España(142)	18-65	3261‡	HC2	14,1	2.9	0.5	1.3	0.6	0.4	0.9	0.3	1.6	1.8	0.6	0.6	0.2
Suecia(184)	32-38	6123	GP5+/6+	6.8	2.1	0.6	1.1	0.4	0.3	0.2	0.8	0.4	0.3	0.5	0.3	0.1
Reino Unido (Gales del Sur),(144)	20-65	9079	GP5+/6+	11.1	3.5	2.4	2.5	1.7	1.2	1.4	1.5	1.1	0.9	1.2	2.2	1.2
Dinamarca(75)	15-93	11600	SPF-10	22.8	6.0	2.7	4.5	2.1	1.0	2.6	2.1	4.4	4.5	2.0	1.3	1.2
Alemania(185)(186)	≥30	8101*	PGMY09/11	4.3	1.3	0.4	0.5	0.2	0.1	0.4	0.4	0.4	0.5	0.1	0.3	0.2
Francia(187)	25-65	4487	Otros§	15.1	2.3	0.4	1.6	0.3	0.2	0.9	0.4	2.1	0.5	1.7	0.4	0.5
Italia(188)	25-70	1013	GP5+/6+	7.1	2.6	0.1	0.5	0.2	0.1	0.3	0.6	0.2	0.2	0.2	0.3	0.0
UK (Manchester) (189)	20-64	24470	PGMY09/11	10.6	3.3	1.3	1.3	0.7	0.4	1.1	0.8	1.2	1.5	0.7	0.7	0.8
Rusia(190)	30-65	823	Otros§	13.0	3.9	0.5	2.8	1.3	0.4	0.4	0.7	0.6	1.7	0.9	0.5	0.4
Eslovenia(191)	20-64	4431	PGMY09/11	12.9	3.5	1.0	2.6	0.7	0.2	1.1	0.9	1.8	1.8	0.7	0.6	1.1
Portugal(143)	18-64	2326	CLART VPH 2	14.8	3.8	0.9	2.3	0.6	0.6	0.7	0.2	1.9	1.5	0.8	1.3	1.3

* Cribado oportunista, ‡ Muestreo poblacional, § Según Arbyn y cols. (131) y Monsonego y cols. (175)

En Dinamarca se estima que cerca del 18.6% de las mujeres estarán infectadas por el VPH en algún momento de sus vidas. En un estudio del años 2008, la prevalencia de VPH fue del 22,9 %, de estas mujeres el 19,2% se encontraban infectadas con genotipos de alto riesgo y el 7,4% con genotipos de bajo riesgo. Las infecciones múltiples (12,1%) fueron más frecuentes que las infecciones simples (9,3%). El tipo de VPH más común fue el VPH16 (4,8%) seguido de VPH31, VPH52 y VPH51 (3.8% a 3.6%) (76).

EnSuecia,se estima que el 5,5% de las mujeres estarán infectadas en algún momento de sus vidas. El genotipo más común fue el VPH16 seguido por el VPH31 y VPH42, con una prevalencia global del 24,8%. Entre todas las mujeres positivas, el 8.8% fueron infecciones simples, mientras que el 6% tenían múltiples tipos de VPH. Los genotipos de alto riesgo fueron predominantes en comparación con los de bajo riesgo(176).

En Irlanda el 11,4% de las muestras analizadas fueron positivas, siendo los tipos VPH16 y VPH18 los más comunes(177), (178).

En el año 2011 se publicaron los resultados del estudio CLEOPATRA de Portugal (179), (180). Se encontró que la prevalencia general de infección por VPH fue del 19,4 %, siendo mayor en mujeres de 18 a 24 años, para ir disminuyendo progresivamente con el aumento de la edad. Se detectaron genotipos de alto riesgo en el 76,5 % de las infecciones, de las cuales el 36,6 % eran múltiples. El tipo de alto riesgo más frecuente fue el VPH16, seguido del VPH31, 53 y 51, presentes en el 19,7%, 11,8%, 11,8% y 9,8% delas mujeres infectadas. Al menos uno de los tipos de VPH6, VPH11, VPH16 o VPH18 se detectó en el 32,6 % de las infecciones. La prevalencia del VPH en muestras citológicas normales fue del 16,5%.

En Italia se encontró infección por VPH de alto riesgo en el 6.2% de las mujeres y de bajo riesgo en el 2.7%. Los tipos más comunes fueron el VPH16 (2,1 %) y el VPH31 (0,8%) (181), (182), (183).

En Grecia se estima que cerca del 17,5% de las mujeres estarán infectadas en algún momento de sus vidas. Los genotipos más frecuentemente encontrados son VPH33 y VPH6, no siendo frecuentes el VPH16, VPH18 o el VPH11(184), (185).

En la Federación de Rusa cerca de 15.5% de las mujeres en la población general se encuentran infectadas (186).En el año 2011 se llevó a cabo un estudio oportunista sobre 5182 mujeres en el área de Moscú(187). La prevalencia de mujeres infectadas por genotipos de alto riesgo fue del 13,4%. Los virus más frecuentes fueron el VPH16 y el VPH31 (4,4% y 2,3%), seguidos por el VPH52, VPH56 y VPH51 (1,8%, 1,7% y 1,4% respectivamente)(187). En este estudio se encontró que la frecuencia de infección por VPH16 aumentaba con el grado de la lesión: un 52% para LSIL (VPH16 el 44,1%; VPH31 el 23,6%; VPH52 el 17,4%; VPH33 y 39 el 15,3% y VPH18 el 12,5%), un 99,5% para HSIL (VPH16 el 69,5%; VPH31 el 17,6%; VPH33 el 13,9% y VPH18 el 9%) y una prevalencia variable entre el 89,8% y el 100% en cánceres de cérvix dependiendo del tipo de carcinoma (adenocarcinoma o carcinoma escamoso y técnicas empleadas para el estudio) pero con una prevalencia predominantes para VPH16 y VPH18.

En Polonia los genotipos más frecuentemente encontrados sonelVPH16, VPH51 y VPH52 (36,7%, 27,8% y 16,7%, respectivamente). Las infecciones simples supusieron el 51% de los casos, dominado las infecciones dobles. En las infecciones simples la frecuencia del VPH16 era del 52% mientras que en las infecciones múltiples el VPH51 era dos veces más frecuente (22% y 11% respectivamente) (188), (189).

En Hungría la prevalencia de infección por VPH en mujeres sanas es del 5,9% (190), mientras que la prevalencia total es del 17,5%. Los genotipos más frecuentes en las lesiones de alto grado son el VPH16 (57,3%), VPH33 (6,7%), VPH31(5,3%) y VPH18 (4%)(191).

En 2010, Anton y cols.(192) analizaron la distribución de los genotipos del VPH en mujeres sanas rumanas. De las 285 mujeres incluidas en el estudio, el 43,5 % tenía una infección por VPH y el tipo más común fue el VPH16 (15,4 %), seguido de VPH18, VPH31 y VPH51.

En Francia se estima que cerca del 12,8% de las mujeres estarán infectadas en un momento dado de sus vidas. Alrededor del 13 % de las mujeres están infectadas por el virus y el 3% presentaban infección múltiple. Los genotipos de VPH más prevalentes fueron, por orden descendente el VPH16 (3,6%), VPH53 (1,4%), VPH6 (1,0%), VPH31 (0,9%) y VPH33 (0,7%), (193),(194).

En Alemania cerca del 8,2% de las mujeres estarán infectadas en un momento dado de sus vidas. El 4,4% de las mujeres analizadas tenían infección por VPH, un 3,1% como resultado de infecciones simples y el 1,2% con infecciones múltiples. Los genotipos más frecuentes de alto riesgo, fueron el VPH16 (1,1%), VPH31 (0,5%) y VPH52 (0,4%). Entre las infecciones por virus de bajo riesgo el VPH73 fue el más común (0,4%), (195),(196).

En Los Países Bajos se estima que cerca del 3,9% de las mujeres estarán infectadas en un momento dado de sus vidas. En el año 2010, se encontró una prevalencia de VPH de 5,2 %. Cerca de 3.7 % de las infecciones fueron positivas para VPH de alto riesgo y el 1,5 % lo fueron para VPH de bajo riesgo(197),(198).

En Suiza se estima que cerca del 9,5% de las mujeres estarán infectadas en un momento dado de sus vidas. El 17,2 % de las mujeres fueron positivas para el virus, encontrando VPH de alto riesgo en el 8.1%. La mayor prevalencia de VPH se observó en el grupo de edad de 21a30 años y mostró una disminución continua en los grupos de mayor edad. Los siete tipos de VPH de alto riesgo más comunes fueron el VPH16 (12 %), VPH31 (9,4 %), VPH52 (6 %) y VPH45, 58 y 59 (4,3 %, cada uno). El VPH6 se detectó en el 4,3% de las muestras positivas. Hubo un 10,9% de infecciones simples y un 6,3% de infecciones múltiples (199),(200).

ÁFRICA

En el año 2013 África tenía una población de 306,490,000 mujeres mayores de 15 años. Las estimaciones actuales consideran que cada año 99,038 mujeres serán diagnosticadas de cáncer de cérvix y 60,098 mujeres morirán a causa de este tumor. El cáncer cervical es el segundo cáncer más frecuente entre las mujeres de entre 15 y 44 años de edad. La prevalencia de VPH es más alta en las mujeres africanas con citología normal que en las mujeres de otras regiones del mundo, estimándose que el 24,9% de las mujeres en la población general se encuentran infectadas por VPH en un momento dado. Además, las infecciones causadas por VPH16 se encuentran con mayor frecuencia que las infecciones causadas por otros tipos de VPH de alto riesgo en otras regiones del mundo, aparte de África subsahariana, donde pueden dominar las infecciones por otros tipos oncogénicos del VPH, entre ellos, el más frecuente el VPH35. En todas las regiones el VPH16 se encuentra en el 71,3% de todos los carcinomas cervicales (201). La variabilidad es mucho más

acusada que en Europa, con prevalencias que oscilan entre el 37.5% de Túnez (202) y el 2.9% de infecciones por genotipos de alto riesgo en Argelia (203). Sin embargo en los países donde las cifras son más bajas, éstas son comparables a las encontradas en Europa. Este hecho tiene que ver con los mayores recursos del país y la asistencia social con la que cuentan, comparable en muchos casos a los países europeos (203), (204). Los principales estudios poblacionales llevados a cabo en África se describen en la Tabla 4.

En el norte de África, existen estudios disponibles de Túnez, Marruecos Egipto y Argelia, que describen la distribución de VPH en mujeres con resultados citológicos normales.

En Túnez la prevalencia del VPH en mujeres sanas fue del 45 % y el VPH16 y VPH58 fueron los tipos más comunes de alto riesgo presentes, con una tasa de prevalencia del 38% y 27% respectivamente. El VPH82 ocupó el tercer lugar con una prevalencia del 15 % y los tipos 31, 33 y 35 tuvieron prevalencias del 4%, mientras que no se registraron casos de VPH18. El VPH72 y VPH83 fueron los únicos de bajo riesgo con una prevalencia del 4% cada uno (202), (205), (206).

En Marruecosse estima que el 10,5% de mujeres serán infectadas por el VPH. El ADN del VPH fue identificado en 15,9 % de las mujeres: el 13,7 % tenían VPH16, 8.9% tenían VPH 18, 3.2 % de los casos tenía VPH31, 0.8 % tenían VPH33, el 2,4 % de los casos presentaba VPH35, el 1,6% de VPH45 y el 69,4 % tenía una infección de VPH de tipo desconocido (207), (208).

Se estima que el 10,5% de las mujeres argelinas serán infectadas en algún momento de su vida (209). La prevalencia del VPH entre las mujeres con citología normal fue del 5,3 %. La prevalencia de tipos de alto riesgo y los tipos de bajo riesgo fue de 2,9 % y 2,7 % respectivamente. El VPH31 fue el tipo más común (1,1 %), seguido de VPH16 (0,5 %). En cuanto a los tipos de bajo riesgo, el VPH6 y VPH66 son los más comunes (0,5 %) (203), (209).

En Sudáfrica, los tipos más prevalentes fueron el VPH83 (2,6%) de bajo riesgo, seguido de VPH53 (2,2%) y VPH16 (2,0%) de alto riesgo. La prevalencia de VPH 16 y VPH 18 fue del 3,3 %, mientras que la prevalencia de la infección por VPH (20,4%) fue alto en

comparación con lo informado por otros estudios poblacionales en otras zonas del mundo (204), (210).

En Zimbabue, la prevalencia global de VPH fue del 24,5 % y la tasa de infección por VPH de alto riesgo correspondió a 16,1%.El VPH58 fue el tipo de alto riesgo más común de con un 5% de las mujeres, seguido por el VPH16 y el VPH18 con 4,7% y 2,3%, respectivamente. El VPH70 fue el tipo más común de bajo riesgo con 2,4%. El VPH6 y VPH11 fueron poco frecuentes con el 0,7% y 0,2% de las mujeres positivas, respectivamente. Los tipos de VPH más comunes que se encuentran en las infecciones múltiples eran los tipos de VPH58, VPH16, VPH70, VPH18, VPH53 y VPH33. La frecuencia de VPH58 es relativamente alta en comparación con América del Norte y Europa y se asocia con el 3,3 % de los cánceres de cuello uterino a nivel mundial y el 1,5 % de cáncer en África (211),(212),(213).

En Mozambique el grupo de Castellsaguéevaluó la distribución de genotipos del VPH en mujeres con citologías normales en el año 2008. La prevalencia de VPH fue del 75,9%, la más alta informada en cualquier otra región. Los tipos más frecuentes fueron: VPH51 (23,6%), VPH35 (19,6%), VPH18 (14,2%), VPH31 (13,5%) y VPH52 (12,8%), (214),(215),(216).

Tabla4. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en África

País (Referencia)	Rango de edad	N	Primers	VPH-AR (%)	16 (%)	18 (%)	31 (%)	33 (%)	35 (%)	39 (%)	45 (%)	51 (%)	52 (%)	56 (%)	58 (%)	59 (%)
Túnez (217)	25-35	64	GP5/6 MY09/MY11	37.5	15.62	0	1.5	1.5	1.5	-	-	-	-	-	-	-
Marruecos (221)	17-80	785	MY09/11	15.79	2.16	1.4	0.5	0.12	0.38	-	0.25	-	-	-	-	-
Argelia (218)	15-65	732	GP5+/6+	2.9	0.5	0.3	1.1	0.1	0.1	0.1	0.3	0.4	0.1	0.1	0	0.1
África del Sur (148)	21-59	848	Reverse line blot assay	9.7	2	1.3	0.5	1.1	0.6	0.6	1.4	0.7	1.9	0.4	1.1	1.1
Zimbabue(222)	De <24 a >35	1987	MY09/11 P	16	4.73	2.26	1.31	2.01	-	-	0.81	-	1.31	-	5.03	-
Mozambique(223)	14-61	195	Hibridación reversa	-	6.15	10.7	10.25	5.64	14.87	7.17	3.07	18	9.74	3.6	1.53	-
Kenia(224)	25-35	454	GPS60/GP124	27.3	7.7	4.6	-	-	-	-	-	-	-	-	10.5	-
Nigeria(225)	25-65	844	GP5+/6+	18.3	12.2	7.3	11	2.0	12.2	2.4	7.8	5.7	5.3	9	8.6	-
Guinea(226)	18-64	831	GP5+/6+	29.3	6.7	3.2	1.3	2.9	3.2	0.9	4.7	1.9	4	2.1	3.2	0.8
Senegal(227)	35-55	1639	Hibridación reversa	6	1	0.9	0.4	0.7	0	0.1	0.2	0.3	0.5	0.3	0.7	0.4

En Kenia, en el año 2010, De Vuystllevó a cabo un estudio entre 454 mujeres con resultados citológicos normales, de las cuales 40,3 % fueron positivas para VPH. Los tipos más comunes fueron VPH58 con prevalencia 9,9 %, seguido de VPH16 (7,5%) y VPH53 (6,6%),(217),(218).

Nigeria es el país más poblado de África. En el año 2010 se evaluaron 844 mujeres con citologías normales. Cerca de 26,3 % de las mujeres eran positivas. La prevalencia de VPH16 y VPH35 fue la misma (12,2%) seguida por el VPH 31 (11%). Las infecciones de bajo riesgo y múltiples también fueron comunes con un 44,9% y 27,8%, respectivamente, (219),(220).

En el año 2009, el grupo de Keita(221), (222), estudió a 831 mujeres sanas de 18 a 64 años. La prevalencia de infecciones por virus de alto y bajo riesgo (29,3% y 29,1% respectivamente) fue similar. Los tipos de alto riesgo más frecuentes fueron VPH16 (6,7%), VPH45 (4,7%), VPH52 (4,0%) y VPH18, VPH35 y VPH58 (3,2% cada uno). Los VPH66, VPH42 y VPH81 fueron los tipos de bajo riesgo detectados con mayor frecuencia. El 29% de las mujeres tenían infecciones únicas y el 37,9% fueron múltiples.

En Senegal, Xi et al (2003)(223), (224)detectaron ADN de VPH en el 13% de las mujeres con resultados citológicos normales, en los que el 6,2% presentaban infección única y el 1,2% tenía una infección múltiple. Los tipos más comúnmente detectados fueron VPH16 (1,0%), VPH54 (1,0%) y VPH18 (0,9%).

CONTINENTE AMERICANO

En la última estimación disponible, la población de mujeres mayores de 15 años del continente americano era de 350,350 millones. Cada año se diagnostican 83.195 nuevos casos de cáncer de cuello uterino y 35.637 mujeres morirán por la enfermedad. El cáncer cérvix es el cuarto tipo de cáncer más frecuente en las mujeres del ContinenteAmericano(224)y el segundo más frecuente entre las mujeres de entre 15 y 44 años de edad. Los genotipos de VPH 16/18 se encuentran hasta en el 71,7%de todos los carcinomas de cérvix.

No obstante, estos valores son extremadamente variables dependiendo de la región geográfica en la que nos encontremos (norte-sur) y entre países. Los principales estudios poblacionales llevados a cabo en el Continente Americano se describen en la Tabla 5.

En el año 2008 se seguía produciendo un alto número de casos de cáncer de cérvix en toda América Latina(225). América del Sur y América Central, junto con el África subsahariana y el sudeste de Asia, muestran algunas de las tasas más altas en todo el mundo (226). La incidencia de cáncer de cuello uterino es el más alto entre las mujeres pobres con pocos años de escolaridad, que tienden a ser diagnosticadas en etapas avanzadas de la enfermedad (225). Incluso cuando estas mujeres son examinadas o diagnosticadas, menos de una cuarta parte de ellas reciben un seguimiento y cuidado adecuados (226). Numerosos países de la región han tratado de poner en práctica programas de cribado citológicos, pero sin éxito, incluso en países donde la citología ha estado disponible durante muchos años y en los que existen sistemas de salud organizados.

América Latina tiene una alta prevalencia de VPH en mujeres con citología normal, pero la incidencia de esta enfermedad varía entre los países ricos y pobres, incluso entre regiones de un mismo país. La prevalencia específica por edad varía del 30% entre las mujeres menores de 25 años al 11% entre las mujeres de edades comprendidas entre 45 y 54 años. Es muy alta entre las adolescentes para disminuir lentamente hasta los 45-54 años de edad, y aumentar de nuevo significativamente entre las mujeres de más de 55 años (20%). El VPH16 es el genotipo más prevalente entre las mujeres con histología cervical normal pero otros genotipos de VPH también frecuentes fueron el VPH18, VPH52, VPH31 y VPH6.

La incidencia de cáncer de cuello uterino en los Estados Unidos y Canadá ha disminuido progresivamente hasta ser relativamente baja (227). La principal razón de esta baja incidencia, a pesar de las altas tasas de infección por el VPH, es la amplia disponibilidad de pruebas citológicas (227). La prevalencia del VPH en mujeres sanas en América del Norte fue alta en los Estados Unidos y Canadá. La prevalencia específica por edad entre las mujeres con citología normal varió del 30 % entre las mujeres menores de 25 años al 1% entre las mujeres de 45-54 años de edad. Era muy alta entre las adolescentes para luego disminuir lentamente hasta los 45-54 años de edad y aumentar significativamente de nuevo entre las mujeres de más de 55 años (20 %). Sólo en Estados Unidos se identificó una

significativa disminución con la edad. El VPH16 fue el genotipo más frecuente entre las mujeres con citología cervical normal.

En Méjico,los programas de detección precoz de cáncer cérvix han tenido un impacto mínimo en las tasas de incidencia y de mortalidad. La prevalencia del VPH entre las mujeres con citología cervical normal en Méjico fue de 14.5 %, con una distribución bimodal. Los tipos de VPH de alto riesgo predominaron en el primer pico, mientras que los de bajo riesgo fueron más frecuentes entre las mujeres de más de 65 años. El genotipo más frecuente fue el VPH16, seguido de VPH53 y VPH3, (228), (229), (230), (231), (232), (233), (234), (235).

En Costa Rica(236), la prevalencia delainfección entre mujeres con histología cervical normal fue alta (30%). La infección con un solo genotipo se produjo en el 16,6 % de los casos, mientras que el 5,8% de las mujeres fueron infectadas con al menos dos genotipos. Predominaron los genotipos de bajo riesgo en comparación con los tipos de alto riesgo, infectando al 12,5 y al 9,9% de las mujeres, respectivamente. El VPH71 fue el genotipo más frecuente. La prevalencia del tipo VPH16 fue relativamente baja, mientras que losVPH58, VPH51 y VPH52 fueron relativamente frecuentes. Este hallazgo coloca a Costa Rica cerca de los países de África y Asia, donde el VPH58 y VPH52 fueron los más frecuentes.

En Brasil, la prevalencia de la infección por VPH entre las mujeres con citología cervical normal fue de 14 %. Se identificó una disminución en la prevalencia del VPH con la edad. Los genotipos de VPH más frecuentes entre las mujeres sanas fueron VPH16 y VPH72. La prevalencia de tipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33) fue del 5,3 %, mientras que la prevalencia de los tipos de bajo riesgo (72, 54, 6) fue 10 veces menor (0,5 %)(237), (238).
En Chile, la prevalencia de la infección es del 11,2%. El 73,6 % de las infecciones implicados fueron causadas por un solo genotipo, mientras que el 27,1 % fueron múltiples. Los genotipos de VPH más comunes fueron el VPH16 y VPH56, seguidos del VPH70, VPH52, VPH58 y VPH59(239), (240).

En Colombia, el grupo deMolano (241) encontró una prevalencia global del 15,9%. El 11,4% estaban infectados por tipos de alto riesgo y el 3,2% con tipos de bajo riesgo.El genotipo más frecuente encontrado fue el VPH16 seguido por el VPH58. Aunque el

VPH16 es el tipo predominante en todo el mundo el VPH58 se observó también con una alta prevalencia Se detectaron infecciones múltiples en el 29,7 % de las mujeres con una alta frecuencia entre las mujeres menores de 25 años(242), (243).

Tabla 5. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en el Continente Américano

País (Referencia)	Brasil (242)	Chile (243)	Colombia (244)	Argentina (245)	Méjico (246)	Costa Rica (79)	EE.UU (247)	Canadá(248)
Rango de edad	oct-84	15-65	20-55	17-69	25-65	25-65	14-59	15-69
N	337	921	1845	987	1340	8513	4150	489
Primers	MY09/11 PCR	GP5+/6+ PCR	GP5+/6+ PCR	GP5+/6+ PCR	Hibridación reversa	MY09/11 PCR	MY09/11 PCR	MY09/11 PCR
VPH-AR (%)	24.6	7.7	11.4	5.6	11	13.7	29	17
16 (%)	3	2.2	2.4	2.5	1.7	3.6	4.7	5.6
18 (%)	2.4	0.4	0.4	0.5	1	1.3	1.8	1.6
31 (%)	1.8	0.5	0.2	0.3	1.4	5.4	2.2	3.6
33 (%)	3	0.1	0.2	-	0.7	0.7	1.5	-
35 (%)	0.8	0.3	-	0.4	0	0.4	1.3	-
39 (%)	0.5	0.7	0.3	-	0.6	0.8	2.2	1.6
45 (%)	1.8	0.7	0.1	0.3	0.1	0.8	2	0.7
51 (%)	-	0.7	0.4	0.2	0.4	2	4.1	-
52 (%)	1.1	0.8	0.3	0.4	0.4	1.6	3.6	2.3
53(%)	-	-	-	-	-	-	5.8	2.3
56 (%)	0.3	1.3	0.5	0.4	0.1	0.9	2.3	1.1
58 (%)	1.1	1	0.9	-	0.7	2		2.7
59 (%)	0.3	0.9	0	0.1	0	0.4	3	2.2

En Argentina, la prevalencia del VPH entre las mujeres sin alteraciones cervicales fue de 15,4 %. El 8.9% tenían una infección con un solo tipo de VPH, mientras que el 3.3% tenían múltiples tipos. Los genotipos de VPH de alto riesgo fueron predominantes en comparación con los de bajo riesgo. El genotipo más común fue el VPH16, seguido por el VPH6, (7),(244).

El VPH es la infección de trasmisión sexual más común en los Estados Unidos. La prevalencia global de la infección por fue del 42,5%, incluyendo un 29 % con un genotipo de alto riesgo y un 28,5 % con un genotipo de bajo riesgo. El VPH53 fue el genotipo más común, seguido por el VPH16 y el VPH51. Es importante reseñar que los genotiposVPH18

y VPH31 no se encontraron tan comúnmente como en otras áreas de América o Asia, (75),(245),(246).

En Canadá, el estudio de Hamlin-Douglas se identificó que las infecciones por VPH de alto riesgo fueron más frecuentes que las de bajo. El tipo más frecuente fue el VPH16 que se detectó en el 5,6% de la población, mientras que VPH18 se detectó sólo en el 1,6%(247).

ASIA

Asia tiene una población de 1,528 millones de mujeres con más de 15 años de edad. Cada año se diagnostican 248.823 casos de cáncer cervical y 144,434 mujeres morirán por la enfermedad cada año, constituyendo el tercer cáncer más frecuente de esta área geográfica(248), (249). La mitad de los casos de cáncer de cuello uterino en el mundo se diagnostican en Asia, pero la distribución es heterogénea, probablemente debido a las amplias diversidades geográficas y culturales (7). Por ejemplo la prevalencia del VPH en mujeres con citología normal fue alta en Japón y Rusia, pero no en China o la India, donde la prevalencia era sólo intermedia, o en Tailandia y Vietnam, donde el número de infecciones fue el más bajo. La prevalencia específica por edad en mujeres sanas osciló entre el 33% para las mujeres menores de 25 años y un 13% entre las mujeres de edades comprendidas entre 45 y 54. Así mismo la prevalencia era muy alta entre las adolescentes para luego disminuir lentamente hasta los 45-54 años de edad, y elevarse significativamente de nuevo al 21% entre las mujeres de más de 55 años. El VPH16 fue el tipo más frecuente entre las mujeres con histología cervical normal pero otros genotipos comunes fueron el VPH52, VPH58, VPH31 y VPH32. Es de destacar que Asia oriental (Corea del Sur, Japón y Tailandia) tenían la menor contribución de VPH16 en comparación con las otras regiones de Asia. En Corea del Sur los tipos de VPH más frecuentes fueron el VPH70 y el VPH33 con el 1,34 % y el 0,85 % respectivamente, frente al 0,24 % delVPH16. En Japón y en Tailandia los tipos de VPH más frecuentes fueron VPH52 y VPH72 con el 6,4 % y 0,78 %, respectivamente, frente al 4,1 % y el 0,48 % de VPH16. Además sólo el 0,6 % de las mujeres con la histología cervical normal dio positivo para VPH18, más común en los países occidentales,(7), (170), (250),(251),(252),(253),(254),(255),(256),(257),(258),(259),(260),

(261),(262),(263),(264),(265),(266), (267). Los principales estudios poblacionales llevados a cabo en Asia se describen en la Tabla 6.

Tabla6. Prevalencia tipo específica y global de los genotipos de alto riesgo de VPH en Asia.

País (Referencia)	Rango de edad	N	Primers	VPH-AR (%)	16 (%)	18 (%)	31 (%)	33 (%)	35 (%)	39 (%)	45 (%)	51 (%)	52 (%)	53(%)	56 (%)	58 (%)	59 (%)
China(267)	15-59	685	GP5+/6+ PCR,	8.7	2.1	0.6	0.9	0.8	0.3	0.8	0.5	0.3	2.1	-	0.6	1.1	0.9
			DNA chip														
Japón(268)	17-73	1517	Hibridación reversa, Captura	14.6	2.63	1.25	0.26	0.52	0.1	0.7	0	2.63	2.1	-	1.3	1.4	1
Corea del Sur(285)	15-69	821	GP5+/6+ PCR	4.4	0.24	0.12	0	0.85	0	0.37	0.12	0.12	0.12	0.37	0.37	0.24	0.12
Vietnam(269)	15-69	1878	GP5+/6+ PCR	-	1.18	3.68	0	0	0.52	0	0	0.13	0.65	0.13	0	0.8	0.13
Tailandia(270)	15-65	1292	GP5_/6_ PCR	2.9	0.48	0.24	0.12	0	0	0.18	0	0.24	0.18	0	0.24	0.1	0.06

4.2 Prevalencia del VPHpor edades

La curva de la prevalencia específica por edad correspondiente a la infección por VPH de cuello uterino, en función de la presencia de ADN viral, se rige por las conductas sexuales de la población que se estudie en cada momento(268). Así, en algunas poblaciones, las prevalencias específicas por edad disminuyen bruscamente y alcanzan niveles muy bajos en las edades más avanzadas de la vida, lo que es consistente con el aclaramiento viral, así como la menor incidencia en edades más avanzadas. Sin embargo, en las poblaciones de la India (269) y África subsahariana(270), la prevalencia de VPH nunca disminuye de forma significativa. Sin embargo en otras poblaciones, especialmente en América Latina la curva por edades tiende a subir de nuevo a edades intermedias, disponiéndose en un patrón bimodal (79). Las tasas de incidencia de cáncer cervical invasivo tienden a alcanzar su punto máximo alrededor de 20 a 25 años después de la edad máxima para la prevalencia de la infección por VPH y la incidencia de picos de CIN se encuentra en el punto medio, (1), (169).

Se ha sugerido que los cambios secundarios a la menopausia conducen a una depresión del sistema inmune, lo que favorece la reactivación de infecciones silentes por VPH. Así mismo, se ha sugerido que cambios en las conductas sexuales de las mujeres de edad media y sus parejas, favorecen nuevas infecciones (8). Gracias a los programas de cribado sobre mujeres mayores de 40 años, este segundo pico de incidencia desaparece en aquellas regiones donde están implementados y funcionales, sobre todo en Europa y América del Norte (169). El cribado citológico no solo reduce las infecciones persistentes, si no que el tratamiento de lesiones precancerosas y la respuesta inflamatoria asociada pueden funcionar como un factor desencadenante de la respuesta inmunológica contra el VPH (271). Así pues el incremento de la prevalencia de la infección por VPH en mujeres de edad media, puede ser el resultado de la interacción de factores individuales y víricas, así como de la historia de estudios citológicos de la mujer (169).

Son numerosos los estudios, sobre todo en Europa que demuestran un claro descenso en la prevalencia de la infección por grupos de edad(76), (131), (272), (273), (274), (275). No obstante, al comparar los estudios se pone de manifiesto que la forma de descenso de la prevalencia de las infecciones varía entre países, de forma más acusada al observar las infecciones por genotipos de alto riesgo. Las prevalencias más altas se encontraron entre las mujeres más jóvenes en todos los países, excepto en Polonia (272).

5. Impactode la infección por VPHen España.

España tiene una población de 20,24 millones de mujeres de más de 15 años. Las estimaciones actuales indican que cada año 2.511 mujeres son diagnosticadas con cáncer de cuello uterino y 848 mueren de la enfermedad. El cáncer cervical es el décimo cáncer más frecuente entre mujeres y el segundo cáncer más frecuente entre las mujeres de 15 y 44 años. Cerca del 10.7% de las mujeres serán infectadas por VPH en algún momento de su vida. El 57,4% de los cánceres cervicales invasivos se atribuyen a los tipos VPH16 o VPH18 (276), (277).

Los estudios llevados a cabo en España se realizaron en diferentes poblaciones y con modelos de muestreo diferentes por lo que hay que tener en cuenta los posibles sesgos a la hora de su interpretación y generalización.

Uno de los primeros trabajos publicados en España sobre la epidemiología del VPH fue el de Múgica-Van Herckenrode y cols.(278) en 1992, donde realizan un estudio sobre la prevalencia del VPH en el País Vasco, encontrando una prevalencia de VPH de alto riesgo del 17% en 1.178 mujeres con citologías normales, siendo los tipos 16 y 18 los más frecuentes. Muñoz y cols.(279)publican en 1996 los resultados encontrados sobre una población de 810 mujeres con citología normal y que acudían a un centro sanitario en España, Colombia, y Brasil. La prevalencia total de VPH fue del 10,5 %, siendo más alta en las zonas de mayor incidencia de cáncer cervical (17% Brasil y 13% Colombia) que en España (4,9%). En 2003, De Sanjoséy cols.(280) realizan un estudio de base poblacional con una muestra de 973 mujeres del área metropolitana de Barcelona donde se estima una prevalencia de VPH en la población general del 3,4%; siendo una de las más bajas de Europa publicadas hasta ese momento, pero en concordancia con las bajas tasas de cáncer cervical del país. La prevalencia de VPH era más alta en las mujeres más jóvenes (7% en menores de 25 años frente a 3% en mujeres de 25-34años) aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística. Sin embargo si se identificó un descenso de la prevalencia de la infección, con el aumento de la edad, aspecto ampliamente descrito en la literatura. Estos autores identificaron el VPH16 como el más frecuente (20,7%), seguido por las infecciones múltiples por 31 y 51(13,8%) y del VPH51 (10,3%).

Font y cols.(281), en 2004, encontraron una prevalencia de entre el 8,3% y el 9,2% entre 1.383 mujeres atendidas de forma consecutivaen 11 centros de planificación familiar del área metropolitana de Barcelona y seguidas durante tres años. Estos autores también

identifican el descenso de la prevalencia de infección con el aumento de la edad de las pacientes.

Puig y cols.(282), en 2005, encuentran una prevalencia del 10,6% de infección por VPH en 298 mujeres de Zaragoza. En este trabajo se excluyó a las mujeres con citología anormal en los 6 meses previos a la inclusión en el estudio.

Para conocer la incidencia de la infección por VPH es preciso realizar estudios de cohortes, que también permiten establecer la persistencia y el aclaramiento de las mismas. Dada su dificultad, existe un menor número de trabajos de este tipo. De nuevo, el muestreo en estas poblaciones puede ser probabilístico y de base poblacional, lo que añade mayor dificultad y restringe todavía más el número de trabajos. La mayoría de los trabajos han utilizado muestras de conveniencia desde dispositivos tanto sanitarios como universitarios que han permitido seguir a las mujeres a lo largo del tiempo.

Apenas existen estudios de seguimiento que permitan estimar tanto la incidencia como la tasa de aclaramiento en mujeres en España. Font y cols.(281)describen una incidencia de nuevas infecciones del 2% anual a lo largo de un seguimiento de 3 años. El 50% de las mujeres VPH positivas al inicio del estudio, aclaró su infección a los 367 días. González y cols.(283), describen una incidencia anual de 3 por 100 mujeres-año (IC 95%:2,04-4,46) y una tasa de aclaramiento similar a la de Font y cols.(281).

Entre junio de 2007 y mayo de 2008 se llevó a cabo en diecisiete comunidades autónomas el estudio epidemiológico de base poblacional CLEOPATRE, liderado por el Dr. Castellsagué, publicado en el año 2012(153). El objetivo de este trabajo fue estimar la prevalencia global y estratificada por edades de la infección de cérvix por VPH y sus genotipos más frecuentes. Los resultados demostraron un inicio temprano en las primeras relaciones sexuales y un mayor número de compañeros sexuales en las mujeres más jóvenes comparado con las mujeres de mayor edad. Se estimó que la prevalencia de infección por VPH era del 14,3%. Por grupos de edad estas prevalencias difieren sustancialmente, afectando al 29% de las mujeres de 18 a 25 años y del 7%en mujeres de 56-65 años.Por genotipos, la prevalencia del VPH de tipos de alto riesgo se estimó en un 12,2%, siendo mucho más frecuente en las mujeres jóvenes (25%) que en las de mayor edad (5,7%).El VPH16 fue el genotipo de alto riesgo más frecuente (2,9%), seguido del VPH52 (1,8%) y del VPH51 (1,6%). El VPH18 tuvo una prevalencia del 0,5%. Respecto a los tipos de bajo riesgo, el VPH6 y el VPH11 (0,4% y 0,3% respectivamente) fueron los más frecuentes.

El estudio realizado en 2009 por el Dr. Lacruz(284)revela datos similares, aunque sobre muestra histológicas. Se identificó un 83% de casos positivos para uno o varios tipos de VPH de alto riesgo, un 14% de casospositivos para uno o varios tipos de VPH de bajo riesgo y un 3% mostraron coinfección por genotipos de alto y bajo riesgo. La distribución ordenada de tipos de alto riesgo fue la siguiente:VPH16 (34%), VPH31 (12%), VPH58 (10%), VPH33 (8%), VPH52 (8%), VPH18 (7%), VPH66 (6%), VPH53(6%), VPH56(3%), VPH39 (2%), VPH45(2%), VPH68 (2%), VPH59 (2%), VPH51 (0,60%) y VPH35 (0,60%).

García-Garcíay cols.(285), en el años 2010, describen una distribución similar, ocupando los primeros puestos de los genotipos de alto riesgo el 16 (39,5%), seguido del 31 (8,5%), 18 (8,1%), 56 (6,0%), 53 (4,1%), 33 (3,9%), 66 (3,7%), 58 (3,1%), 45 (2,3%), 52 (1,4%) y los de bajo riesgo el 11 (5,0%), 6 (4,7%), 54 (4,4%) y 81 (3,0%). Por diagnósticos citológicos encontraron que en las citologías diagnosticadas de H-SIL los genotipos más frecuentes fueron el 16, 31, 33, 18, 56, 58, 53, 45, 66, 73, 52, 35 y 68. Entre las citologías diagnosticadas de L-SIL, la distribución fue discretamente diferente siendo los genotipos más frecuentes el 16, 18, 56, 31, 53, 66, 33, 52, 58, 45, 59, 35, 39, 73, 51 y 82. Las distribuciones fueron siempre significativas. Estos datos son similares a los encontrados por Gomez-Román y cols.(286)un año antes, en su publicación centrada en Burgos, León y Santander.

Delgado y cols.(287) estudiaron la prevalencia de la infección por VPH en 106 mujeres del País Vasco con citologías anormales, encontrando una prevalencia de infección del 69,8% con una prevalencia de genotipos de alto riesgo del 94,3%. El genotipo más frecuente fue el VPH16 seguido del VPH51, 53 y 42, 52, 39, 18 y 58 y finalmente el 66. Identificaron una coinfección del 58%.

En el año 2012 se publicaron los datos epidemiológicos de prevalencia de infección por VPH en la Comunidad de Galicia (288). La prevalencia global de infección por VPH de alto riesgo fue del 10,1%, disminuyendo a partir de los 30 años de vida. En el análisis de los genotipos encontrados, el VPH16 fue el más común en todos los grupos de edad con una prevalencia del 3,5%, seguido del 51 con un 1,5%.

La prevalencia de infección en España por VPH es alta, 14,3%, aumentando al 29% en las mujeres jóvenes de 18-25 años. El VPH16 y los VPH6 y 11 son los tipos de alto y bajo riesgo más frecuentemente encontrados.

El estudio vírico de las muestras de cáncer invasivo confirma la existencia de un patrón similar al de países de nuestro entorno con el genotipo 16 como gran protagonista en los

cánceres escamosos y tanto 16 como el 18 en los adenocarcinomas.En cuanto a la distribución de genotipos encontrados en los cánceres invasores de cuello uterino, escamosos y adenocarcinomas, Alemany y cols.(289) encontraron por orden de frecuencia los genotipos 16, 18, 33, 31, 45, 35, 52 y 56, representando la suma de los dos primeros el 72,4% de todos los positivos, aumentando hasta el 94% al considerar exclusivamente los casos de carcinoma invasor.

El estudio más amplio llevado a cabo hasta la fecha, es también el más reciente, realizado por Sanjosé y cols.(290). En este trabajo se evalúan 758.690 citologías de 598.868 mujeres entre los años 2008 y 2011, resultando en 2,2% de citologías anómalas y una prevalencia de infección del 6,7%.

Respecto a los estudios previos sobre la comunidad extremeña tan sólo se encuentra la aportación de Ortiz y cols.(167)en el año 1993 con referencia a la epidemiología del cáncer de cuello de cérvix, sobre una población elegida al azar de 4.262 mujeres de las 7.222 atendidas hasta el momento del estudio. Estos autores encontraron una prevalenciadel carcinoma de cérvix de 0,938 por 1000 mujeres mayores de 20 años o menores con actividad sexual, una frecuencia de lesiones premalignas del 38,2% y de lesiones premalignas y/o cáncer del 39,2%.

La población extremeña aportada al estudio CLEOPATRE fue de 92 mujeres, con una prevalencia estandarizada por edades, de infección por VPH aproximada del 15%.

Tabla 7. Principales publicaciones sobre población española.

Autores	Muestreo y ámbito	N	Técnica diagnóstica	Prevalencia VPH	Tipos más frecuentes
Múgica-Van Herckenrode et al, 1992(278)	Mujeres con citología normal en CPF1 País Vasco	1.178	Slot-blot hybridization y PCR	17%	6, 11, 16, 18
Muñoz et al, 1996(279)	Mujeres con citología normal en centro sanitario en 9 provincias españolas	810	PCR	4,90%	ND
De Sanjosé et al, 2003(280)	Muestreo aleatorio de población general de Barcelona	973	PCR	3%	16, 31, 35

Font et al, 2004 (281)	Muestreo sistemático de CPF1 Barcelona	1.383	CH2 yPCR	8,3-9,2%	ND
Puig et al, 2005 (282)	Muestreo consecutivo en centros de diagnóstico precoz de cáncer de cervix y consulta de anticoncepción en Zaragoza	298	PCR	10,60%	ND
Castellsagué et al, 2012(153)	17 CC.AA. de España	3.261	HC2 y INNO-LiPA test	14,30%	16, 51, 52, 31
Lacruz et al, 2009(284)	Madrid. Muestras tisulares con lesión citológica y determinación vírica	1.026	PCR	-	16, 31, 58, 33
García-García et al, 2010(285)	Muestras consecutivas con alteraciones citológicas	974	PCR	-	16, 31, 18, 56
Boletín Epidemiológico de Galicia, 2012(288)	Galicia	1.703	Amplicor HPV y Linear array HPV genotyping system	10,10%	16, 51, 52, 31
Sanjosé et al. 2015 (290)	Cataluña. Cribado desde 2008 a 2011	595.868	HC2	6,7%	ND

OBJETIVOS

IV. OBJETIVOS

1. Detallar la población de estudios citológicos ginecológicos de la Comunidad de Extremadura.

2. Analizar los porcentajes de atipias y lesiones escamosas

3. Analizar los porcentajes de atipias y lesiones escamosas por grupos etarios.

4. Estudio de la prevalencia del virus del papiloma humano.

5. Estudio de progresión, persistencia y regresión de las lesiones escamosas y aclaramiento del virus del papiloma humano.

MATERIAL Y MÉTODO

V. MATERIAL Y MÉTODO

1. Planteamiento metodológico

Se ha realizado unestudio observacional, descriptivo y transversal

2. Población de estudio

Nuestro estudio comprende la población de mujeres extremeñas que han participado en el plan de cribado oportunista para la detección precoz del cáncer de cérvix entre los años 2002 y 2013, estudio centralizado en el Servicio de Anatomía Patológica del Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz (CHUB). En este centro se recogen las muestras generadas en las ocho Áreas de Salud de Extremadura y procedentes de centros hospitalarios, centros de salud y centros de orientación y planificación familiar (COPF). Nos propusimos extraer del total de citologías ginecológicas informadas y registradas en el sistema de gestión informática del complejo hospitalario, durante este período, la información necesaria para determinar la prevalencia de infección por VPH y su distribución genotípica en Extremadura.

Todos los estudios citológicos fueron realizados sobre citología líquida y los estudios moleculares para detección del virus del papillomavirus se realizó siguiendo la metodología del *VPHDirect Flow CHIP*®.Se realizaron estudios de identificación del VPH al 2,31% de las citologías negativas para lesión epitelial, al 87,94 % de los ASC-US, al 60,85% de los L-SIL, al 84,19% de los ASC-H, al 68,94% de los H-SIL y al 61% de los carcinomas escamosos.Ambosestudios se llevaron a cabo por el personal del CHUB con los criterios de control de calidad establecidos

Dado que la mayoría de los estudios moleculares de las mujeres sin lesión epitelial se realizaron como seguimiento de patologías previas o de sospecha, se obtuvo una población de 596 mujeres consecutivas sin lesiones escamosas y sin antecedentes ginecológicos para la estimación de la prevalencia de infección por VPH en la población de mujeres extremeñas no vacunadas contra el virus.

2.1. Criterios de inclusión

Se incluyeron todas las citologías diagnosticadas entre 2002 y 2013 con el fin de cuantificar los diagnósticos citológicos realizados y su distribución por Áreas de Salud.
Se incluyeron las mujeres de entre 15 y 75 años, que no habían sido vacunadas contra el VPH, tomando como punto de corte para los estudios estadísticos la primera citología valorable de cada mujer.
La estimación de la prevalencia en mujeres sin lesiones citológicas se realizó sobre una población de 596 mujeres sin antecedentes ginecológicos.

2.2. Criterios de exclusión

Se excluyeron las mujeres con un estudio citológico inicial no valorable, las que fueron registradas con edades extremas, las diagnosticadas con lesiones glandulares en lugar de epiteliales y los seguimientos de carcinomas escamosos o adenocarcinomas.

3. Protocolo de estudio

Se realizaron tomas citológicas bien con espátula o cepillo para posteriormente lavarlas en un medio líquido fijador(PreservCyt®, Cytyc, CytycCorporation, Massachussetts) donde se conservan y transportan las muestras una vez identificadas. Este medio permite la conservación de las células en su estado natural hasta 5 semanas a temperatura ambiente y hasta 1 año a 4-8º C.Estas muestras se procesan en el laboratorio de anatomía patológica en una aparato semiautomáticio (ThinPrep 3000®). La obtención de preparaciones se basa en 3 fases: dispersión de la muestra, recolección de ésta en un filtro y transferencia a un portaobjetos. El resultado final es un círculo de 20 mm de diámetro con células distribuidas en monocapa y bien conservadas sobre el portaobjetos.

La muestra se coloca en el sistema de lectura ThinPrep® que realiza una revisión de todo el portaobjetos y selecciona 22 campos de visión con mayor probabilidad de presentar anomalías. Estos campos de visión se presentan en un microscopio de cribado automatizado con una platina motorizada que facilita la revisión de los 22 campos, para que sea revisado por el citotécnico. Si se detecta alguna anomalía en alguno de los 22 campos, debe realizarse la revisión completa de toda la muestra. Los resultados citológicos

se clasificaron según la terminología de Bethesda 2001 (43). Todos los casos positivos y el 10% de los negativos, son revisados por un patólogo del equipo.

El 4,25% del total de citologías examinadas, fueron estudiadas para identificación de VPH, mediante el *VPHDirectFlow CHIP*®, que incluye una PCR [GP5 + / GP6 +], hibridación inversa automática dotblot y *read-out*. Un fragmento adicional (268 pb) del gen de la beta-globina es co-amplificado durante la PCR múltiple para asegurar la calidad del material de partida. La amplificación del VPH se realiza mediante PCR directa a partir de extractos de células cruda, siguiendo las instrucciones del fabricante (Master Diagnostica®, Granada, España)(163).

Los genotipos del VPH se clasifican atendiendo a su capacidad oncogénica demostrada, en genotipos de alto y bajo riesgo. Los genotipos de bajo riesgo se relacionan con lesiones benignas del tipo de las verrugas y según la última convención aceptada son el 6, 11, 42, 62, 81, 44, 45, 54, 43, 67, 89, 40, 61, 84, 70, 69, 72 y 71. Los genotipos de alto riesgo se relacionan con lesiones precursoras de carcinoma y son: 16, 31, 53, 66, 52, 21, 58, 18, 56, 33, 39, 59, 68, 45, 35, 73, 82 y 26 (6).

Mediante *VPH DirectFlow CHIP*®, se identifican 36 genotipos del VPH, 18 de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82) y 18 de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 55, 61, 62, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 84 y 89).

Por cuestiones técnicas, la secuenciación de los genotipos 62 y 81, y 44 y 45, quedan muy próximos entre si, de tal forma que el sistema utilizado para la identificación en este estudio (Direct Flow Chip®), no es capaz de separarlos, por lo que se incluyen en conjunto: VPH 62/81 y VPH44/45.

4. Control de calidad

Se realiza un control de calidad interno sobre el 10% de las citologíasno patológicas elegidas aleatoriamente yse revisa la totalidad de las muestras positivas. Se aplican los parámetros de monitorización para el control de calidad del Servicio de anatomía patológica ya comentados (144-152).

5. Estudio epidemiológico

Se estimó la prevalencia puntual de la infección por VPH, definida como la probabilidad de una mujer de estar infectada en un momento dado, considerando el inicio del cribado de cada mujer como ese momento en concreto. Cuando fue preciso se establecieron intervalos de confianza del 95%.

Cuando se han ajustado las tasas por edad se ha tomado como referencia a la población estándar de 2010 propuesta por EUROSTAT (13).

6. Análisis estadístico

Se ha realizado un estudio observacional, descriptivo y transversal

Los datos del estudio proceden del sistemade registro y gestión informático del Servicio de Anatomía Patológica, VitroPath®.
Atendiendo a la naturaleza de la variable, así como a su posible relación con la variables principales (lesión histológica e infección por VPH), éstas se pueden clasificar en (Tabla 8):

Variables demográficas: Áreas de salud, centro de origen, edad.
Variables diagnósticas: resultado citológico, resultado del estudio molecular

Tabla 8. Características de las variables de estudio.

Variable	Carácter	Definición conceptual	Definición operativa
Edad de diagnóstico	Cuantitativa	Edad expresada en años cumplidos	De 15 a 75 años
Grupos de Edad	Cualitativa	Grupos de Edad	15-24, 25-34, 35-44, 45-54, 55-65, 66-75
Área de Salud	Cualitativa	Procedencia según Áreas de Salud	Badajoz, Cáceres, Mérida, Don Benito-Villanueva de la Serena, Navalmoral de la Mata, Llerena-Zafra, Plasencia, Coria, No consta
Centro de origen	Cualitativa	Procedencia según centro de origen de la muestra citológica	Hospital, Centro de Salud, Centro de orientación y planificación familiar, No consta
Diagnóstico citológico	Cualitativa	Disgnóstico citológico según criterios de Bethesda(12)	NLIM, ASC-US, L-SIL, ASC.H, H-SIL, Carcinoma escamoso, ACG, adenocarcinoma, no valorable
Diagnóstico citológico	Cualitativa	Lesiones citológicas agrupadas	Lesiones de bajo grado, lesiones de alto grado
Estudio de PCR	Cualitativa	Resultado del estudio molecular	VPH positivo, VPH negativo
Genotipos	Cualitativa	Resultado genotípico del estudio molecular	Presencia o no de uno de los 32 genotipos estudiados
Genotipos agrupados	Cualitativa	Resultado genotípico del estudio molecular según potencial oncogénico	Genotipos de alto riesgo, genotipos de bajo riesgo
Genotipos agrupados	Cualitativa	Resultado genotípico del estudio molecular según número de	Infecciones únicas, infecciones múltiples

En el análisis estadístico se ha llevado a cabo mediante pruebas descriptivas e inferenciales usando el paquete estadístico SPSS®, edición 21 para mac y el programa libre para el análisis estadístico y epidemiológico de datos, Epidat®.Para calcular el Riesgo Relativo (RR) que supone la infección por VPH para desarrollar alguna de las lesiones epiteliales se empleó MedCalc, versión web 14.12.0 (MedCalc Software, Ostend, Belgium).

Cuando se necesitó calcular un tamaño muestral adecuado para el estudio de la prevalencia de infecciones por VPH en mujeres sin lesiones citológicas ni antecedentes ginecológicos, se recurrió al programa Epidat®, estimando una prevalencia media según publicaciones del 10%, con un intervalo de confianza del 95% y una precisión entre el 2 y el 3%.

La estadística descriptiva para la edad, única variable continua del estudio, ha incluido la media aritmética como medida de centralización y la desviación típica, el error típico y el intervalo de confianza (IC) al 95% como medidas de dispersión.

Puesto que los tamaños muestrales son suficientemente grandes, se asume la distribución normal de los parámetros, por lo que se ha hecho uso de pruebas paramétricas. Se usó la T de Student para la comparación de medias entre dos poblaciones. En caso de no cumplirse la normalidad, se lleva a cabo el contraste de hipótesis para dos muestra independientes mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney.
Para la comparación global de medias de varios grupos se usó el análisis de la varianza de una vía (ANOVA) y cuando éste resultó significativo, se efectuó una comparación múltiple entre los grupos, con objeto de detectar el origen de las diferencias, mediante el método de Scheffé. Cuando no se constata homogeneidad de las varianzas se aplica el test no paramétrico de Kruskall-Wallis para determinar si existen diferencias entre los diferentes grupos. Se han realizan comparaciones utilizando el procedimiento de Dunn (1964) con la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Para las variables cualitativas, expresadas en porcentajes, se han estudiado mediante tablas de contingencia, utilizando la prueba de Chi-cuadrado de Pearson. Cuando más del 20% de las casillas contenían valores menores del 5%, se empleó el método exacto de Fisher para el cálculo de la p de significación.

Se emplearon las curvas de supervivencia de Kaplan- Meyer como método de identificación de los tiempos (en años) de regresión, persistencia y progresión de las mujeres diagnosticadas con L-SIL. Se consideraron casos censurados los perdidos durante el periodo de estudio o aquellos que no tenían el evento buscado en cada momento.

Para calcular el Riesgo Relativo (RR) que supone la infección por VPH para el desarrollo de los distintos estadios evolutivos de las lesiones escamosas cervicales se empleó la herramienta web MedCalc, versión 14.12.0 (MedCalc Software, Ostend, Belgium).

7. Referencias bibliográficas

En el presente trabajo se han gestionado las referencias bibliográficas con Zotero, gestor libre, gratuito y abierto desarrollado por el *Center forHistory and New Media* de la *George MaisonUniversity*. Las referencias bibliográficas se presentan siguiendo las Normas de Vancouver(291).

RESULTADOS

VI. RESULTADOS

1.Estudio sobre citologías

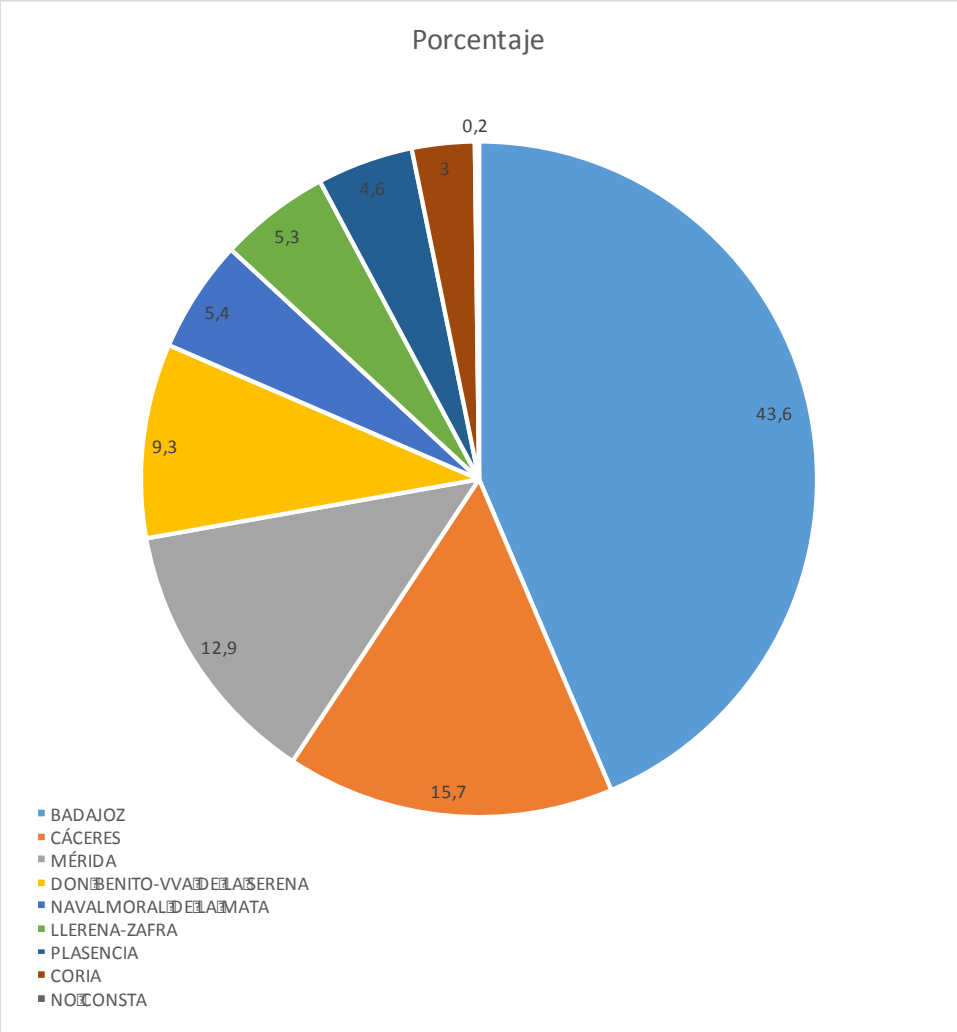
Enel presente estudio se incluyen 355.938 citologías, que supone la totalidad de las citologías llevadas a cabo en el plan de cribado oportunista de la Comunidad extremeña entre los años 2002 y 2013. Este número de citologías corresponden a un total de 173.841 mujeres. Considerando que la población media de mujeres mayores de 15 años en Extremadura, durante ese mismo periodo de tiempo fue de 470.891 de un total de 549.604, se puede afirmar que se ha muestreado al 36,91% de la población diana.

La mayor proporción de citologías proceden del Área Salud de Badajoz, seguida de la de Cáceres. Entre ambas Áreas se cubre el 42,85% de la población de mujeres extremeñas (Tabla 9y Gráfica 2).

Tabla 9. Porcentaje de citologías por Áreas de Salud e intervalos de confianza al 95%.

Área de Salud	Porcentaje	IC 95%
BADAJOZ	43,575%	43,412-43,738
CÁCERES	15,704%	14,584-15,823
MÉRIDA	12,904%	12,793-13,014
DON BENITO-VVA DE LA SERENA	9,312%	9,217-9,408
NAVALMORAL DE LA MATA	5,427%	5,353-5,502
LLERENA-ZAFRA	5,312%	5,238-5,386
PLASENCIA	4,572%	4,503-4,641
CORIA	2,981%	2,925-3,037
NO CONSTA	0,199%	0,184-0,214

Gráfica 2. Porcentaje de citologías según Área Salud.

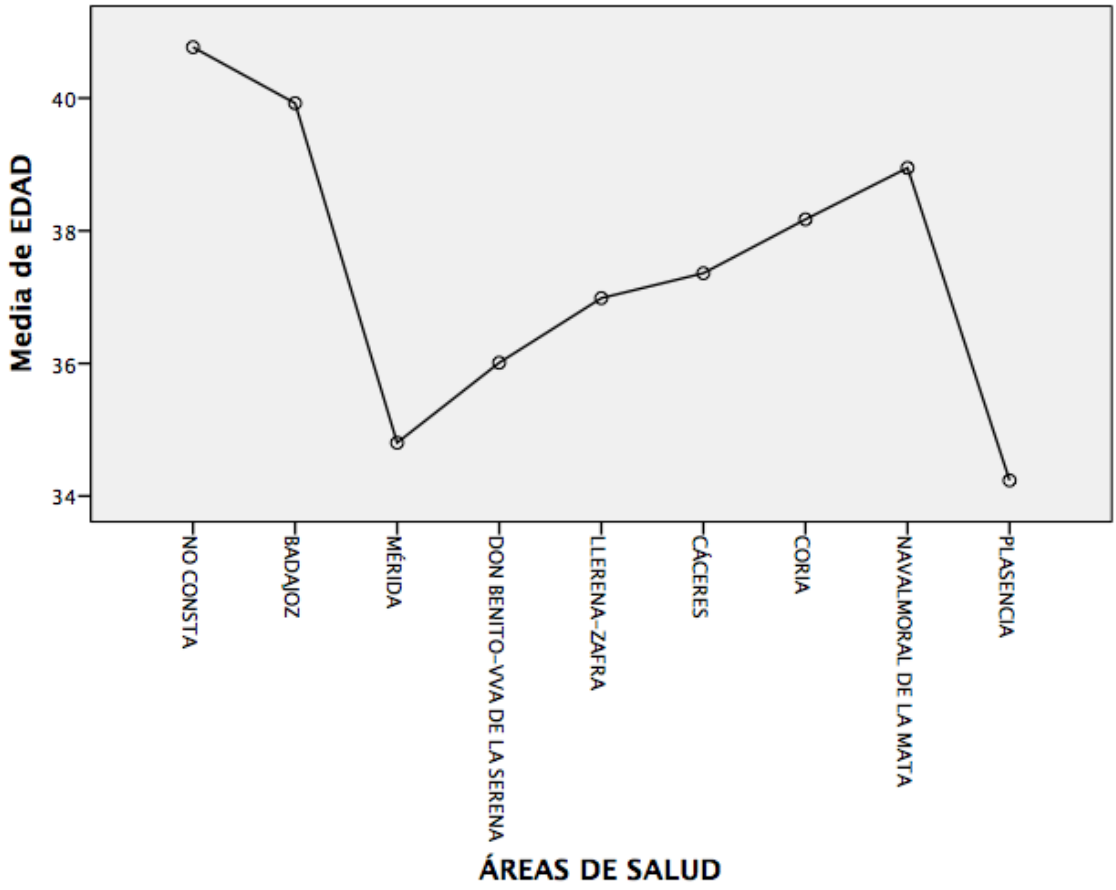


La edad media del total de mujeres incluidas en el cribado fue de 37,98 años (DS: 11,78, error típico: 0,02; IC al 95%: 37,94-38,01). La mayor edad media provino de las citologías de las mujeres procedentes de Badajoz y las de menor edad media de las procedentes de Plasencia (Tabla 10, Gráfica 3). Existe diferencia estadísticamente significativa entre la edad media de las mujeres procedentes de las distintas Áreas de Salud, Chi-cuadrado de 9631,320 y p<0,001 y ocho grados de libertad en la prueba de Kruskal-Wallis. En los análisis post-hoc se ha encontrado diferencia significativa al comparar todos los grupos con una p<0,01. No se emplea el ANOVA de una vía por encontrar un estadístico de Levene con un valor de p<0,001 (no se cumplen los criterios de homogeneidad de las varianzas) (Tabla 10 y Gráfica 3).

Tabla 10. Edad media de las mujeres incluidas en el cribado, según Área de Salud de procedencia (IC al 95%, límites inferior y superior).

ÁREAS DE SALUD	Casos	Media	Desviación típica	Error típico	Límite inferior	Límite superior
NO CONSTA	689	40,77	12,064	0,46	39,87	41,67
BADAJOZ	151886	39,92	12,291	0,032	39,86	39,99
NAVALMORAL DE LA MATA	19070	38,95	11,389	0,082	38,79	39,11
CORIA	10394	38,17	12,705	0,125	37,93	38,42
CÁCERES	55282	37,36	11,758	0,05	37,26	37,46
LLERENA-ZAFRA	18291	36,98	11,435	0,085	36,82	37,15
DON BENITO-VVA DE LA SERENA	32575	36,01	10,282	0,057	35,9	36,12
MÉRIDA	44847	34,8	10,326	0,049	34,71	34,9
PLASENCIA	16043	34,24	9,866	0,078	34,08	34,39
Total	349077	37,98	11,782	0,02	37,94	38,01

Gráfica 3. Representación gráfica de las edades medias de las mujeres incluidas en el cribado, según Área de procedencia



La mayor proporción de citologías provenientes de Badajoz, Don Benito-Villanueva, Llerena-Zafra, Cáceres, Coria y Navalmoral de la Mata pertenecieron a mujeres comprendidas entre los 35 y 44 años, mientras que en Mérida y Plasencia la mayor proporción de citologías procedían de mujeres de entre 25 y 34 años(Tabla 10). Esta distribución por grupos de edad, también resulta significativa (Chi-cuadrado de Pearson de 11514,750, con 40 grados de libertad y p<0,001) (Tabla 11).

Tabla 11. Distribución por grupos de edad del total de mujeres incluidas en el cribado según Área de Salud.

Áreas de Salud	15-24	25-34	35-44	45-54	55-65	66-75
NO CONSTA	10,90%	21,80%	27,50%	26,20%	12,90%	0,70%
BADAJOZ	10,90%	25,80%	28,30%	23,00%	10,00%	2,10%
MÉRIDA	17,30%	34,70%	30,50%	13,40%	3,60%	0,50%
DON BENITO-VVA DE LA SERENA	14,90%	30,80%	33,70%	16,20%	4,20%	0,20%
LLERENA-ZAFRA	16,00%	27,60%	31,70%	18,00%	5,60%	1,10%
CÁCERES	16,00%	27,70%	28,60%	19,80%	6,80%	1,10%
CORIA	17,20%	24,50%	25,90%	20,60%	10,80%	1,00%
NAVALMORAL DE LA MATA	11,80%	25,60%	29,60%	23,40%	9,20%	0,30%
PLASENCIA	18,50%	35,30%	30,70%	12,50%	3,00%	0,10%
Total	13,70%	28,20%	29,40%	19,80%	7,60%	1,30%

Según el centro de origen de las citologías, el mayor porcentaje (70,1%) se origina en los Centros de Planificación Familiar (Gráfica 4 y Tabla 12).

Gráfica 4. Distribución de citologías según centro de origen

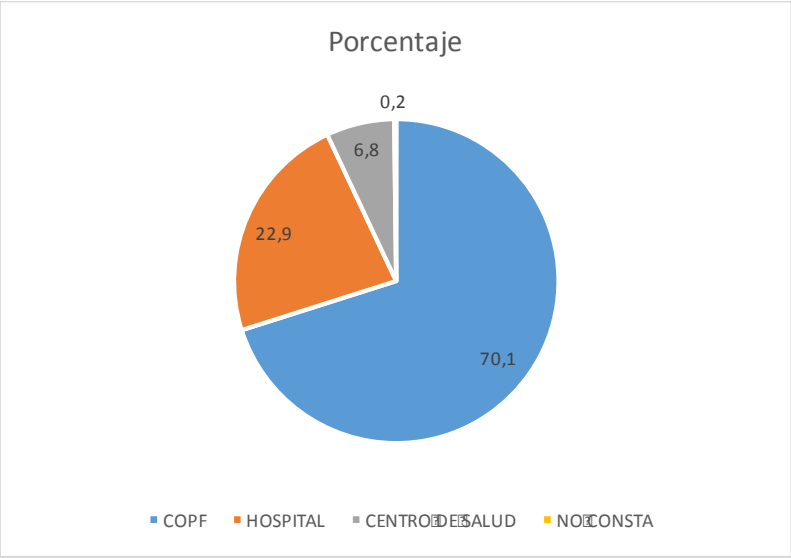


Tabla 12. Porcentaje de citologías por centro de origen e intervalos de confianza al 95%.

CENTRO DE ORIGEN	Porcentaje	IC 95%
COPF	70,104	69,953-70-254
HOSPITAL	22,922	22,784-23060
CENTRO DE SALUD	6,775	6,692-6,857
NO CONSTA	0,199	0,184-0,214

El 99,95% (IC 95%: 99,94-99,97)de las citologías procedentes de hospitales se originan en Badajoz. También se originan en Badajoz el 93,11% (IC 95%: 92,78-943) de las citologías procedentes de Centros de Salud. El mayor porcentaje, el 22,4% (IC 95%: 22,23-22,56) de las citologías procedentes de los Centros de Planificación Familiar se originan en Cáceres. En el Área de Salud de Badajoz el 52,58% (IC 95%: 52,33-52,81)de las citologías proceden de hospitales, el 14,47% (IC 95%: 14,3-14,65) de Centros de Salud y el 32,94% (IC 95%: 32,7-33,17) de Centros de Planificación Familiar. Del resto de Áreas de Salud, entre el 97,9% y el 100% de las citologías proceden de los COPF (Tabla 13 y Tabla 14). Existe significación estadística al comparar el centro de origen de las citologías por Áreas de Salud (Chi-cuadrado de Pearson de 183.825,65, con 14 grados de libertad y p<0,001).

Tabla 13. Aportación de citologías por Áreas de Salud

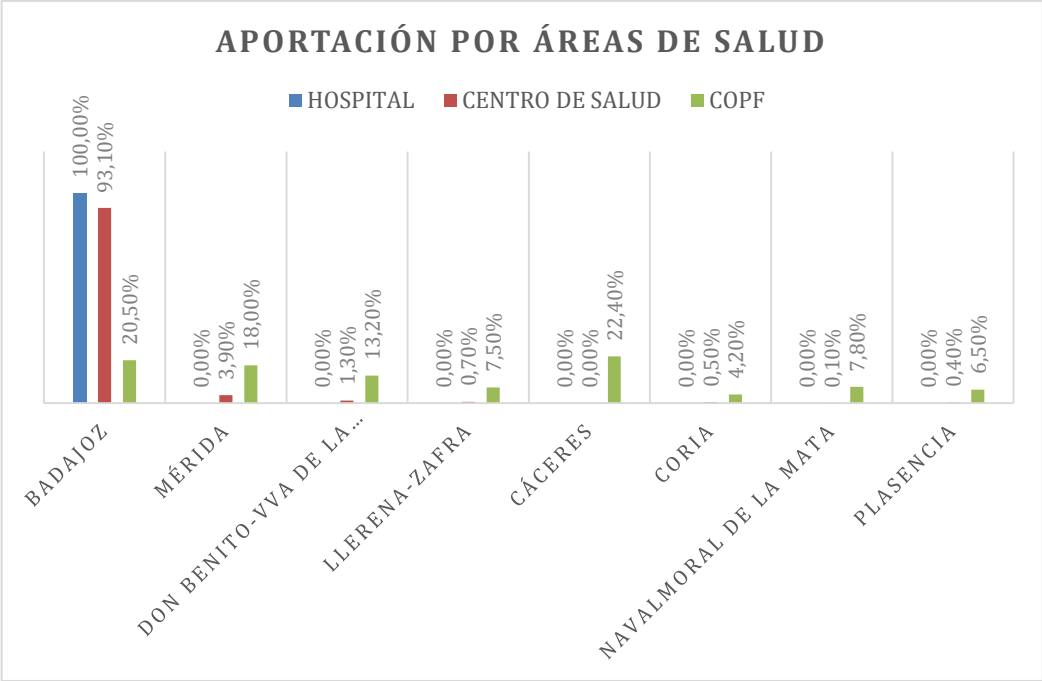
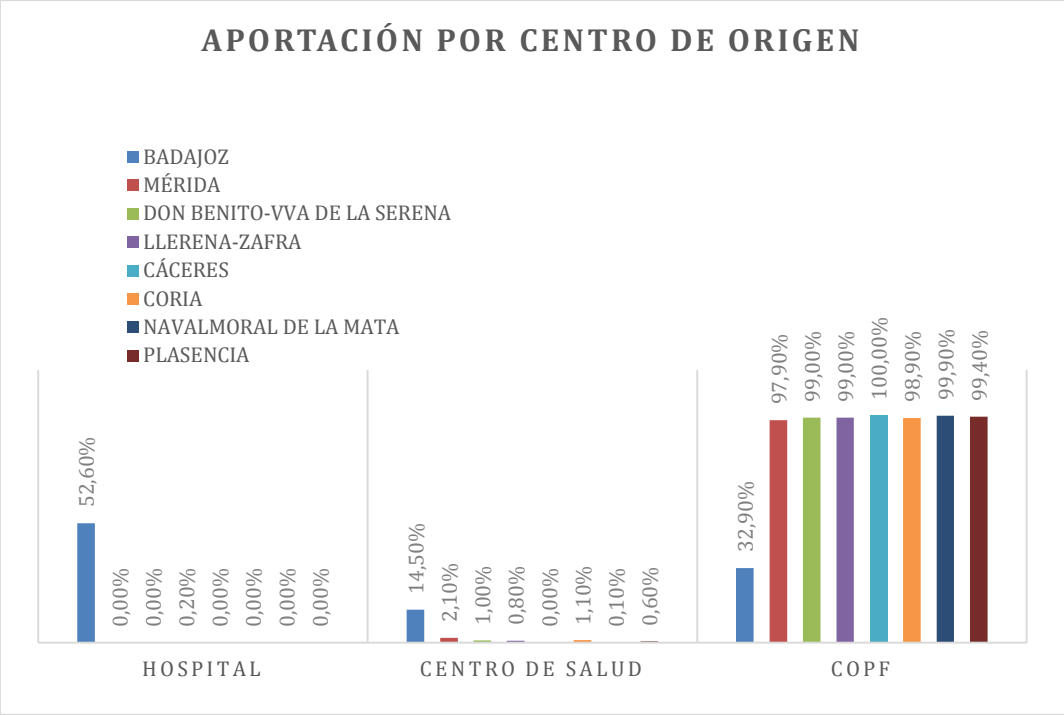


Tabla 14. Aportación de citologías por centro de origen



Del total de 355.938 citologías realizadas, a cada mujer le corresponde una media de 2,04 estudios. Al 49,6% de las mujeres se les realizó una única citología, al 23,4% se les realizó dos y al 13% tres estudios citológicos. El máximo número de citologías llevadas a cabo fueron 17 estudios, a dos mujeres y a lo largo de 11 años. (Tabla 15).

Tabla15. Porcentaje de mujeres por número de citologías e intervalos de confianza al 95%.

Nº de citologías	Porcentaje	IC 95%
1	49,604	49,368-49839
2	23,434	23,235-23,634
3	1,981	12,823-13,140
4	6,865	6,746-6,984
5	3,635	3,547-3,723
6	1,867	1,803-1,931
7	0,923	0,877-0,968
8	0,404	0,374-0,435
9	0,165	0,146-0,184

El 93,3% de lascitologías fueron negativas para lesión intraepitelial o malignidad (NLIM), el 2,9% mostraron cambios citopáticos y un 3,8% resultaron no valorables (Gráfica 5 y Tabla 16).

Gráfica 5. Porcentaje de citologías por presencia de lesión

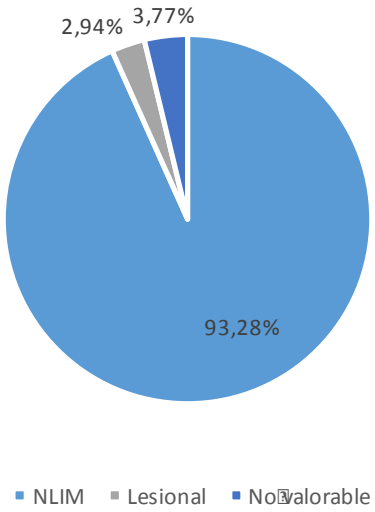


Tabla 16. Porcentaje de citologías por presencia de lesión e intervalos de confianza al 95%.

Diagnósticos	Porcentaje	IC 95%
NLIM	93,284	93,202-93,367
Lesional	2,949	2,893-3,004
No valorable	3,77	3,707-3,833

Las citologías no valorables son aquellas que presentan un porcentaje de células escamosas no visibles superior al 75% o existe un contenido hemático o inflamatorio superior al 75%, no permitiendo una correcta interpretación de la celularidad epitelial cervical, según la definición de las categorías Bethesda (12).

Del total de citologías remitidas por Áreas de Salud, las que aportan la mayor proporción de citologías no valorables son Navalmoral de la Mata con una prevalenciade6,26% (IC 95%= 5,918-6,606) y Plasencia con el 6,213% (IC 95%: 5,839-6,587) (Tabla 17).Existe diferencia significativa entre las frecuencias de aparición de las citologías no valorables por Áreas de Salud, con un Chi-cuadrado= 984,5352; con 7 grados de libertad y p<0,001 (Tabla 17).

Tabla 17. Distribución de citologías valorables por Áreas de Salud

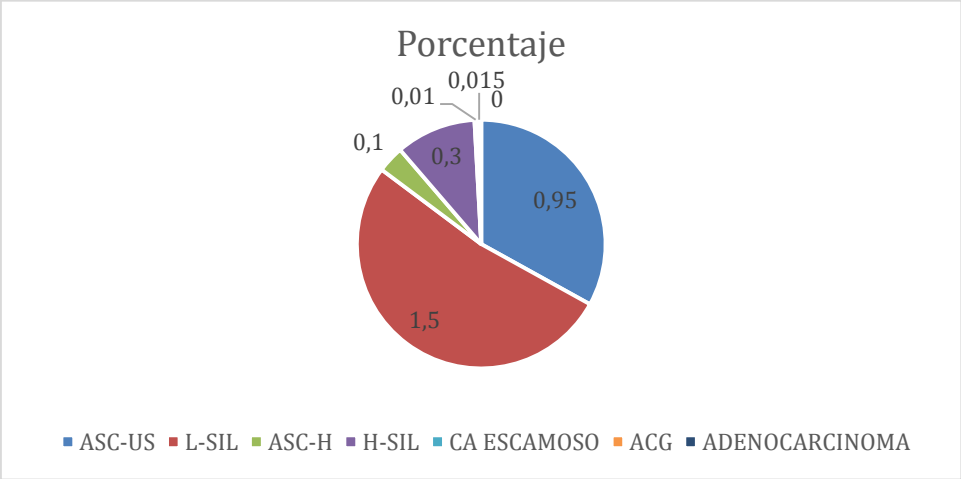
Área de Salud	No valorable	No Valorable%	Valorable	Valorable %	Total
DON BENITO-VVA DE LA SERENA	647	1,95%	32499	98,05%	33146
LLERENA-ZAFRA	547	2,89%	18360	97,11%	18907
CORIA	357	3,37%	10252	96,63%	10609
MÉRIDA	1555	3,39%	44374	96,61%	45929
CÁCERES	1970	3,52%	53925	96,48%	55895
BADAJOZ	6080	3,92%	149019	96,08%	155099
PLASENCIA	1011	6,21%	15262	93,79%	16273
NAVALMORAL DE LA MATA	1213	6,26%	18158	93,74%	19371

La prevalencia de las lesiones citológicas según Sistema Bethesda(12), fueron las siguientes: 3,401 (1%) de ASC-US; 5,654 (1,6%) de L-SIL; 291 (0,1%) de ASC-H; 1011 (0,3%) de H-SIL; 41 (0,011%) carcinomas escamoso; 55 (0,015%) de ACG y 42 (0,011%) de adenocarcinomas (Tabla 18 y Gráfica 6).

Tabla 18. Prevalencia de diagnósticos citológicos e intervalos de confianza al 95%.

Diagnósticos	Porcentaje	Intervalos de confianza (95%)
NO VALORABLE	3,8	3,708-3,833
NLIM	93,3	93,199-93,363
ASC-US	0,95	0-923-0,988
L-SIL	1,6	1,547-1,630
ASC-H	0,1	0,082-0,091
H-SIL	0,3	0,266-0,302
CA ESCAMOSO	0,01	0,008-0,015
ACG	0,015	0,011-0,020
ADENOCARCINOMA	0.011	0,008-0,016

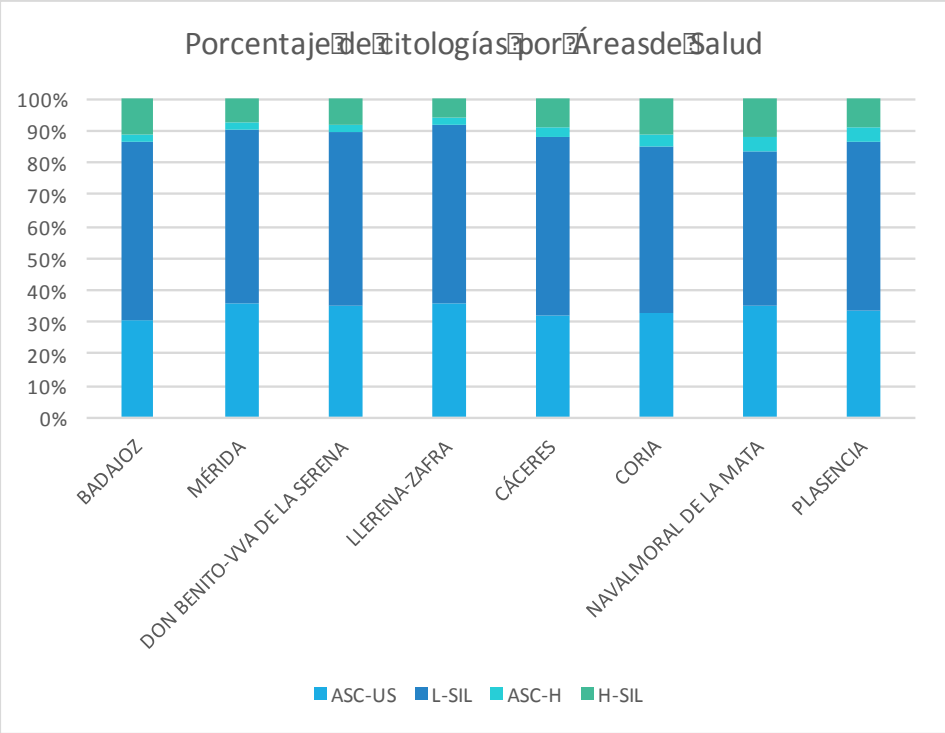
Gráfica 6. Prevalencia de lesiones citológicas



Según los criterios de calidad interno de la Sociedad Española de Citología (SEC) acorde con los criterios internacionales (146), el porcentaje de ASC-US se encuentra por debajo del percentil cinco, mientras que los porcentajes de L-SIL, ASC-H, H-SIL y ACG se encuentran en el percentil 10, con una razón ASC/SIL del 0,5, por fuera del percentil 5. El porcentaje de ASC-US con presencia de algún genotipo de alto riesgo es del 70,74% (IC 95%: 69,2-72,28).

La prevalencia de lesiones escamosas es similar en las distintas Áreas de Salud si bien existe diferencia significativa entre ellas, con un Chi-cuadrado=1212,09 con 64 grados de libertad y p<0,001 (Gráfica 7). La mayor proporción de casos de ASC-US procede de Mérida (35,845%; IC 95%: 33,266-38,424), de L-SIL de Cáceres (55,364%; IC 95%: 52,955-57,772), de ASC-H procede de Plasencia (3,926%; IC 95%: 2,092-5,759) y H-SIL de Navalmoral de la Mata (11,983%; IC 95%: 9,897-14,980). La presencia de carcinomas escamosos identificados citológicamente es de 41, siendo el Área de Salud con mayor proporción de casos el de Navalmoral de la Mata (0,826%; IC 95%: 0,226-2,102) (Gráfica 7).

Gráfica 7.Prevalencia de lesiones citológicas por Áreas de Salud



2. Estudio sobre mujeres

El total de mujeres incluidas en el estudio asciende a 173.841. Una vez excluida la primera citología no valorable de cada unade ellas, así como las lesiones no escamosas y las citologías producto del seguimiento de mujeres diagnosticas con carcinoma escamoso o adenocarcinoma, el número de mujeres se reduce a 167.925.

El mayor porcentaje de mujeres provenía de las Áreas de Salud de Badajoz (40,5%) y Cáceres (16,3%). Según el centro de origen, el 71,8% de las mujeres fueron reclutadas en los COPF de la comunidad (Tablas 19 y 20).

Tabla 19. Procedencia de las mujeres del estudio por Áreas de Salud

Área de Salud	Porcentaje	IC 95%
BADAJOZ	40,54	40,30-40,78
MÉRIDA	12,59	12,42-12,75
DON BENITO-VVA DE LA SERENA	9,87	9,73-10,02
LLERENA-ZAFRA	5,45	5,33-5,56
CÁCERES	16,31	16,13-16,49
CORIA	3,69	3,60-3,79
NAVALMORAL DE LA MATA	5,38	5,27-5,49
PLASENCIA	5,94	5,82-6,05

Tabla 20. Procedencia de las mujeres del estudio por centro de origen

Centro de Origen	Porcentaje	IC 95%
HOSPITAL	21,85	21,65-22,05
CENTRO DE SALUD	6,17	6,05-6,29
COPF	71,76	71,54-71,98

Se observa diferencia estadística entre la distribución de mujeres procedentes de los distintos Áreas de Salud y centros de origen (Chi-cuadrado de Pearson=85088,246, con 14 grados de libertad y $p<0,001$)

Delas 161.328 mujeres incluidas, a 156.627 (97,1%) se diagnosticó NLIM; a 1.513(0,9%) ASC-US; a 2.512(1,6%)L-SIL; a 120(0,1%) ASC-H; a 537(0,3%) H-SIL y a 19(0,012%) se les diagnosticó un carcinoma escamocelular (Gráfica 8 y Tabla 21).

Gráfica 8. Distribución de lesiones escamosasentre mujeres

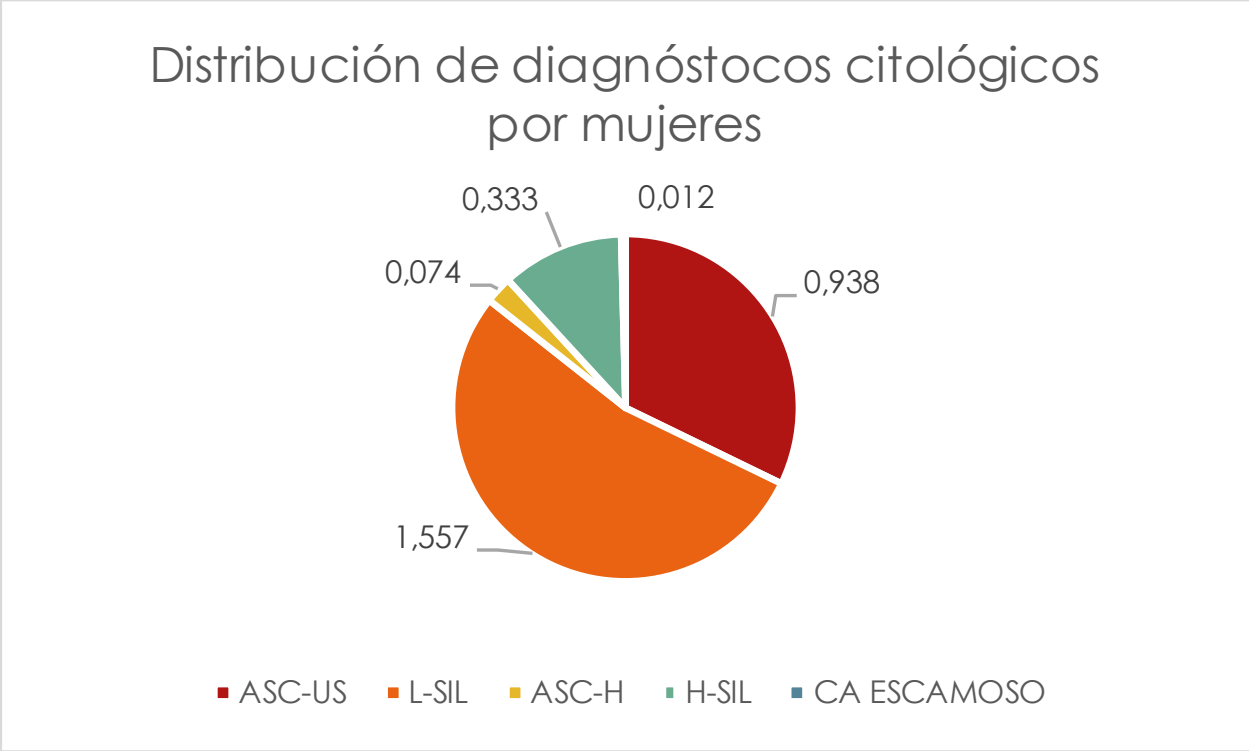


Tabla 21.Distribución de diagnósticos citológicos por mujeres e intervalos de confianza al 95%.

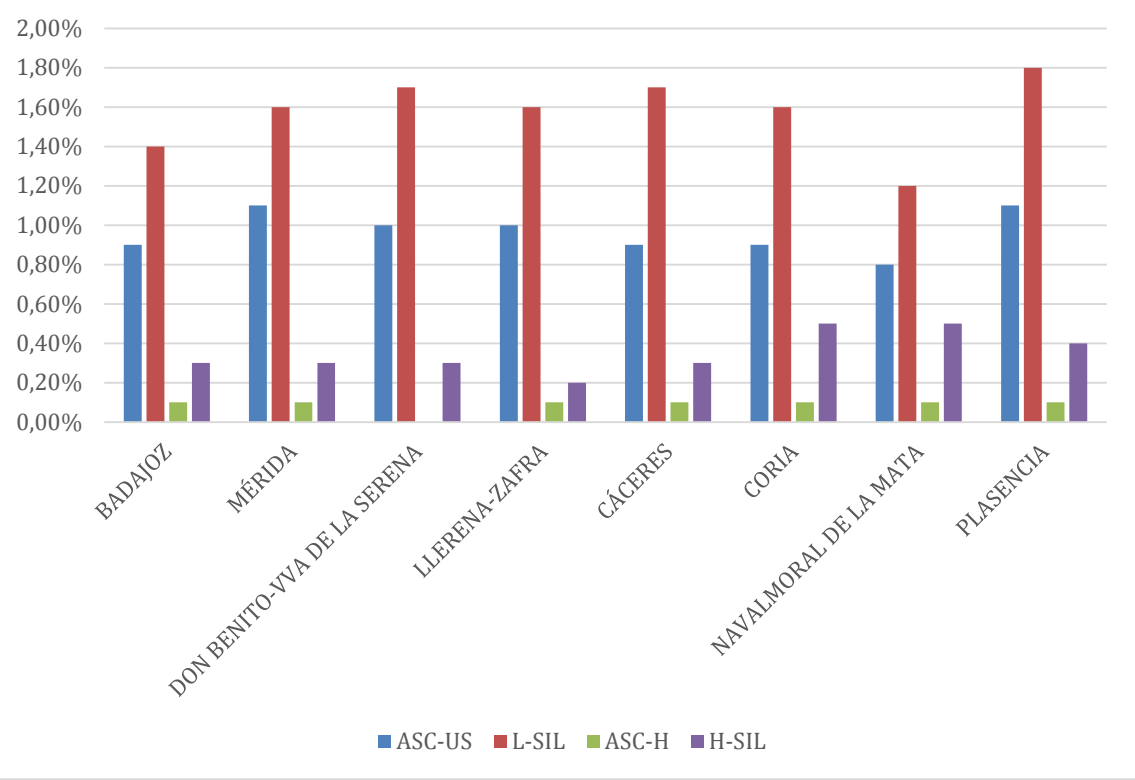
DIAGNÓSTICOS	Frecuencia	Porcentaje	Intervalos de confianza (95%)
NLIM	156627	97,086	97,004-97,168
ASC-US	1513	0,938	0,890-0,985
L-SIL	2512	1,557	1,496-1,618
ASC-H	120	0,074	0,061-0,088
H-SIL	537	0,333	0,304-0,361
CA ESCAMOSO	19	0,012	0,006-0,017
Total	161328	100	

Se identifica una distribución significativa entre la procedencia de las mujeres por Área de Salud y el diagnóstico citológico (Chi-cuadrado=79,096; con 35 grados de libertad y p<0,001). En la totalidad de las Áreas de Salud el porcentaje de mujeres sin lesiones citológicas estuvo entre el 96,50% en el Área de Salud de Plasencia, hasta el 97,40% del Área de Navalmoral de la Mata (Tabla 22 y Gráfica 9).

Tabla 22. Porcentaje de lesiones escamosas por Área de Salud

Áreas de Salud	ASC-US	L-SIL	ASC-H	H-SIL
BADAJOZ	0,90%	1,40%	0,10%	0,30%
MÉRIDA	1,10%	1,60%	0,10%	0,30%
DON BENITO-VVA DE LA SERENA	1,00%	1,70%	0,00%	0,30%
LLERENA-ZAFRA	1,00%	1,60%	0,10%	0,20%
CÁCERES	0,90%	1,70%	0,10%	0,30%
CORIA	0,90%	1,60%	0,10%	0,50%
NAVALMORAL DE LA MATA	0,80%	1,20%	0,10%	0,50%
PLASENCIA	1,10%	1,80%	0,10%	0,40%

Gráfica 9. Porcentaje de lesiones escamosas por Área de Salud



3.Estudios moleculares para identificación del VPH

Con el objeto de conocer la prevalencia y distribución genotípica del VPH en la comunidad extremeña, se realizaron estudios sistemáticos desde el año 2002 al 2013.Tras aplicar los criterios de selección ya comentados, el total de mujeres incluidas es de 161.328. Se diagnostican lesiones escamosas al 2,9% de ellas (4.701), realizando estudios

de PCR al 77,04% de estas muestras (3.622 mujeres). Se realizaron estudios de PCRa 2180 (1,39%)mujeres sin lesiones citológicas pero con indicación por antecedentes o sospecha citológica(Figura 13). Por este motivo se identificó un grupo de 598 mujeres sin lesiones citológicas ni antecedentes ginecológicos para estimar la prevalencia de infección por VPH en la población extremeña.

En total, se realizan estudios de PCR a 5.802 mujeres, de las cuales 4236 (73%), presentan positividad para infección, determinándose uno o varios genotipos de VPH en 3.921 (92,56%) mujeres.

La mayor proporción de estudios de PCR en las mujeres con lesiones citológicas se realizó a aquellas con diagnóstico de ASC-US (88,5%), seguidas de las diagnosticadas de ASC-H (86,7%), H-SIL (77,1%), carcinoma escamoso (73,7%) y finalmente de L-SIL (69,7%).

De estas, el 83% de los ASC-US resultaron positivas para algún genotipo de VPH, de los L-SIL fueron positivas el 98%, de las ASC-H lo fueron el 94%, de los H-SIL el 99% y todos los carcinoma escamosos fueron positivos para algún genotipo de VPH (Gráfico 10).

Gráfica10. Distribución de PCR positiva por lesiones citológicas

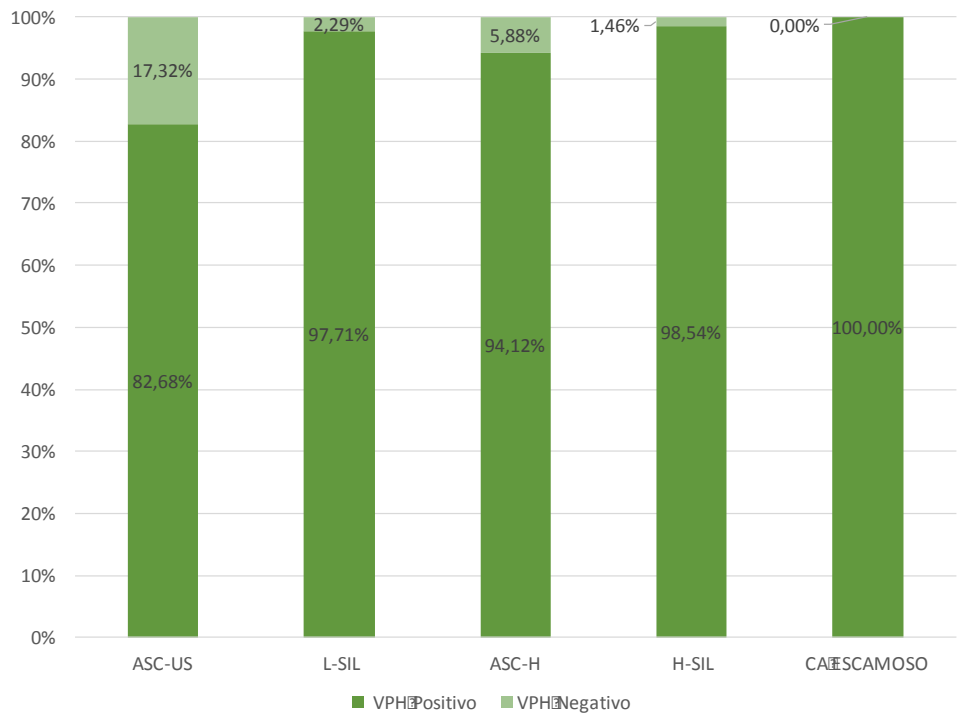
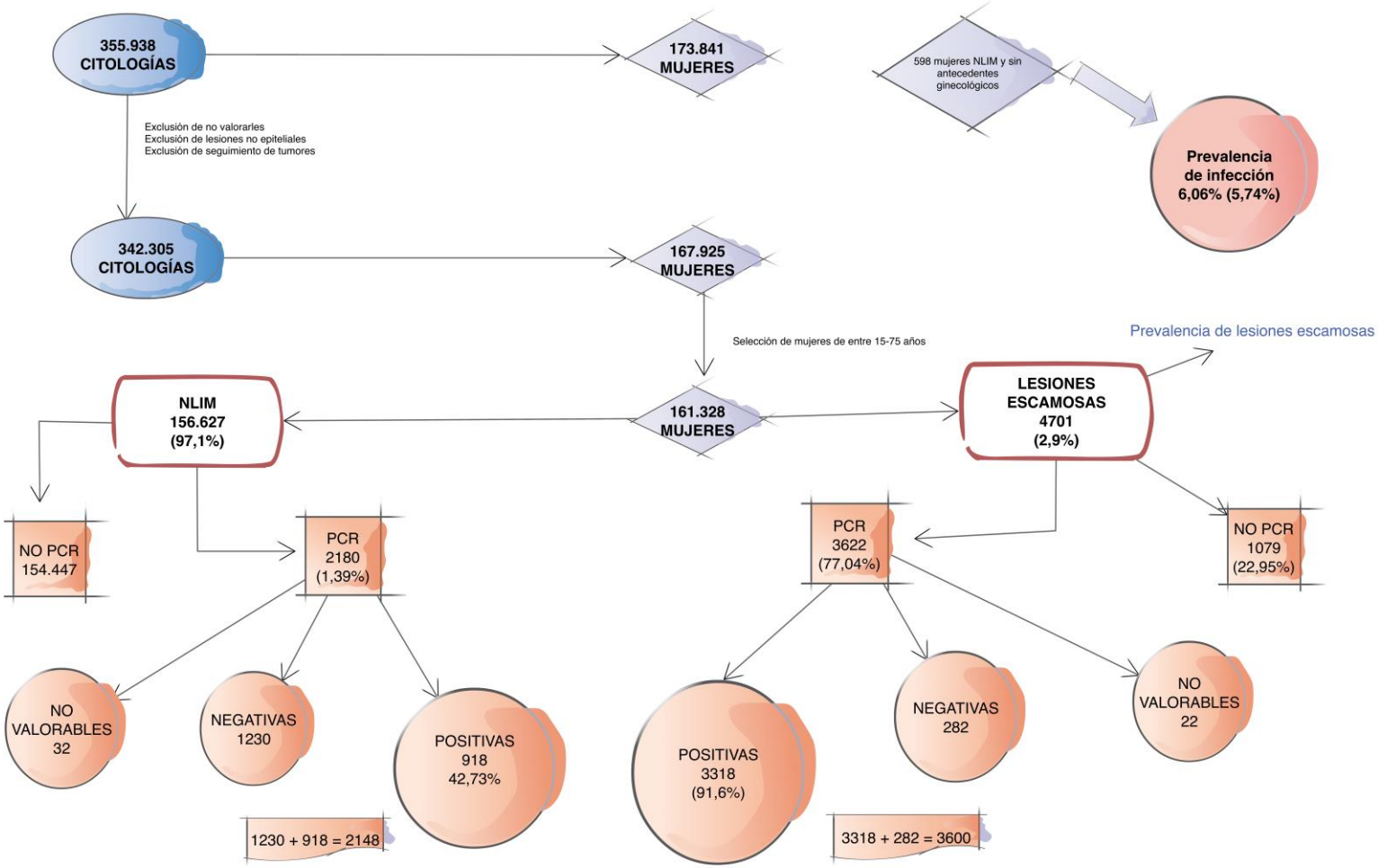


Figura 13. Distribución de citologías, mujeres estudiadas y número de estudios de PCR**.**



La prevalencia cruda de infección por VPH en las mujeres sin lesiones citológicas fue del 42,73% y del 37,23% (IC 95%: 31,45-45,27) al ajustarla por grupos de edad según población estándar de EUROSTAT (13).

La prevalencia cruda de infección por VPH en el grupo de mujeres sin antecedentes ginecológicos ni lesiones citológicas, asciende a 6,06%. Al ajustarla por grupos de edad según población estándar de EUROSTAT (13), alcanza el 5,74% (IC 95%: 3,94-8,58).

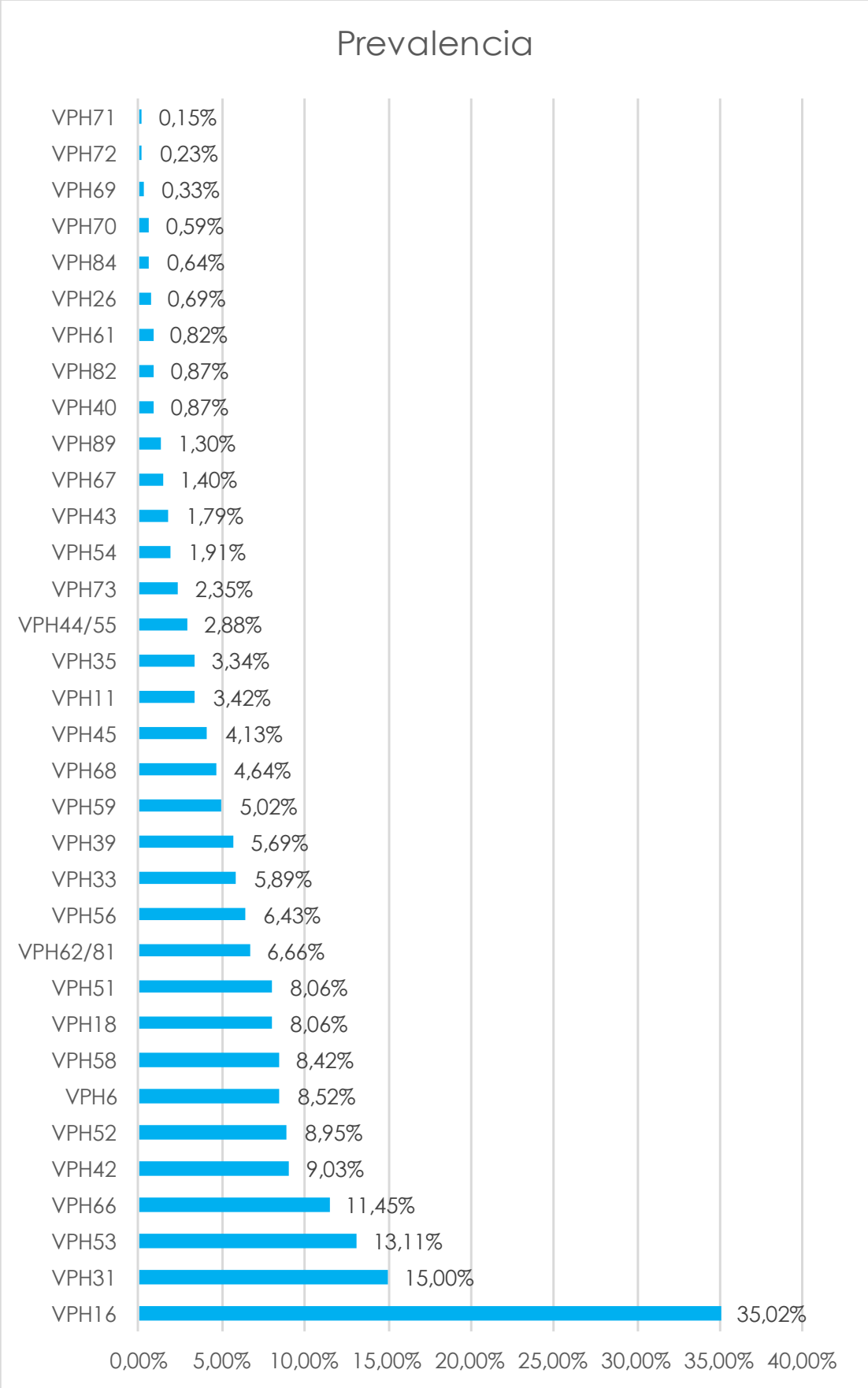
Mediante el Chi-cuadrado de Pearson se identifica un incremento de la prevalencia de infección por VPH con el aumento de la severidad de la lesión citológica, que resulta estadísticamente significativa ($p<0,05$, IC 95%), aunque la diferencia entre las prevalenciasde LSIL y HSIL fue mínima. Sin embargo, tanto en las medidas direccionales como en las simétricas, todos los coeficientes son inferiores a 0,05; lo que vuelve a indicar la relación existente entre frecuencia de infecciones y los diagnósticos citológicos. Como el valor de las medias es siempre positivo (relación positiva), podemos asegurar que según aumenta la severidad citológica de las lesiones, se incrementa la presencia de VPH.
Se realizaron determinaciones de identificación del VPH a 5.802 mujeres. Se identificó el genotipo implicado en la infección del 92,56% de estas con un total de 7.357 determinaciones genotípicas, ya que una mujer puede estar infectada por más de un genotipo, con una media de 1,8 infecciones por mujer. El total de mujeres con determinación genotípica, como se indicó en la Figura 13 fue de 3.921.

El genotipo que con mayor frecuencia se identifica entre las mujeres estudiadas es el VPH16 (35,02%), seguido del VPH31 (15%), encontrando el VPH18 (8,06%) en novena posición. El primer genotipo de bajo riesgo es el VPH42 (9,03%), seguido del VPH6 (8,52%). El VPH11 (3,42%) queda en el puesto décimo octavo (Tabla 23, Gráfica 11, Gráfica 12 y Gráfica 13).

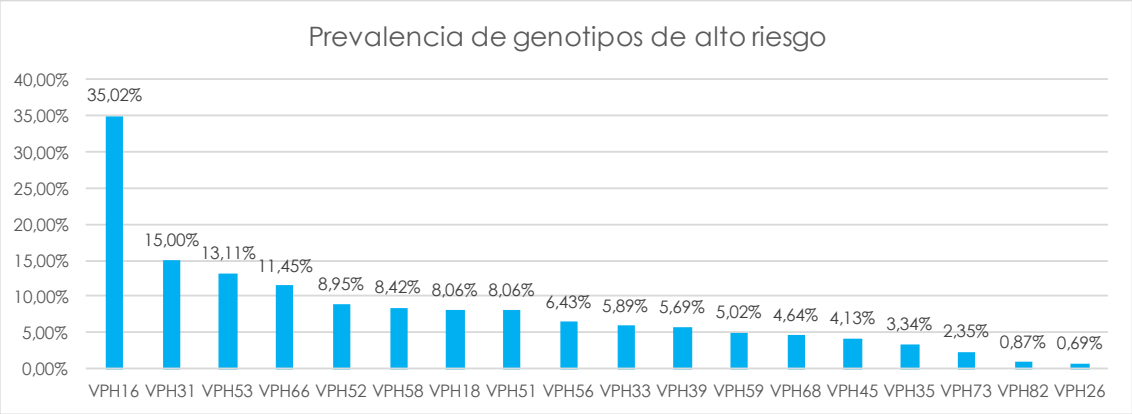
Tabla 23. Prevalencia de genotipos en mujeres estudiadas con PCR positivo y genotipo identificado (3.921 mujeres).

Genotipo	Prevalencia	IC 95%
VPH16	35,01%	33,52-36,53
VPH31	15,00%	13,89-16,15
VPH53	13,11%	12,06-14,20
VPH66	11,45%	10,47-12,48
VPH42	9,03%	8,14-9.96
VPH52	8,95%	8,07-9.88
VPH6	8,52%	7,66-9,43
VPH58	8,42%	7,56-9,32
VPH18	8,06%	7,22-8,95
VPH51	8,06%	7,22-8,95
VPH62/81	6,66%	5,89-7,48
VPH56	6,43%	5,67-7,20
VPH33	5,89%	5,17-6,67
VPH39	5,69%	4,98-6,45
VPH59	5,02%	4,36-5,75
VPH68	4,64%	4,00-5,34
VPH45	4,13%	3,53-4,80
VPH11	3,42%	2,87-4,03
VPH35	3,34%	2,80-3,95
VPH44/55	2,88%	2,38-3-45
VPH73	2,35%	1,89-2,87
VPH54	1,91%	1,05-2,39
VPH43	1,79%	1,39-2,25
VPH67	1,40%	1,05-1,82
VPH89	1,30%	0,97-1,70
VPH40	0,87%	0,60-1,21
VPH82	0,87%	0,60-1,21
VPH61	0,82%	0,55-1,15
VPH26	0,69%	0,45-1
VPH84	0,64%	0,41-0,94
VPH70	0,59%	0,37-0,87
VPH69	0,33%	0,17-0,56
VPH72	0,23%	0,10-0,43
VPH71	0,15%	0,05-0.33

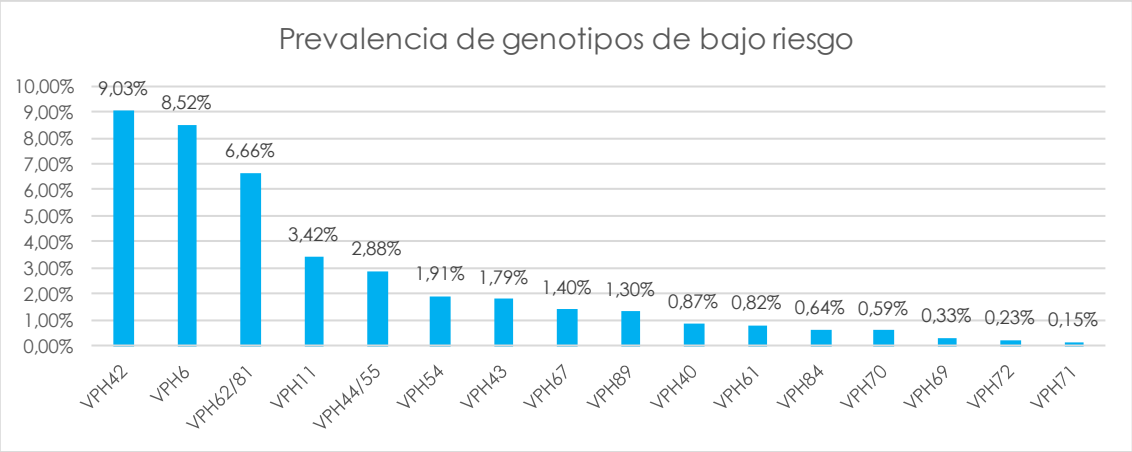
Gráfica 11. Prevalencia de genotipos en mujeres estudiadas con PCR positivo y genotipo identificado (3.921 mujeres).



Gráfica 12. Prevalencia de genotipos de alto riesgo en las mujeres estudiadas



Gráfica 13. Prevalencia de genotipos de bajo riesgo en las mujeres estudiadas



En la Tabla 24 se resume la prevalencia genotípica por diagnósticos, las infecciones de alto y bajo riesgo (las infecciones múltiples se incluyen en las de alto riesgo, por razones obvias), así como la prevalencia de las infecciones simples y múltiples distribuidas por diagnósticos citológicos.

El genotipo más prevalente en cada uno de los diagnósticos citológicos siempre fue el VPH16 (21,45%), seguido por el VPH31 (9,19%), el VPH53 (7,80%), el VPH66 (6,52%), el VPH52 (5,59%) y el VPH18 (5,18%). Dentro del grupo de los genotipos de bajo riesgo, los más frecuentes fueron el VPH42 (5,79%), VPH6 (5,025) y VPH62/81 (4,36%), quedando el VPH11 a gran distancia de éstos con el 2,09% de las mujeres infectadas (Tabla 24, Gráfica 14, Gráfica 15, Gráfica 16).

Del las 3.921 mujeres con infecciones positivas e identificación genotípica, 2.199 (56,08%) presentan infecciones simples y 1.763 (44,96%) infecciones múltiples, es decir con más de un genotipo, ya sea de alto o bajo riesgo (Tabla 24, Tabla 25).

Existe relación estadística ($p<0,05$) entre la frecuencia de infecciones simples y el incremento de la lesión epitelial de tal forma que el mayor porcentaje de infecciones simples se da entre las mujeres diagnosticadas de H-SIL (74,54%), con medidas direccionales y simétricas con valor negativo y significativo ($p<0,001$) y sin considerar las diagnosticadas de carcinoma escamoso.

El VPH16 es el más frecuentemente implicado tanto en las infecciones simples como múltiples. No obstante el VPH31 se encuentra con mayor frecuencia en mujeres con infecciones simples que en infecciones múltiples, donde se encuentra por encima el VPH53. En la Tabla 24, Tabla 25, Gráfica 17 y Gráfica 18, se detallan estas frecuencias sobre las mujeres estudiadas.

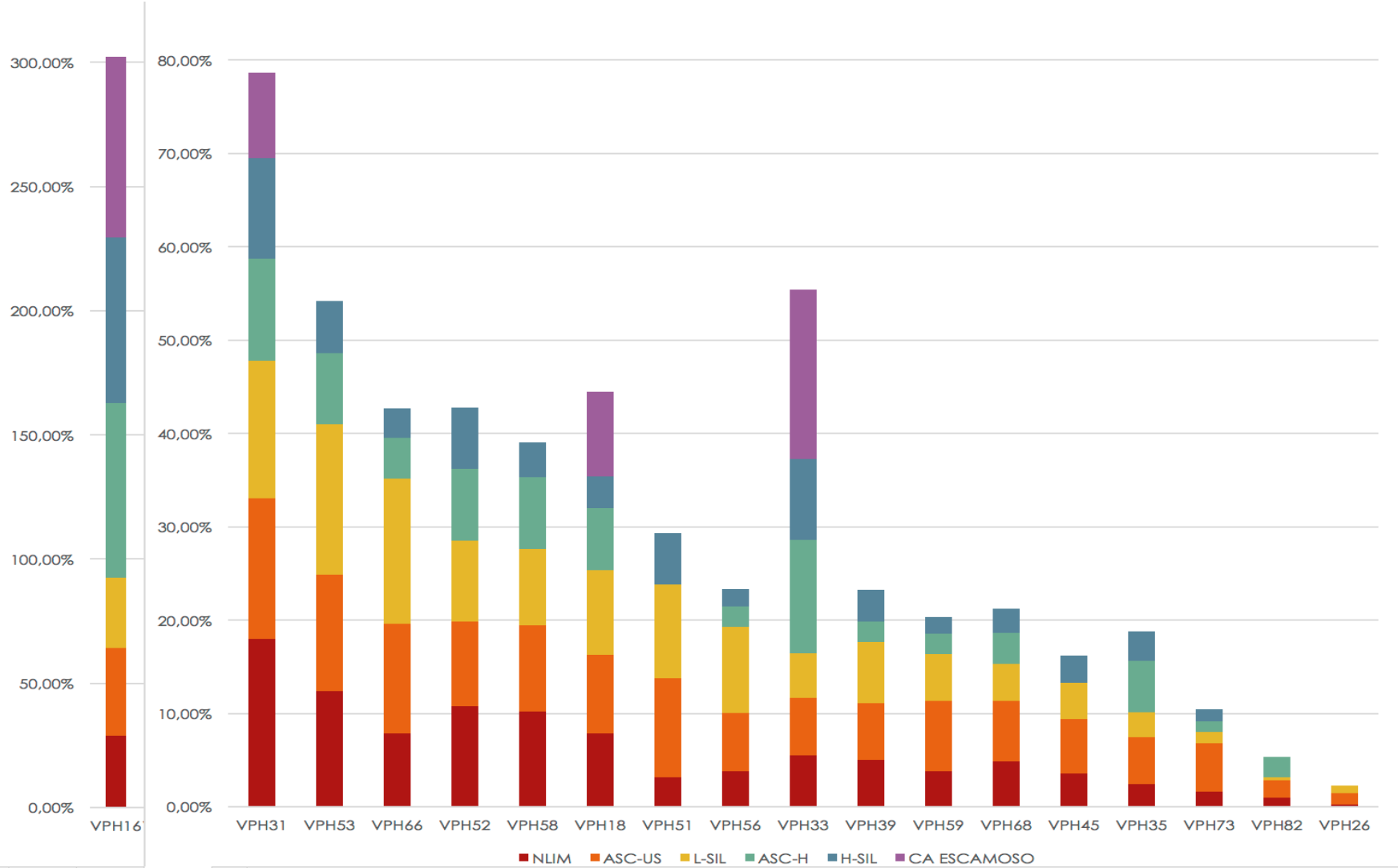
Existe una diferencia significativa en la forma en que se distribuyen los genotipos de alto y bajo riesgo entre las infecciones simples y múltiples, con un valor del estadístico exacto de Fisher de $p<0,001$. Entre las infecciones simples el 85,8% son genotipos de alto riesgo y el 14,2% lo son de bajo riesgo. Entre las infecciones múltiples el 95% son genotipos de alto riesgo y el 5% lo son de bajo riesgo.

Tabla 24. Distribución genotípica por diagnóstico citológico, genotipos de alto y bajo riesgo e infecciones simples y múltiples.

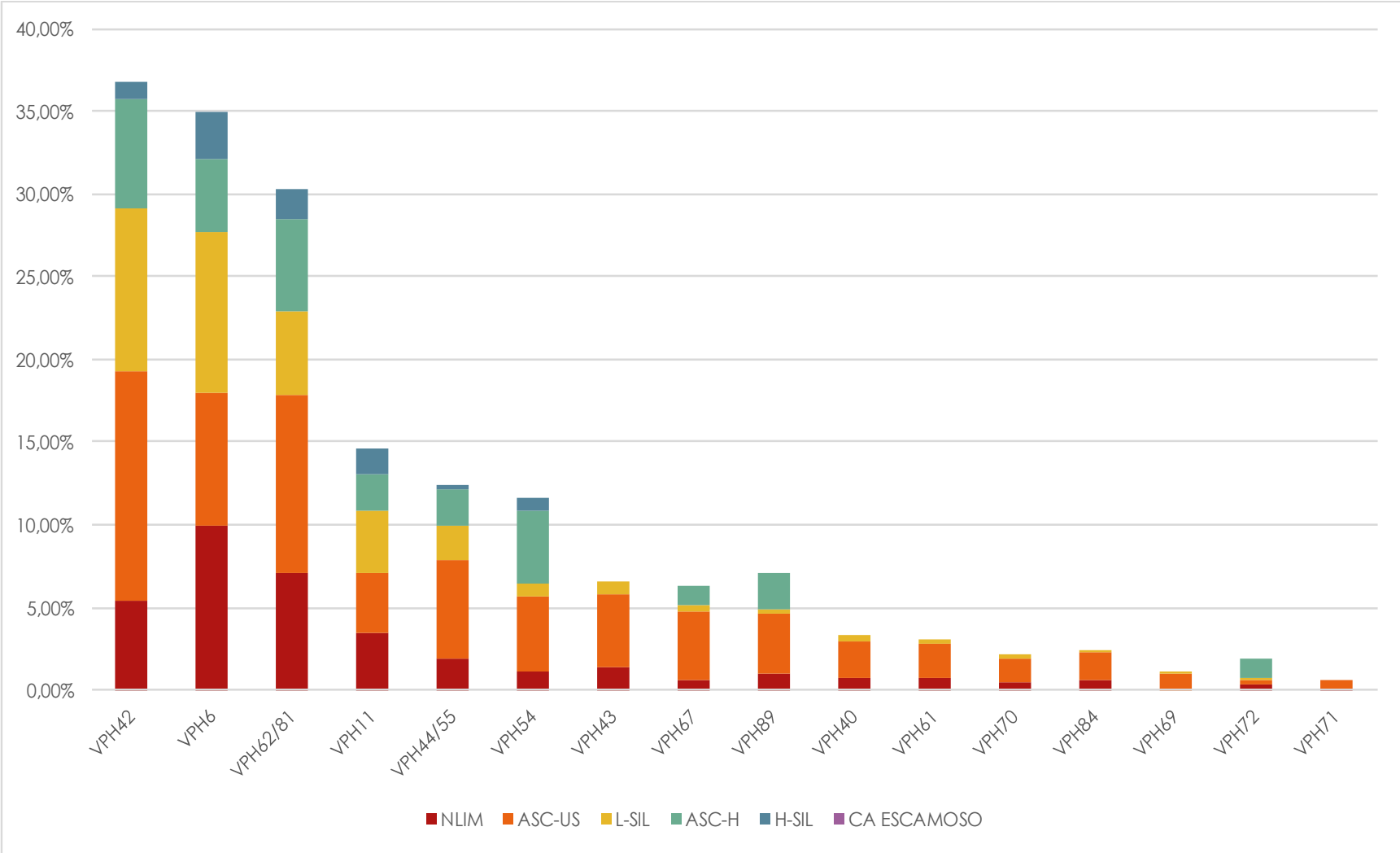
GENOTIPOS	NLIM		ASC-US		L-SIL		ASC-H		H-SIL		CA ESCAMOSO		TOTAL (%)
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
Genotipos	816	20,81%	1022	26,05%	1601	40,83%	91	2,32%	380	9,69%	11	0,28%	3921
VPH-AR	712	19,98%	928	26,04%	1446	40,58%	90	2,52%	376	10,55%	11	0,30%	3563 (90,86%)
VPH16	236	28,92%	362	35,42%	450	28,11%	64	70,33%	253	66,58%	8	72,73%	1373 (35,01%)
VPH31	147	18,01%	154	15,07%	235	14,68%	10	10,99%	41	10,79%	1	9,09%	588 (15,00%)
VPH53	101	12,38%	128	12,52%	257	16,05%	7	7,69%	21	5,53%	0	0,00%	514 (13,11%)
VPH66	64	7,84%	120	11,74%	249	15,55%	4	4,40%	12	3,16%	0	0,00%	449(11,45%)
VPH52	88	10,78%	93	9,10%	138	8,62%	7	7,69%	25	6,58%	0	0,00%	351 (8,95%)
VPH58	83	10,17%	95	9,30%	131	8,18%	7	7,69%	14	3,68%	0	0,00%	330 (8,42%)
VPH18	64	7,84%	86	8,41%	146	9,12%	6	6,59%	13	3,42%	1	9,09%	316 (8,06%)
VPH51	26	3,19%	108	10,57%	161	10,06%	0	0,00%	21	5,53%	0	0,00%	316 (8,06%)
VPH56	31	3,80%	64	6,26%	148	9,24%	2	2,20%	7	1,84%	0	0,00%	252 (6,43%)
VPH33	45	5,51%	63	6,16%	77	4,81%	11	12,09%	33	8,68%	2	18,18%	231 (5,89%)
VPH39	41	5,02%	62	6,07%	105	6,56%	2	2,20%	13	3,42%	0	0,00%	223 (5,69%)
VPH59	31	3,80%	77	7,53%	80	5,00%	2	2,20%	7	1,84%	0	0,00%	197 (5,02%)
VPH68	40	4,90%	66	6,46%	63	3,94%	3	3,30%	10	2,63%	0	0,00%	182 (4,64%)
VPH45	29	3,55%	60	5,87%	62	3,87%	0	0,00%	11	2,89%	0	0,00%	162 (4,13%)
VPH35	20	2,45%	51	4,99%	43	2,69%	5	5,49%	12	3,16%	0	0,00%	131 (3,34%)
VPH73	13	1,59%	53	5,19%	20	1,25%	1	1,10%	5	1,32%	0	0,00%	92 2,35%)
VPH82	8	0,98%	19	1,86%	5	0,31%	2	2,20%	0	0,00%	0	0,00%	34 (0,87%)
VPH26	2	0,25%	12	1,17%	13	0,81%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	27 0,69%)

VPH-BR	104	29,05%	94	26,25%	155	43,29%	1	0,27%	4	1,11%	0	0,00%	358 (9,13%)
VPH42	44	5,39%	142	13,89%	158	9,87%	6	6,59%	4	1,05%	0	0,00%	354 (9,03%)
VPH6	81	9,93%	82	8,02%	156	9,74%	4	4,40%	11	2,89%	0	0,00%	334 (8,52%)
VPH62/81	58	7,11%	110	10,76%	81	5,06%	5	5,49%	7	1,84%	0	0,00%	261 (6,66%)
VPH11	28	3,43%	37	3,62%	61	3,81%	2	2,20%	6	1,58%	0	0,00%	134 (3,42%)
VPH44/55	16	1,96%	61	5,97%	33	2,06%	2	2,20%	1	0,26%	0	0,00%	113 (2,88%)
VPH54	9	1,10%	47	4,60%	12	0,75%	4	4,40%	3	0,79%	0	0,00%	75 (1,91%)
VPH43	11	1,35%	45	4,40%	14	0,87%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	70 (1,79%)
VPH67	5	0,61%	42	4,11%	7	0,44%	1	1,10%	0	0,00%	0	0,00%	55 (1,40%)
VPH89	8	0,98%	37	3,62%	4	0,25%	2	2,20%	0	0,00%	0	0,00%	51 (1,30%)
VPH40	6	0,74%	23	2,25%	5	0,31%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	34 (0,87%)
VPH61	6	0,74%	21	2,05%	5	0,31%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	32 (0,82%)
VPH84	5	0,61%	17	1,66%	3	0,19%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	25 (0,64%)
VPH70	4	0,49%	14	1,37%	5	0,31%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	23 (0,59%)
VPH69	0	0,00%	10	0,98%	3	0,19%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	13 (0,33%)
VPH72	3	0,37%	3	0,29%	2	0,12%	1	1,10%	0	0,00%	0	0,00%	9 (0,23%)
VPH71	1	0,12%	5	0,49%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	6 (0,15%)
INFECCIONES SIMPLES	511	62%	474	46%	864	53%	56	61%	284	74%	10	90%	2199 (56,08%)
INFECCIONES MÚLTIPLES	305	37%	548	53%	737	46%	35	38%	96	25%	1	9%	1722 (43,91%)

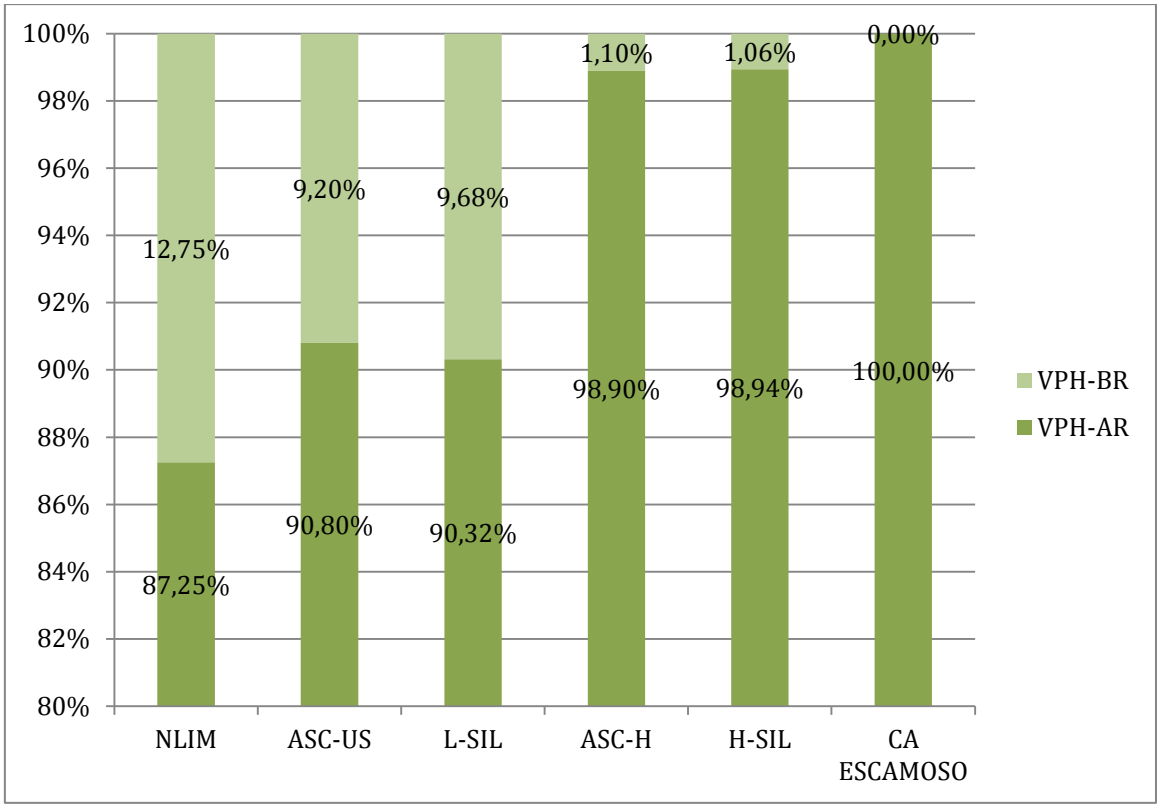
Gráfica 14. Distribución de genotipos de alto riesgopor diagnóstico citológico en mujeres.



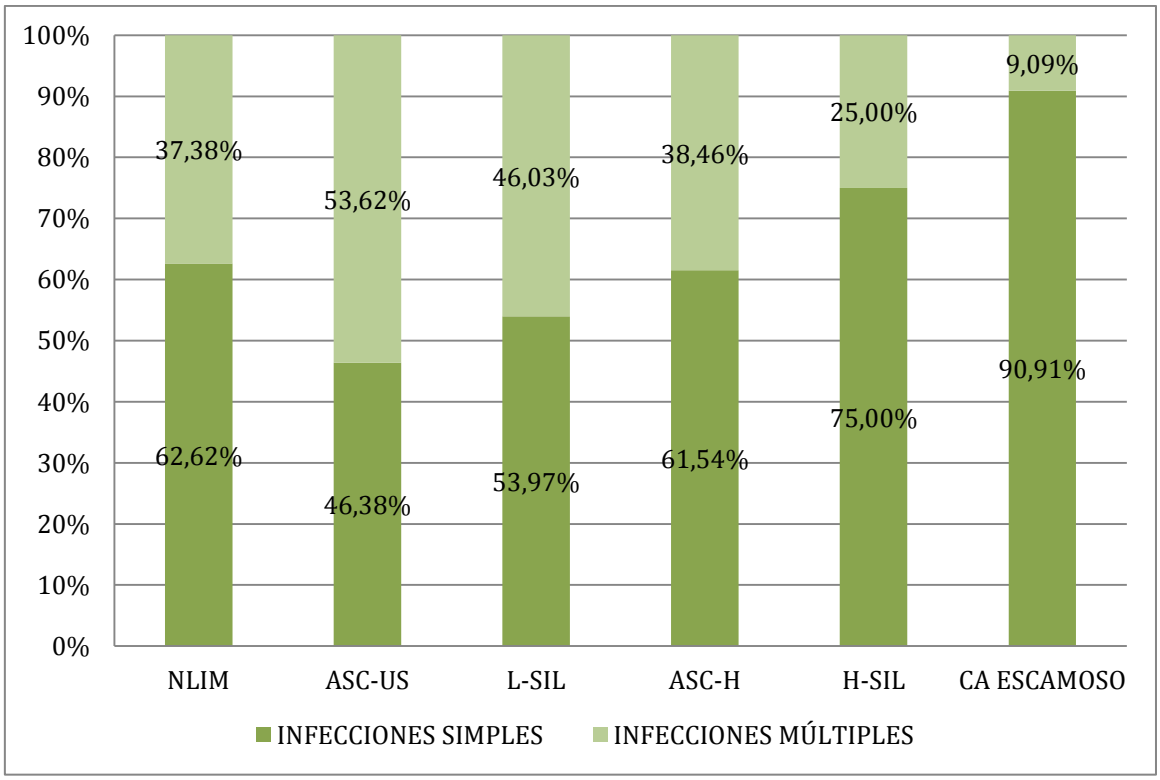
Gráfica 15. Distribución de genotipos de bajo riesgo por diagnóstico citológico en mujeres.



Gráfica 16. Prevalencia de genotipos de alto y bajo riesgo entre los diagnósticos citológicos.



Gráfica 17. Prevalencia de infecciones simples y múltiples entre los diagnósticos citológicos



Gráfica 18. Prevalencia genotípica por tipo de infección (IS: infección simple, IM: infección múltiple)

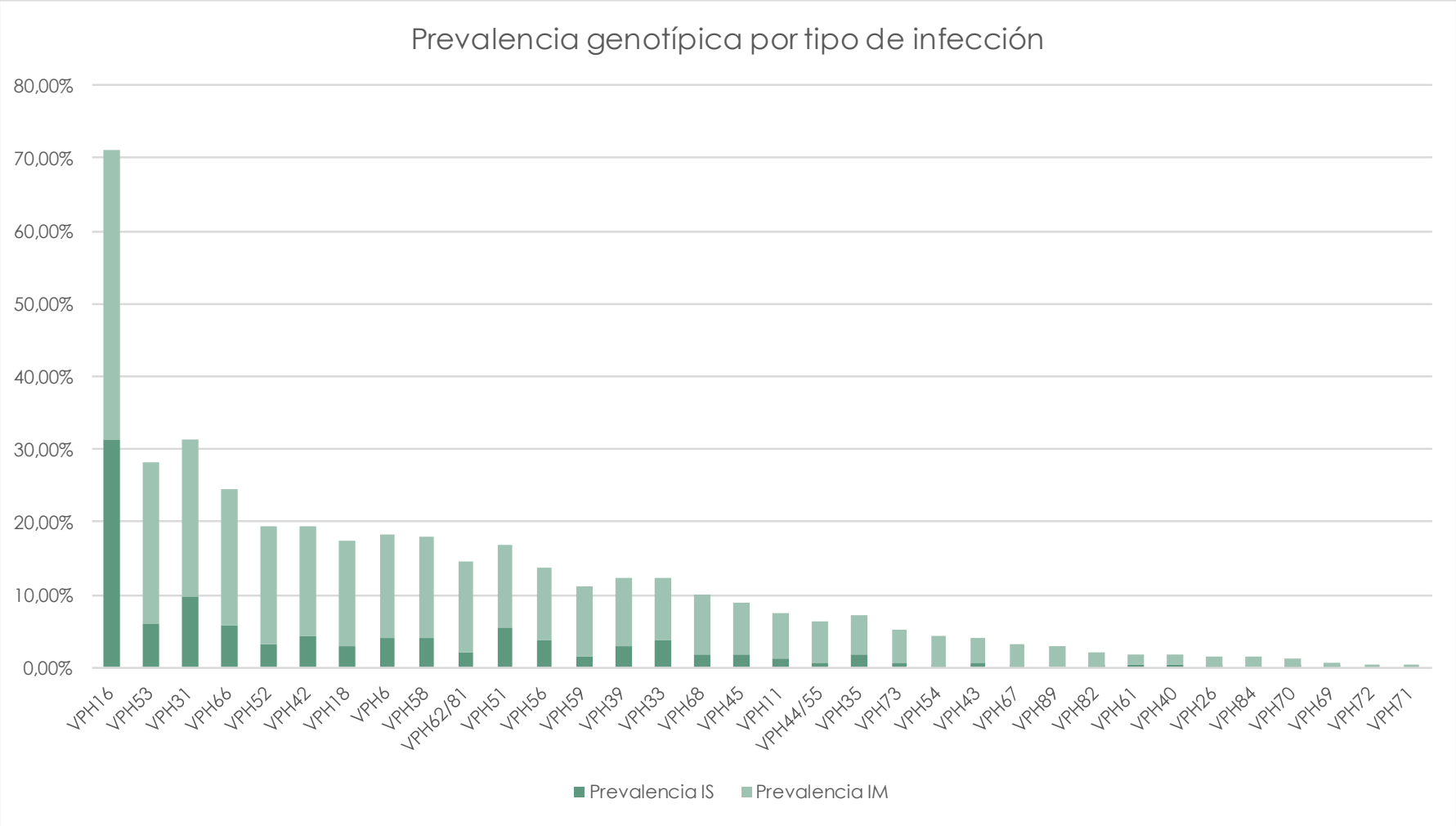


Tabla 25. Prevalencia genotípica por tipo de infección (IS: infección simple, IM: infección múltiple)

Genotipos	Prevalencia IS	Prevalencia IM
VPH16	31,42%	39,61%
VPH53	5,91%	22,30%
VPH31	9,69%	21,78%
VPH66	5,64%	18,87%
VPH52	3,27%	16,20%
VPH42	4,46%	14,87%
VPH18	2,96%	14,58%
VPH6	4,00%	14,29%
VPH58	3,91%	14,17%
VPH62/81	2,05%	12,54%
VPH51	5,37%	11,50%
VPH56	3,64%	9,99%
VPH59	1,36%	9,70%
VPH39	2,86%	9,29%
VPH33	3,87%	8,48%
VPH68	1,68%	8,42%
VPH45	1,77%	7,14%
VPH11	1,14%	6,33%
VPH44/55	0,68%	5,69%
VPH35	1,68%	5,46%
VPH73	0,50%	4,70%
VPH54	0,18%	4,12%
VPH43	0,50%	3,43%
VPH67	0,18%	2,96%
VPH89	0,00%	2,96%
VPH82	0,18%	1,74%
VPH61	0,23%	1,57%
VPH40	0,36%	1,51%
VPH26	0,09%	1,45%
VPH84	0,00%	1,45%
VPH70	0,14%	1,16%
VPH69	0,05%	0,70%
VPH72	0,14%	0,35%
VPH71	0,09%	0,23%

4. Distribuciones por edades y grupos de edad

En este grupo se identifican edades extremas cuyo origen no queda bien definido por lo que son excluidas de los estudios estadísticos subsiguientes. Así se excluyen 31 mujeres con edad inferior a 15 años y 459 con edad mayor de 75 años. Finalmente se incluyen 161.328 mujeres con edades comprendidas entre 15 y 75 años, con una edad media de 36,19 años, moda de 25 y una mediana de 35, con el primer cuartil de 26 años y el cuarto de 44 (desviación típica = 12,019).

Los estadísticos sobre la edad de las mujeresincluidas en el estudio tras la selección definida en el marco teórico, se incluye en la Tabla 26.

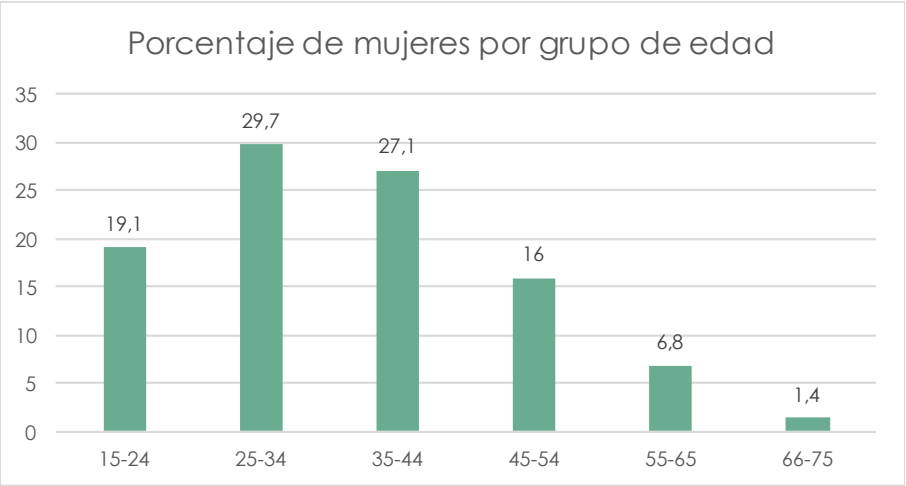
Tabla 26.Estadísticossobre la edad de las pacientes.

N	**Válidos**	161328
	Perdidos	0
Media		36,19
Error típ. de la media		,030
Mediana		35,00
Moda		25
Desv. típ.		12,019
Varianza		144,459
Rango		60
Mínimo		15
Máximo		75
Percentiles	**25**	26,00
	50	35,00
	75	44,00

Se observa una edad mediade 36 años, pero la proporción mayor de mujeres es de 25 años como demuestra la moda, no obstante se identifica un desviación típica de 12 años.

Con el objeto de poder llevar a cabo comparaciones con otros estudios y facilitar el ajuste de tasas, se agrupan las edades en 6 grupos, en consonancia con los criterios de cribado citológico descritos en el marco teórico: 15-24, 25-34, 35-44, 45-54, 55-65, 66-75 (Gráfica 20).

Gráfica 20. Porcentaje de mujeres por grupo de edad



Se aprecia un porcentaje mayor de mujeres en los grupos de 25 a 34 años y de 35 a 44, siendo significativamente menor el porcentaje de mujeres en los grupos de mayor edad (Tabla 27).

Tabla 27. Porcentaje de mujeres por grupo de edad con intervalos de confianza al 95%.

Grupos de edad	Porcentaje	Intervalos de confianza (95%)
15-24	19,074	18,882-19,266
25-34	29,666	29,443-28890
35-44	27,052	26,836-27,270
45-54	15,986	15,808-16,166
55-65	6,786	6,663-6,909
66-75	1,436	1,379-1,495

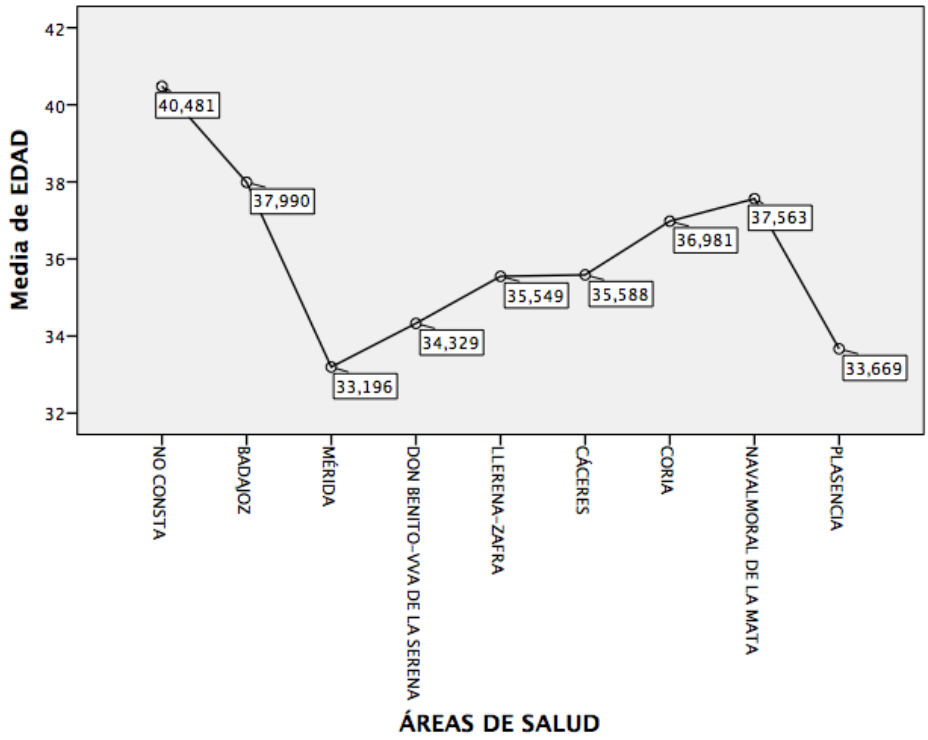
Por Áreas de Salud, Badajoz aporta a las mujeres con mayor edad media (37,99 años), mientras que Mérida ofrece a la población más joven (33,2 años) (Tabla 27 y Gráfica 19). Dado que el estadístico de Levene presenta un valor p<0,001, no se pueden aplicar el ANOVA de un factor para establecer la significación entre estos parámetros. Mediante las correspondientes pruebas no paramétricas se observa una diferencia estadísticamente significativa entre las edades medias de las mujeres y su procedencia por Área de Salud (prueba de Kruskal-Wallis, Chi-cuadrado = 3365,473; 7 grados de libertad y p<0,001). Al comparar dos a dos las Áreas de Salud, se identifica diferencia estadística entre las medias de edad entre todas las parejas excepto para las Áreas de Salud de Llerena-Zafra con

Cáceres y Badajoz con Navalmoral de la Mata, como se puede intuir en la Tabla 28 y Gráfica 19.

Tabla 28. Estadísticos sobre edad y Áreas de Salud

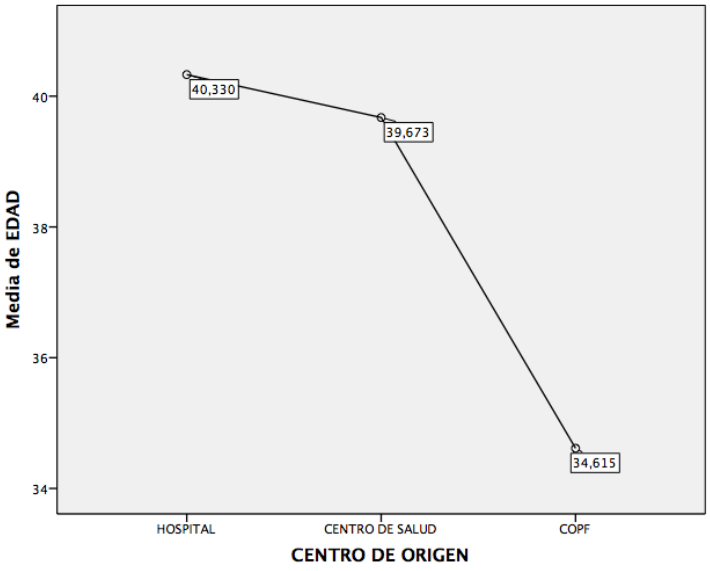
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
BADAJOZ	65402	37,99	12,608	,049	37,89	38,09
MÉRIDA	20312	33,20	10,698	,075	33,05	33,34
DON BENITO-VVA DE LA SERENA	15937	34,33	10,582	,084	34,16	34,49
LLERENA-ZAFRA	8792	35,55	11,920	,127	35,30	35,80
CÁCERES	26313	35,59	11,935	,074	35,44	35,73
CORIA	5964	36,98	12,835	,166	36,65	37,31
NAVALMORAL DE LA MATA	8688	37,56	11,909	,128	37,31	37,81
PLASENCIA	9583	33,67	10,138	,104	33,47	33,87
Total	160991	36,18	12,016	,030	36,12	36,24

Gráfica 19. Edad media por Áreas de Salud



Así mismo se observa diferencia estadística significativa entre la edad media de las mujeres y el centro de origen (Gráfica 21) con un valor de Chi-cuadrado=6226,944, con 2 grados de libertad y p<0,001 en la prueba de Kruskal-Wallis. Al comparar las edades medias por parejas, se encuentra diferencia significativa en todas las ocasiones (p<0,05).

Gráfica 21. Edad media por centro de origen de las mujeres de estudio.

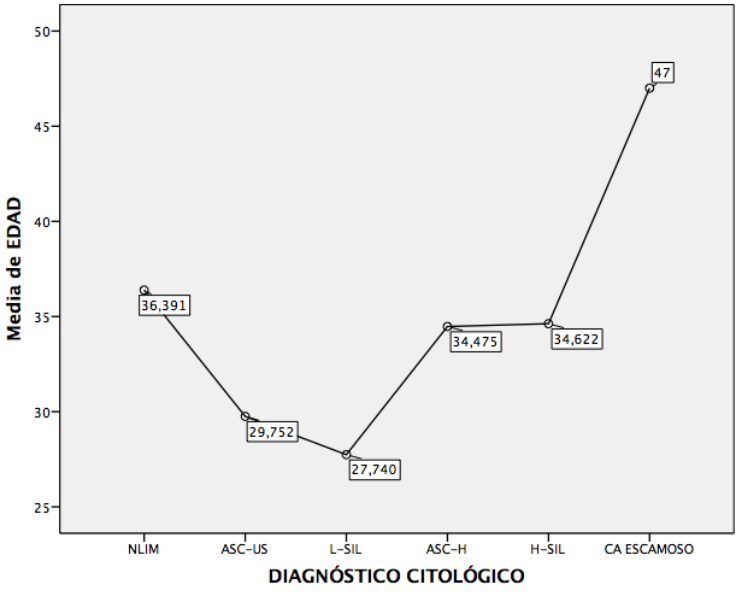


Existe diferencia estadísticamente significativa entre la edad media de las mujeres y los diagnósticos citológicos(Chi-cuadrado de 1.958,190 p<0,001 y 5 grados de libertad en la prueba de Kruskal-Wallis). Al comparar la edad media de los diagnósticos citológicos dos a dos, se identifica ausencia de significación estadística entre ASC-H y H-SIL, al descartar las mujeres sin alteraciones citológicas. En el resto de comparaciones se obtiene un valor de p de significación que oscila entre 0,001 y 0,003, por lo que se puede afirmar que al aumentar la edad, aumenta el grado de lesión citológica. No se emplea el ANOVA de una vía por encontrar un estadístico de Levene con un valor de p<0,001. Así, la edad media de las mujeres con L-SIL es de 27,74 años y las que padecen una carcinoma escamoso es de 47 años (Tabla 29 y Gráfica 22).

Tabla 29. Estadísticos sobre edad y diagnósticos citológicos

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
NLIM	156627	36,39	12,027	,030	36,33	36,45
ASC-US	1513	29,75	9,778	,251	29,26	30,25
L-SIL	2512	27,74	8,753	,175	27,40	28,08
ASC-H	120	34,48	10,406	,950	32,59	36,36
H-SIL	537	34,62	9,180	,396	33,84	35,40
CA ESCAMOSO	19	47,00	10,504	2,410	41,94	52,06
Total	161328	36,19	12,019	,030	36,13	36,25

Gráfica 22. Edad media por diagnósticos citológicos

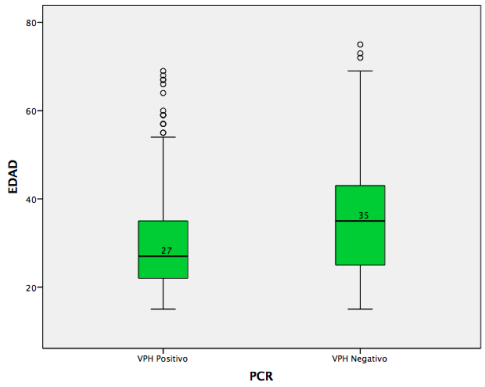


Existe diferencia significativa entre la edad media de las mujeres y la presencia de infección por VPH(29 años) y las que no se encuentran infectadas por el virus (34 años) con un valor de U de Mann-Whitney= 2256956,50, z=-17,079 y p<0,001 en la prueba de Mann-Whitney(Tabla 29 y Gráfica 23).

Tabla 29. Estadísticos sobre edad y positividad a la infección por VPH

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
VPH Positivo	4236	29,01	9,261	,142	28,73	29,28
VPH Negativo	1512	34,64	11,320	,291	34,07	35,21

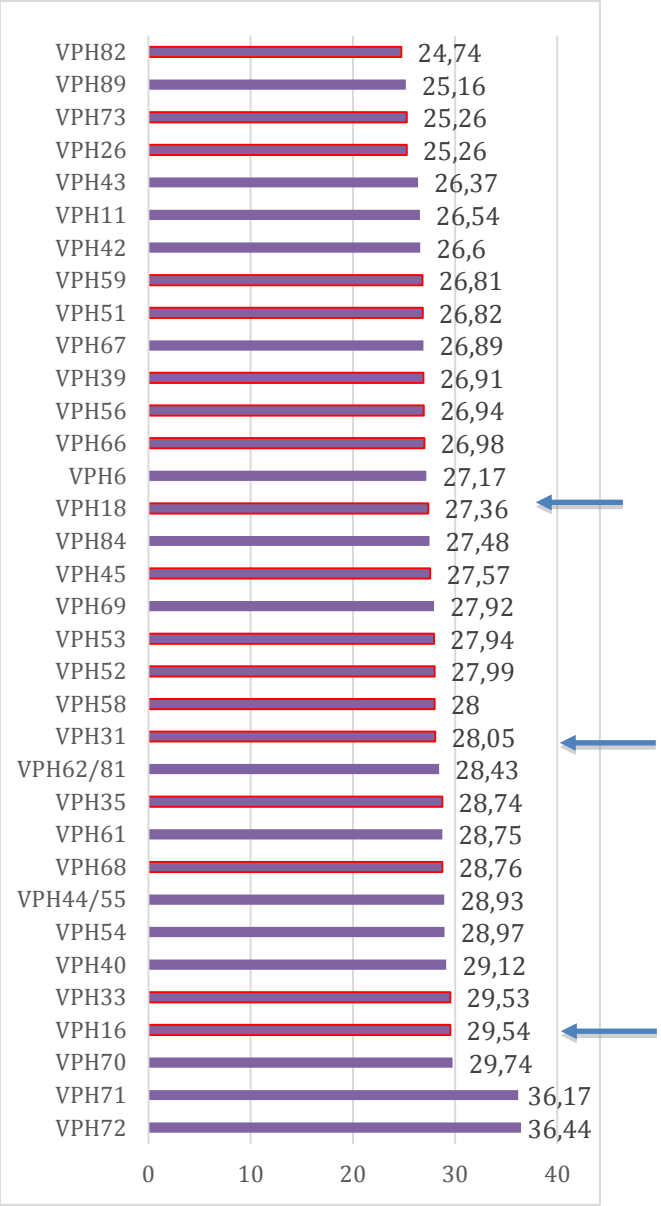
Gráfica 23. Edad media de las mujeres infectadas y no infectadas por VPH



Cuando se agrupan las mujeres infectadas por genotipos de alto y bajo riesgo, se observa una edad media para las mujeres del primer grupo de 29,44 años y para las del segundo de 28,58 años. Existe un tercer grupo de mujeres infectadas por genotipos de alto y bajo

riesgo, cuya edad media es 27,33%. Existe diferencia significativa en esta distribución con una Chi-cuadrado=42,799; 2 grados de libertad y p< 0,001 en la prueba de Kruskal-Wallis. En la comparación por parejas la diferencia es significativa entre el grupo de mujeres con infección múltiple (alto y bajo riesgo) con las infectadas por bajo riesgo y con las infectadas por alto riesgo. No ha diferencia entre las edades media de las mujeres infectadas por genotipos de alto riesgo y las infectadas por genotipos de bajo riesgo (Gráfica 24).

Gráfica 24. Edad media de las mujeres infectadas por los distintos genotipos identificados (en rojo genotipos de alto riesgo).



También existe diferencia significativa entre las edades media de las mujeres infectadas por un solo genotipo (30 años) y las que lo están por varios, ya sean estos de alto o bajo riesgo (27 años), con un valor de la U de Mann-Whitney=1566529,50, z=-9,298 y p<0,001.

Para poder comparar los resultados obtenidos es necesario llevar a cabo los mismo estudios por grupos de edad y así poder ajustarlas tasas por grupos de edad y comparar los resultados con una población estándar, puesto que como se ha visto anteriormente, el grupo de mujeres más numerosas en nuestra muestra se encuentra en torno a los 25 años.

En el presente estudio se opta por crear grupos de edad en relación con los intervalos que se recomiendan en el algoritmo de cribado aceptado actualmente España (93) y que también coincidan con la distribución por edades de las estandarizaciones internacionales(13).

Se identifica asociación significativa entre los grupos de edad y la positividad a la infección por VPH, con un valor de Chi-cuadrado de Pearson de 362,978; 5 grados de libertad y p<0,001. Aunque las medidas direccionales y simétricas son significativas con valores de p<0,00; la asociación es débil (Coeficiente de contingencia de 0,244 y coeficiente de incertidumbre de 0,031) (Gráfica 25 y Tabla 30). Aunque existe disminución progresiva de la frecuenciade infecciones con el incremento de los grupos de edad, se observa un segundo pico en el grupo de mayor edad.

Gráfica 25. Distribución de mujeres con VPH por grupos de edad en la muestra considerada.

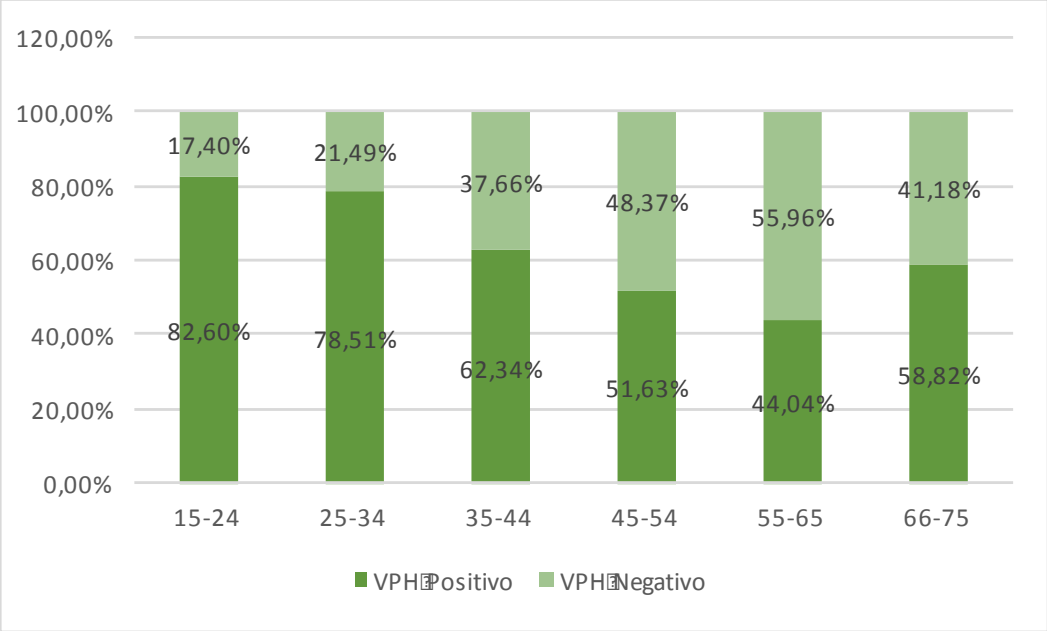


Tabla 30. Prevalencia de infección por grupos de edad e intervalos de confianza

Grupos de edad	Número de muestras	VPH Positivo	Prevalencia (%, IC 95%)
15-24	2046	1690	82,6 (80,88-84,22)
25-34	1945	1527	78,50 (76,61-80,31)
35-44	1110	692	62,34 (59,41-65,20)
45-54	521	269	51,63 (47,24-55,99)
55-64	106	45	42,45 (32,9-52,43)
65-75	20	13	65 (40,78-84,60)

Entre las mujeres sin lesión citológica ni antecedentes ginecológicos la prevalencia de infección ajustada por grupos de edad es del 5,74%. La distribución por grupos de edad también es significativa, con un valor de Chi-cuadrado de Pearson de 21,452; 5 grados de libertad y p<0,001, con medidas direccionales y simétricas significativas (p<0,001) (Gráfica 26), con un grado de asociación discretamente mayor (Coeficiente de contingencia de 0,001 y coeficiente de incertidumbre de 0,001) (Gráfica 26 y Tabla 31).

Gráfica 26. Distribución de mujeres con VPH por grupos de edad entre mujeres sin lesiones citológicas ni antecedentes ginecológicos.

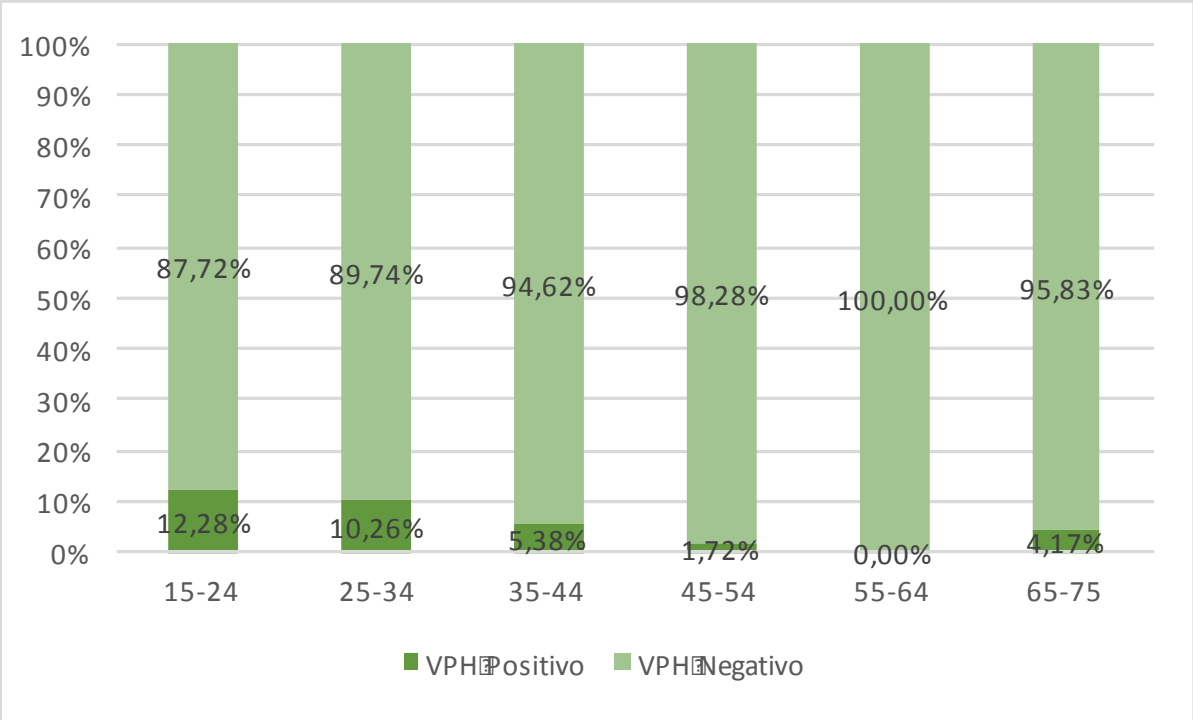
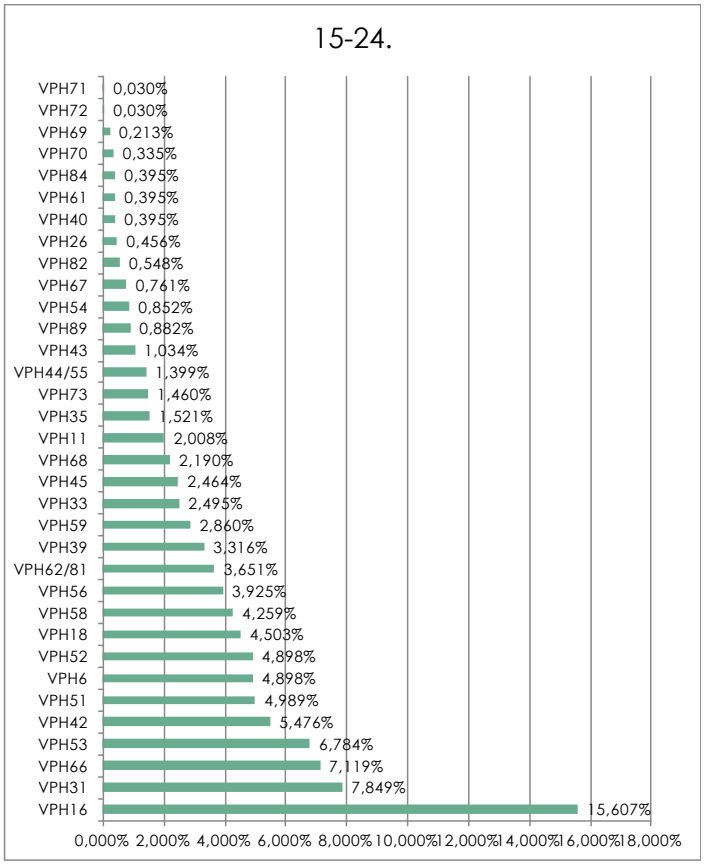


Tabla 31. Prevalencia de infección por grupos de edadentre mujeres sin lesiones citológicas ni antecedentes ginecológicos.

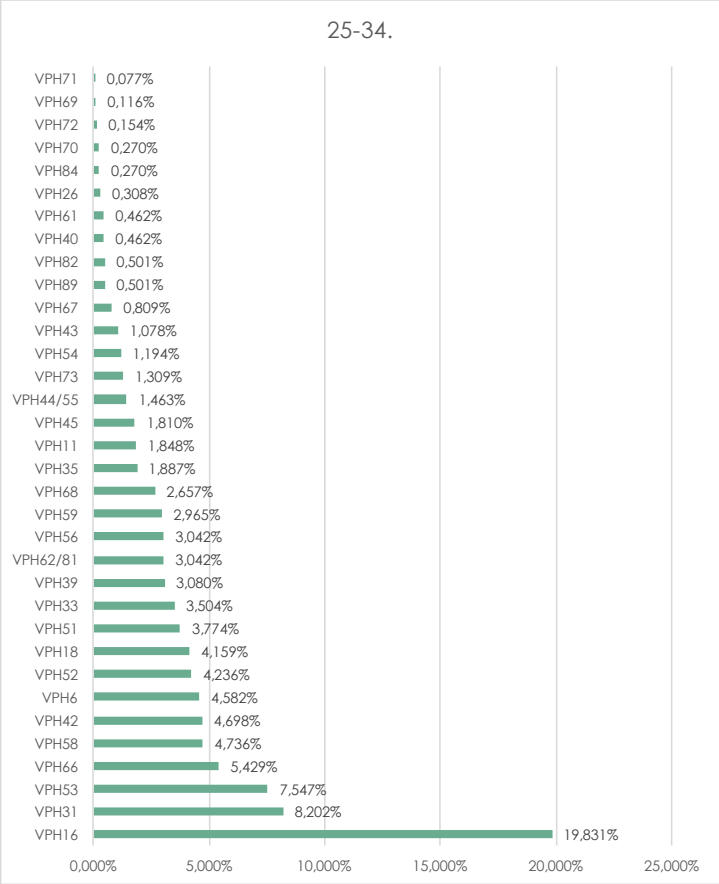
Grupos de edad	Número de muestras	VPH Positivo	Prevalencia (%, IC 95%)
15-24	114	14	12,281 (6,87-19,74)
25-34	117	12	10,256 (5,41-17,23)
35-44	130	7	5,38 (2,19-10,78)
45-54	116	2	1,72 (0,29-6,08)
55-64	93	0	0
65-75	24	1	4,16 (0,105-21,12)

Entre el total de mujeres infectadas, se desglosa el porcentaje de mujeres infectadas por cada genotipo entre los grupos de edad seleccionados (Gráficas 27 a 32). Se observa que en todos los grupos de edad el VPH16 se encuentra en primer lugar, siendo el segundo el VPH31, que se encuentra en cuarto puesto en las mujeres de entre 55 y 65 años y desaparece en las mujeres mayores de 65 años.

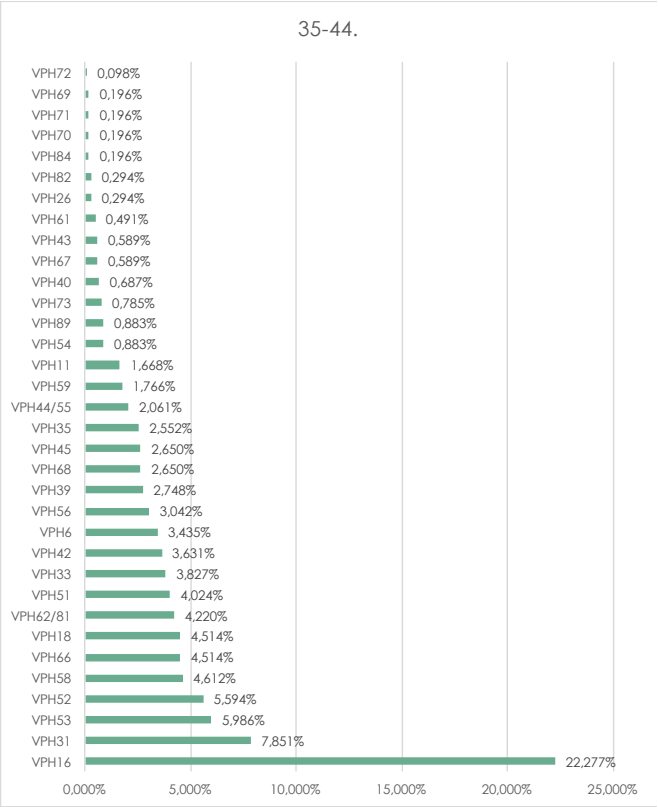
Gráfica27. Distribución genotípica en las mujeres de entre 15-24 años.



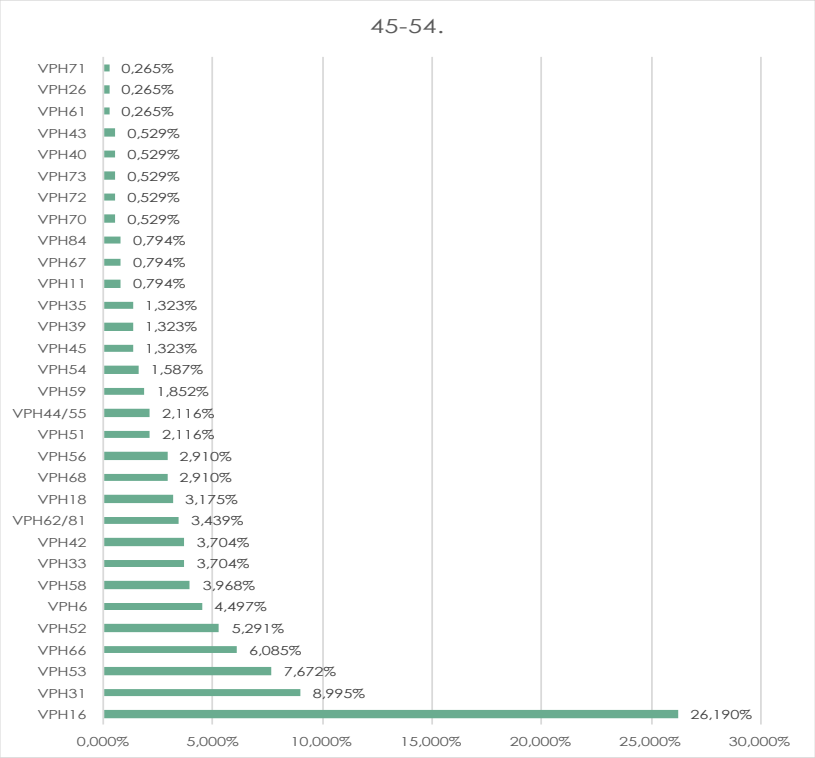
Gráfica28. Distribución genotípica en las mujeres de entre 25-34 años



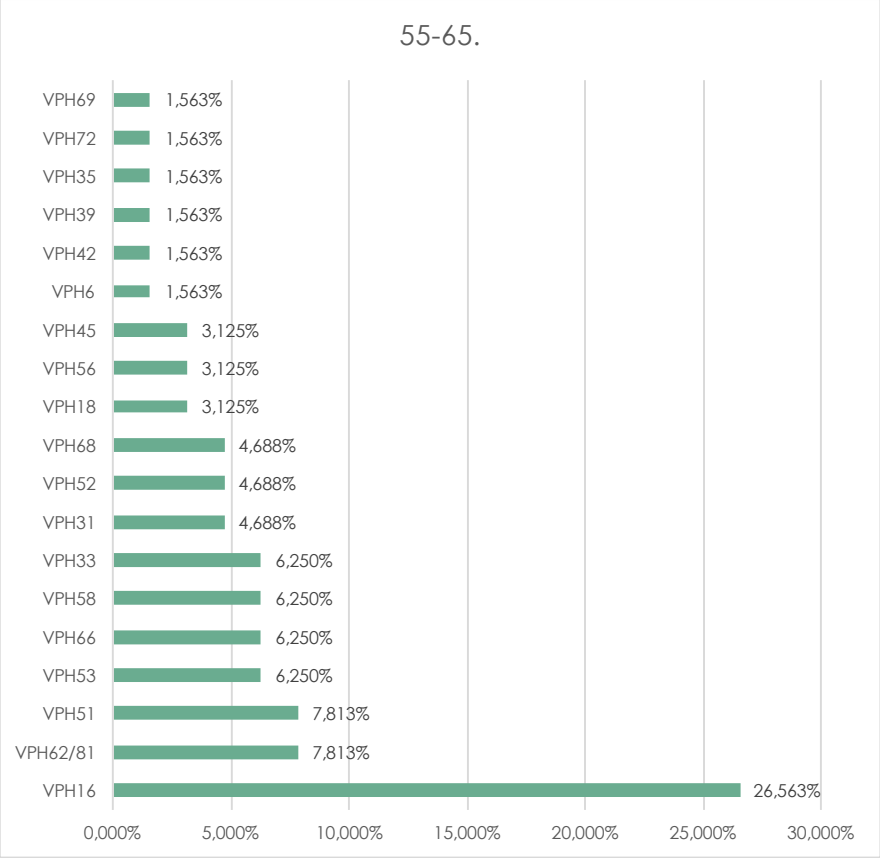
Gráfica29. Distribución genotípica en las mujeres de entre 35-44 años



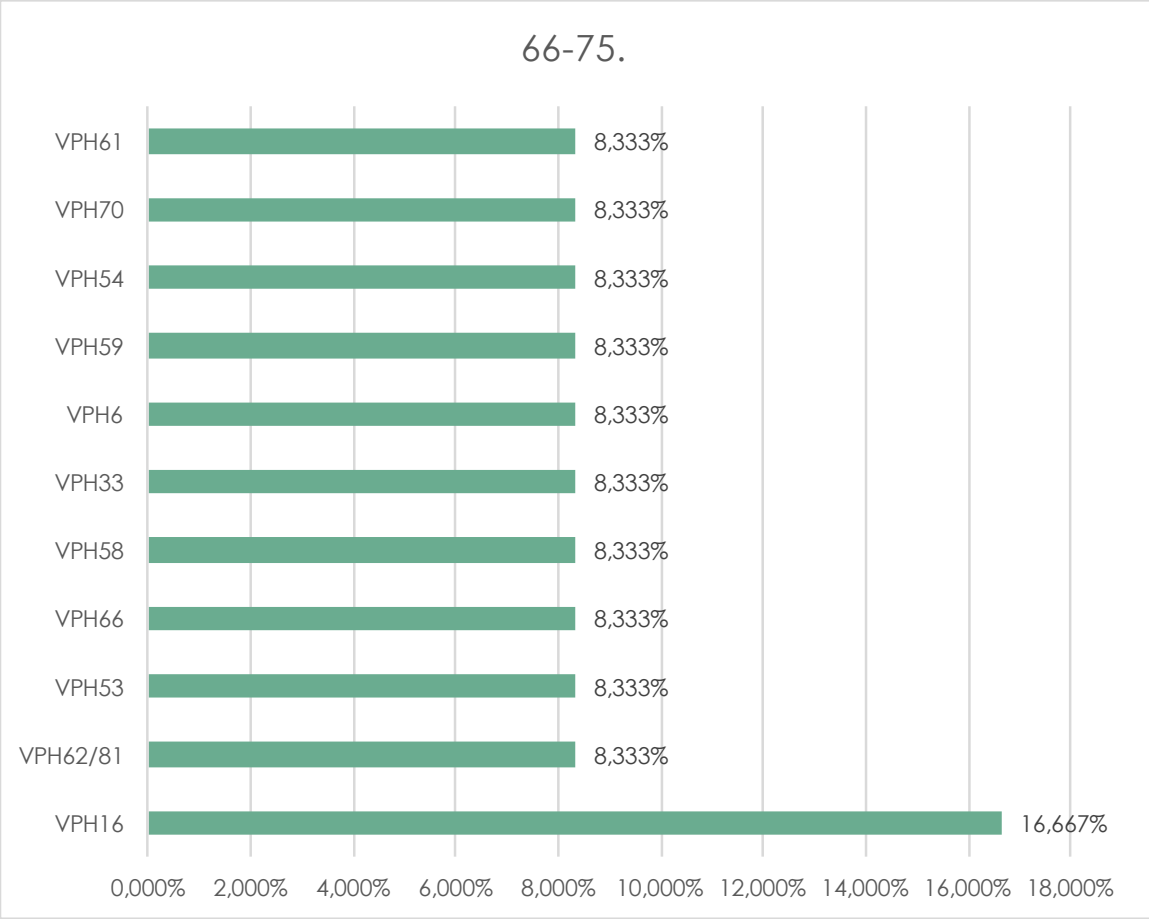
Gráfica30. Distribución genotípica en las mujeres de entre 45-54 años



Gráfica31. Distribución genotípica en las mujeres de entre 55-65 años



Gráfica32. Distribución genotípica en las mujeres de entre 66-75 años

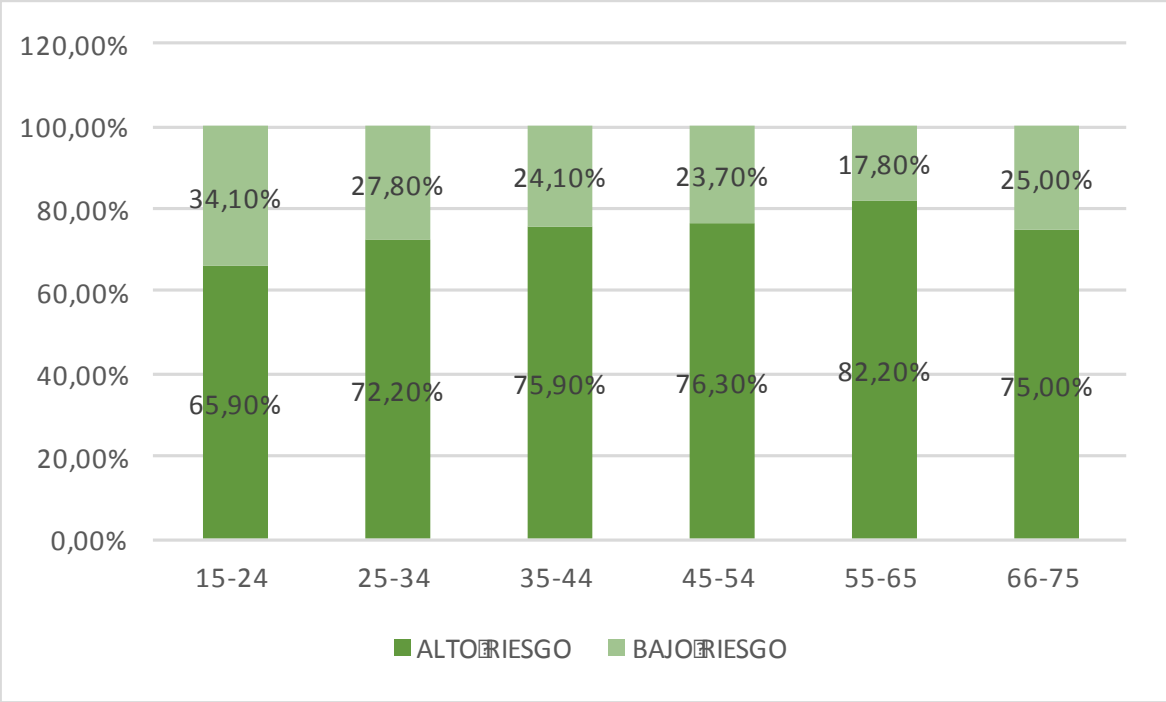


Existe relación significativa entre los grupos de edad y la aparición de infecciones por genotipos de alto o bajo riesgo,entre el total de mujeres, con un valor de Chi-cuadrado= 33,696; 5 grados de libertad y p<0,001. La mayor proporción de mujeres infectadas por genotipos de alto riesgo se encuentra en el grupo de entre 55 y 65 años, mientras que las de bajo riesgo predominan entre las menoresde 25 años (Tabla 32 y Gráfica 33)

Tabla 32. Distribución de genotipos de alto y bajo riesgo por grupos de edad

RIESGO	15-24	25-34	35-44	45-54	55-65	66-75	Total
ALTO RIESGO	1037	1027	476	187	37	6	2770
	65,90%	72,20%	75,90%	76,30%	82,20%	75%	70,60%
BAJO RIESGO	536	396	151	58	8	2	1151
	34,10%	27,80%	24,10%	23,70%	17,80%	25%	29,40%
Total	1573	1423	627	245	45	8	3921

Gráfica 33. Distribución de genotipos de alto y bajo riesgo por grupos de edad

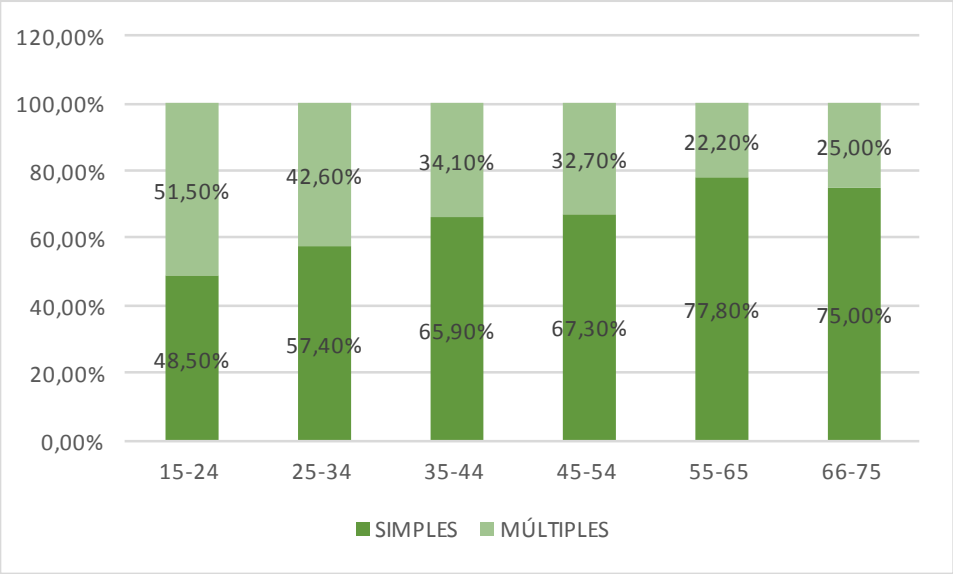


Existe relación significativa entre los grupos de edad y la aparición de infecciones simples o múltiples con un valor de Chi-cuadrado= 84,451; 5 grados de libertad y p<0,001. La mayor proporción de infecciones simples se da en mujeres de entre 55 y 65 años, mientras que las infecciones múltiples predominan en las mujeres menores de 24 años (Tabla 33 y Gráfica 34).

Tabla 33 Distribución de infecciones simples y múltiples por grupos de edad

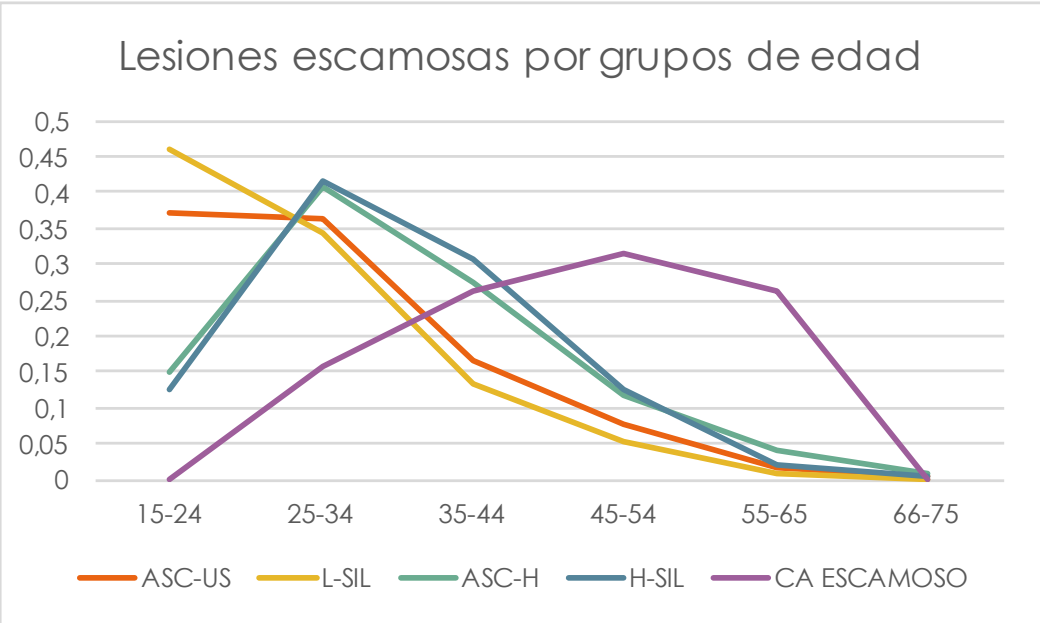
GENOTIPOS	15-24	25-34	35-44	45-54	55-65	66-75	Total
INF. SIMPLES	763	817	413	165	35	6	2199
	48,50%	57,40%	65,90%	67,30%	77,80%	75%	56,10%
INF MÚLTIPLES	810	606	214	80	10	2	1722
	51,50%	42,60%	34,10%	32,70%	22,20%	25%	43,90%
Total	1573	1423	627	245	45	8	3921

Gráfica 34. Distribución de infecciones simples y múltiples por grupos de edad



Existe una distribución estadísticamente significativa (Chi-cuadrado= 418,186, 20 gl, p<0,001) entre los grupos de edad y las lesiones escamosas. El 37% (IC 95%: 34,612-39,546) de los ASC-US y el 46,21% (IC 95%: 44,249-48,188) de los L-SIL se diagnostican entre los 15-24 años, el 40,83% (IC 95%: 31,622-50,044) de los ASC-H y el 41,71% (IC 95%: 37,45-45,97) de los H-SIL se encuentran entre los 25-34 años. Finalmente los carcinomas escamosos son más frecuentes entre los 45-54 años con una frecuencia del 31,57% (IC 95%: 12,576-56,550) (Gráfica 35).

Gráfica 35. Porcentaje de lesiones escamosas por grupos de edad



5. Tiempos de progresión, persistencia, remisión y aclaramiento.

El tiempo medio de progresión, tiempo que tarda una L-SIL por cualquier genotipo en convertirse en un H-SIL o carcinoma escamoso es de 7,843 años (ET= 0,23; IC 95%= 7,386 – 8,30). El tiempo medio de regresión, tiempo que tarda en desaparecer los cambios citológicos asociados a un L-SIL por cualquier genotipo, es de 1,63 años (ET=0,038; IC 95%= 1,564 – 1,715). El tiempo medio de persistencia, tiempo máximo en el que la lesión sigue siendo un L-SIL o un H-SIL, es de 4,6 años (ET= 0,156; IC 95%= 4,31-4,92). El tiempo medio de aclaramiento de la infección, cuando tras al menos dos determinaciones genotípicas no se detecta el VPH, es de 3,67 años (ET=0,149; IC 95%= 3,38-3,96). Los tiempos medios de progresión, persistencia, remisión y aclaramiento, asociados a genotipos de alto y bajo riesgo se indican en la Tabla 34.

Tabla 34. Tiempos medios de progresión, persistencia, remisión y aclaramiento, asociados a genotipos de alto y bajo riesgo.

GENOTIPOS	PERSISTENCIA a. (IC 95%)	PROGRESIÓN a. (IC 95%)	REGRESIÓN a. (IC 95%)	ACLARAMIENTO a. (IC 95%)
Alto Riesgo	6,74 (6,11-6,83)	8,51 (8,18-8,85)	2,06 (1,88-2,24)	3,66 (3,32-3,99)
Bajo Riesgo	5,06 (4,69-6,51)	7,66 (7,13-8,20)	2,22 (1,72-2,71)	3,74 (3,04-4,44)
Total	4,6 (4,31-4,92)	7,84 (7,38-8,30)	1,63 (1,56-1,75)	3,67 (3,38-3,96)

El porcentaje de mujeres L-SIL que regresa es del 83,7%, el de persistencia es del 31,8% y el de regresión del 5,3%.

6.Control de Calidad

El control de calidad de los resultados citológicos se realiza en función de los parámetros ya indicados. Se pueden calcular a partir de la Tabla 18.

El porcentaje de citologías no valorables asciende al 3,8%. El porcentaje de células escamosas atípicas (ASC) es del 1,03%. La razón ASC/SIL es del 0,63% y elporcentaje de ASC-US positivos para genotipos de alto riesgo del 61,45% (72,41% para todos los genotipos).

DISCUSIÓN

VII. DISCUSIÓN

El cáncer de cérvix uterino es la décima causa de cáncer entre mujeres y la decimotercera causa de muerte por cáncer en España, suponiendo el 10,6% de todos los tumores femeninos (1). En la Comunidad Extremeña la tasa de mortalidad, por este tipo de cáncer fue de: 1,21 casos/100.000mujeres en la provincia de Badajoz y 0,93 casos/100.000mujeres en Cáceres, frente a un 1,51 casos/100.000mujeres en España(2).

1. Consideración inicial

La Organización Mundial de la Salud define el cribado como "la aplicación sistemática de una prueba para identificar a individuos con un riesgo suficientemente alto de sufrir un determinado problema de salud como para beneficiarse de una investigación más profunda o una acción preventiva directa, entre una población que no ha buscado atención médica por síntomas relacionados con esa enfermedad" (164). En 2009 la *UK NationalScreeningCommittee* (NSC) lo definió como "un servicio de salud pública en el que los miembros de una población determinada, que no necesariamente tienen un mayor riesgo, o están afectados por una enfermedad o sus complicaciones, son invitados a someterse a preguntas o pruebas para identificar a aquellos individuos con mayor probabilidad de obtener un beneficio más que un perjuicio, causado por las sucesivas pruebas o el tratamiento, para reducir el riesgo de dicha enfermedad o sus complicaciones" (165) e introduce los conceptos de relación entre beneficios y riesgos de la ejecución de los cribados, entendiendo el beneficio como la posibilidad de reducir el riesgo de padecer una enfermedad y no la garantía de su curación o de su aparición futura.

El cribado facilita un diagnóstico precoz que permite mejorar el pronóstico en una gran parte de los pacientes detectados con la ventaja de tratamientos menos agresivos y costosos. Pero el cribado también tiene desventajas y riesgos. Los pacientes en los que la detección precoz no suponga una mejora en su pronóstico sufrirán un periodo de morbilidad mayor por el adelanto del diagnóstico. La detección de anomalías de pronóstico incierto o lesiones precursoras puede derivar en sobrediagnóstico y sobretratamiento. El aumento inicial en los costes es evidente, no sólo por la infraestructura y los recursos materiales y humanos necesarios, sino también por el aumento de la carga que supone para el sistema de salud la confirmación diagnóstica y el eventual tratamiento de los casos

detectados. Sin embargo, a largo plazo, el programa podría tener un menor coste global, al disminuir la prevalencia de casos graves que exigen una asistencia más frecuente y costosa. Los casos con resultados falsos negativos podrían derivar en retrasos diagnósticos ante la aparición de síntomas. Las mujeres con resultados falsos positivos sufrirán el riesgo de efectos adversos asociados a las pruebas confirmatorias y en el peor de los casos, un tratamiento inapropiado. Por último, como en todo acto médico, existen efectos adversos potenciales asociados a las pruebas y al tratamiento.

El resultado de una única prueba de cribado sólo permite discriminar a los individuos con un mayor riesgo de sufrir la enfermedad,por lo que se precisará de una confirmación diagnóstica. LaOMS también considera que el cribado debe enmarcarse dentro de un planmás amplio de control de la enfermedad con un programa integral que incorpore los pasos del proceso de cribado, incluido el diagnóstico y eltratamiento(166).

Los estudios de cribado pueden ser de tipo oportunista o enmarcarse dentro de programas de cribado definidos. Los cribados dentro de programas organizados (poblacionales) cuentan con recomendaciones oficiales que definen el tipo de prueba a realizar y la población diana a la que va dirigida, así como los recursos para llevar a cabo controles de calidad protocolizados. El cribado oportunista se lleva a cabo a petición de los usuarios o con motivo de otra consulta médica, por lo que es una actividad no sistematizada. En este tipo de cribado nohay una especificación de los beneficios de salud esperados en términos deprevención de la carga de enfermedad y existe poca capacidad demonitorización o evaluación. Por este motivo su impacto en salud es incierto y sus garantías de calidad cuestionables. La eficacia y la eficiencia de los cribados oportunistas están comprometidas por no someterse a controles que evalúen la relación coste/beneficio de sus resultados, ni su impacto en la salud de la población o por no contar con todas las garantías de calidad.

En Extremadura, el cribado oportunista comenzó en el año 1989asumiendo los distintos controles de calidad descritos en cada momento(167). Gracias a la distribución del sistema sanitario fueron atendidas mujeres de todas los estratos sociales, si bien el nivel cultural y educativo de las mujeres incluidas en el estudio también influye en su predisposición a este tipo de estudios. El cribado fue establecido para mujeres mayores de 20 años o menores sexualmente activas(167).

2. Características de la población del estudio

La población media de Extremadura entre los años 2002 y 2013 fue de 1.092.613 personas con una cobertura sanitaria del 97,36%. El 54,42% (594.604) fueron mujeres, con una edad media de 42,37 años. El mayor porcentaje de éstas se encuentra entre los 35 y 54 años(INE 2014, http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=/t20/e245/p08/&file=pcaxis).

Sin embargo la población diana de nuestro estudio son aquellas mujeres incluidas en el marco teórico ya definido. En este sentido, en el presente estudio se incluyen 355.938 citologías, que supone la totalidad de las citologías llevadas a cabo en el plan de cribado citológico oportunista de la Comunidad extremeña entre los años 2002 y 2013. Este número de citologías corresponden a un total de 173.841 mujeres. Considerando que la población media de mujeres mayores de 15 años durante ese mismo periodo de tiempo fue de 470.891 de un total de 549.604, se puede afirmar que se ha muestreado al 36,91% de la población diana.

De hecho los principales estudios llevados a cabo hasta la fecha, son metaanálisis que agrupan a las mujeres de distintos estudios individuales como son los casos de los estudios de Bruni y cols.(169), que incluye un total de un millón de mujeres sin lesiones citológicas, al igual que el de De Sanjosé y cols.(8), con 157.879 mujeres o Clitford y cols.(7), con15.613 mujeres.Los estudios CLEOPATRE de España y Portugal cuentan con un total de 3.261 y 2.326 mujeres respectivamente. Entre los estudios llevados a cabo en otras comunidades españolas, Delgado y cols.(287)tan sólo incluye a 106 mujeres (País Vasco), el de García-García incluye a 1.660 mujeres (Valencia) y Gomez-Román y cols.(286) a 2.362 mujeres de las comunidades de Cantabria y Castilla-León. Tan sólo en un reciente estudiode 2015, de De Sanjosé y cols.(290) incluyen la totalidad de citologías realizadas en Cataluña entre 2006 y 2012, lo que asciende a 758.690 citologíasque corresponden a 595.868 mujeres, llevándose a cabo 116.970 estudios del VPH, con una prevalencia de infección del 6,7%. Sin embargo, teniendo en cuenta que la población media de mujeres de 15 años o más en Cataluña durante ese periodo de tiempo (2006-2012) fue de 3.217.436 de un total de 3.764.998 de mujeres(INE 2014, http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=/t20/e245/p08/&file=pcaxis),el porcentaje de mujeres estudiadas se reduce al 18,51%, siendo la mitad de la proporción estudiada en Extremadura, donde además, se ha realizado seguimiento con al menos dos citologías al 50,39% de la población, aunque a intervalos de tiempo variables e irregulares. Este

porcentaje es similar al reportado en la Guía de cribado del cáncer de útero en España(93), del 54,3% de cobertura a la población, a los 3 años.

La edad media del total de mujeres incluidas en todos los estudios citológicos fue de 37,98 años. La mayor edad media provino de las citologías de las mujeres procedentes de Badajoz (39,92 años) y las de menor edad media de las procedentes de Plasencia (34,24años). La mayor proporción de citologías provenientes de Badajoz, Don Benito-Villanueva, Llerena-Zafra,Cáceres, Coria y Navalmoralde la Mata pertenecieron a mujeres comprendidas entre los 35 y 44 años, mientras que en Mérida y Plasencia la mayor proporción de citologías procedían de mujeres de entre 25 y 34 años. Esta distribución puede ser aleatoria puesto que las poblaciones de las distintas áreas presentanproporciones poblacionales por grupos de edad muy similares(http://www.saludextremadura.com/documents/19231/562415/Plan+Marco+de+Educación+para+la+Salud,+Extremadura+baja+resoluc+para+web3.pdf).Es de reseñar que el 71,17% de las muestras corresponden a mujeres de entre 25 y 44 años, periodo en el que como veremos se encuentra el mayor número de lesiones precursoras. Sin embargo, el número de mujeres en el grupo de edad donde se encuentra el mayor número de lesiones de alto grado y la mayor probabilidad de presencia de carcinoma de cérvix, queda fuera del estudio y junto a un seguimiento de tan sólo el 50% de las mujeres estudiadas, el cribado oportunista llevado a cabo queda muy lejos del 85% de cobertura recomendada por las autoridades sanitarias y explica porqué el 60% de los carcinomas cervicales detectados corresponde a mujeres sin citologías previas(93).

Respecto a la edad,principal variable de nuestro estudio, existen 6.861 (1,92%) citologías sin especificar este dato, lo que determina una pérdida de información, que se refleja en la salida de 6 casos de ASC-US, 28 de L-SIL, 1 de ASC-H y 4 de H-SIL, delosanálisissubsiguientes.Por Áreas de Salud es el de Llerena-Zafra, con un 3,3% la que con mayor frecuencia excluye esta información, seguida por Mérida (2,4%) y Badajoz (2,1%). En este sentido, también se identifican valores extremos, con pacientes codificadas con edades menores a 15 y mayores a 75, que según el marco teórico indicado anteriormente, serán excluidas de los estudios subsiguientes. Existen 35 casos con un registro de edad inferior a 15 años, en los que no ha sido posible corroborar la veracidad de este dato, saliendo del estudio un diagnóstico de L-SIL. De igual forma se incluyen 783 estudios citológicos de mujeres mayores de 75 años, en las que se identifican tres ASC-US, cuatro H-SIL, un carcinoma escamoso y nueve adenocarcinomas. El objeto de este estudio

es valorar la prevalencia de lesiones escamosas asociadas a VPH, por lo que no supone una perdida significativa la no valoración de los casos de adenocarcinoma, siendo no significativa la pérdida del resto de los casos, siempre y cuando el registro de la edad haya sido el correcto. El Área de Salud que contribuye con la mayor proporción de mujeres mayores de 75 años es la de Badajoz (0,4%), seguida por las de Llerena-Zafra (0,2%) y Cáceres (0,2%).

Aunque las diferencias entre las áreas de Salud son estadísticamente significativas ($p<0,001$), proporcionalmente son valores muy pequeños. Este hecho se podría evitar con sistemas exhaustivos de recogida de información sobre las pacientes y preferentemente informatizado, que impidiera generar una solicitud de estudio en caso de no cumplimentarse en su totalidad.

En el cribado del cáncer de cérvix, la tasa de participación es el parámetro clave para conseguir una relación coste-efectividad aceptable, por lo que favorecer la participación de las mujeres y la continuación de los programas de cribado, es mucho más importante que incrementar la frecuencia de las citologías o el intervalo de edades. Por este motivo en la Guía propuesta por Bladé y cols.(93) se establece un plan de entrada en el plan de cribado a los 25 años con estudios citológicos cada 3 años hasta los 30. A partir de esa edad se recomienda estudio de detección del VPH cada 5 años, hasta los 65 años. En este momento y tras tres citologías negativas o dos determinaciones de VPH negativas, se recomienda la finalización del cribado.

3. Diagnósticos citológicos

Diagnósticos

La descripción de los diagnósticos citológicos llevados a cabo en los estudios de prevalencia de la infección por VPH, no es una acción frecuente. Los metaanálisis reseñados en la bibliografía (7), (8), (123), (170), (169), no los incluyen, dado que se limitan a las citologías normales de las mujeres objeto de estudio. Hay que referirse a trabajos puntuales para encontrar estos datos.

En el estudio CLEOPATRE liderado por Castellsagué en 2012 (153) para determinar la prevalencia y distribución genotípica de la infección por el VPH en España, se refiere un porcentaje de alteraciones citológicas del 2,1%. Este valor es el más bajo de los encontrados en el estudio CLEOPATRE realizado en Portugal en el año 2011 por Pistay

cols.(179)donde también incluyen datos de otros trabajos en relación a países de nuestro entorno, como los de Hibbitts y cols.(275)referentes a Reino Unido, Kjaer y cols.(76) a Dinamarca o Rossi y cols.(183)a Italia. Tras España el siguiente país con el ratio de alteraciones citológicas más baja, es Italia con un 2,4% (183); correspondiendo la más alta al Reino Unido con el 7% (275), sólo discretamente más alta que las de Portugal con un 6,2% (179) y Dinamarca con el 6% (76). Según las indicaciones del Colegio Americano de Patólogos (145)este ratio debe encontrarse por debajo del 5%. Ratios superiores no indican una mala praxis, pero si obligan a buscar una explicación que puede encontrarse en una población de mayor riesgo o que exista cierta tendencia a sobrediagnosticar cambios citológicos reactivos como ASC-US o ASC-H, o bien, infradiagnosticar lesiones intraepiteliales de bajo grado como ASC-US.

Entre las mujeres extremeñas del presente estudio, una vez excluidas las citologías no valorables, se ha encontrado una prevalencia de alteraciones citológicas del 2,94% (IC 95%: 2,893-3,004%). Aunque los valores son discretamente superiores a los encontrados por Castellsagué(153) siguen siendo inferiores a los descritos en el resto de países de nuestro entorno como Portugal, Dinamarca, Italia o Reino Unido (179), (76), (292), (275). No obstante el resultado de este estudio se encuentra próximo al valor referido porBladé y col. (93), que estiman el número de mujeres con citologías anómalas entre el 3,3% y el 3,5%.

Saliendo de nuestro entorno, se han encontrado cifras tan bajas como un 1,80% en Irán (293) o tan elevadas como el 16,90% en Sudáfrica (204). Esta variabilidad, dependiente en gran medida de las costumbres sexuales, de la población elegida y su distribución o de los modelos de cribado, hace más aconsejable buscar modelos de calidad que establezcan unas proporciones estandarizadas de los resultados citológicos, más que comparar frecuencias de citologías anómalas en los distintos estudios (294), (146), (147), (148). Por ese motivo, entre los estándares adoptados por el Colegio Americano de Patólogos (149) también se incluye la proporción ASC/SIL.

En el presente estudio los porcentajes de diagnósticos citológicos obtenidos durante el periodo de tiempo seleccionado, se encuentran dentro de los estándares de calidad recomendados por el Colegio Americano de Patólogos (149), obteniendo que los porcentajes de ASC-US (1%), ASC-H (0,10%), LSIL (1,60%), HSIL (0,30%) y ACG (0,02%) se encuentran entre los percentiles 5 y 10. Sin embargo la presencia de citologías no valorables se encuentran fuera del percentil 95. Este dato viene determinado por factores preanalíticos y se encuadra dentro de la categoría diagnóstica de Bethesda(43) “no

satisfactoria por escasez de muestra, hemática o artefactada". Con estos datos es posible determinar la razón ASC/SIL que se encuentra en 0,63 (próximo al percentil 5). En nuestro laboratorio existe un continuo control y seguimiento de respuestas en relación al número de ASC-US y de la razón ASC/SIL que junto al uso de citología líquida puede favorecer una razón ASC/SIL tan baja. Estas posibles combinaciones ya fueron estudiadas por Juskevicius y cols.(295).

Comparado con los países de nuestro entorno, tan sólo Portugal (179) presenta una razón ASC/SIL similar a la del presente estudio, del 0,7. Esta coincidencia nos parece relevante desde el punto de vista de la proximidad geográfica, si bien no tienen porqué coincidir las costumbre sociales o conductas sexuales. Respecto a la razón ASC/SIL del estudio CLEOPATRE español (153), se obtiene un valor casi doble al de nuestro estudio, de 1,3 que se encuentra dentro del percentil 25. Los resultados de Reino Unido (1,94) e Italia (2,1) se encuentran en torno al percentil 50.

No obstante, al tratarse de una de una fracción, dela razón ASC/SIL puede obtenerse un valor dentro de los percentiles 5 y 95 si ambas categorías presentan valores anómalos. Por este motivo, un mejor control de calidad vendría determinado por el ratio de ASC-US positivos para VPH de alto riesgo. El valor de este parámetro en el presente trabajo es del 61,45%. Atendiendo al trabajo de Ko y cols.(296) el valor medio de este parámetro debe encontrarse entre el 40% y el 50%. Para algunos autores (148), estos datos les hace suponer que exista cierta tendencia del laboratorio a considerar las lesiones intraepiteliales de bajo grado como ASC-US y estas como lesiones reactivas. Estos mismo autores consiguen un ratio medio de ASC-US positivos para VPH de alto riesgo de entre 45,8% y 46,1%. Sin embargo en el estudio CLEOPATRE español se indica una proporción de ASC-US/ASC-H/ACG positivas para HC2 del 80.9%, valor igualmente elevado aunque no se especifique el porcentaje de genotipos de alto riesgo y se produzca un sesgo que no podemos valorar. En el estudio CLEOPATRE portugués este valor es del 36,8%, indicado para ASC-US y genotipos de alto riesgo. Rosi y cols.(292) indican un valor del 29%.

Es importante resaltar que estas herramientas no son medidas de la precisión del diagnóstico citológico, ya que no permiten identificar la presencia de verdaderos positivos, falsos positivos, verdaderos negativos o falsos negativos, imprescindibles para establecer la especificidad y sensibilidad de un estudio. La verdadera exactitud del diagnóstico citológico tan sólo se establece mediante correlación cito-histológica o mediante revisión

de laminillas a doble ciego. Estas herramientas sirven para medir el desempeño de las citotécnicas, ofreciendo un medio confidencial de mejora del laboratorio.

Las citologías no valorables son aquellas en las que la detección de alguna alteración citológica es imposible. Este tipo de muestra es causa de falsos negativos por lo que su proporción debe ser lo más baja posible. En nuestro estudio suponen el 3,8%, fuera del percentil 95, existiendo dos Áreas de Salud, Navalmoral de la Mata y Plasencia, donde este porcentaje alcanza el 6,2% y 6,3% respectivamente. En el estudio CLEOPATRE (España)(153), se identificó un 1,9% de citologías no valorables y en los laboratorios británicos se encuentra entre el 1-2%(154). Las principales causas de muestra no satisfactoria son la escasez de celularidad epitelial endocervical, abundante celularidad inflamatoria, exceso de sangre o presencia de material extraño. A estas causas puede contribuir la falta de material adecuado para la toma y transporte de las muestras, escasa preparación técnica o falta de pericia para identificar las lesiones citológicas. La existencia de controles internos, como los mencionados arriba y formación continuada de todos los miembros implicados en el proceso, contribuirán a mejorar los resultados del cribado citológico. La necesidad de repetir la toma aumenta el coste del cribado sin un considerable aumento en la tasa de detección de anomalías epiteliales.

4. Diagnósticos citológicos y distribución por edades

Como ya se comentó arriba, no es frecuente incluir los diagnósticos citológicos en los estudios de prevalencia del infección por VPH. También es habitual establecer rangos de edad hasta cierto punto arbitrarios. En el presente estudio se opta por crear grupos de edad en relación con los intervalos de edades que se recomiendan en el algoritmo de cribado aceptado actualmente España (93) y que también coincidan con la distribución por edades de las estandarizaciones internacionales(13). Los estudios sobre la población española que incluyan la distribución de los diagnósticos citológicos por edades son escasos. Así en el estudio CLEOPATRE realizado en España (153) tan sólo se indica la prevalencia de lesiones citológicas para un grupo de mujeres, el que corresponde a las edades de entre 18 y 25 años (2,9%), sin especificar qué lesiones citológicas son las que se encuentran. En el estudio de Delgado y cols.(287) sobre una población de mujeres de el País Vasco, tan sólo reseñan la edad media de las pacientes, observándose un incremento progresivo de la edad

paralelo al aumento del grado de la lesión, con 30,8 años de media para las lesiones LSIL y de 38,7 años para las HSIL.

De entre otras regiones de nuestro entorno, en el estudio de Rossi y cols.(183) se describe el mayor pico de lesiones de bajo grado en el grupo de edad de entre 25-34 años (51,4%), siendo el pico de lesiones de alto grado para las mujeres de entre 35 y 44 años (50.0%). Rana y cols.(297) en una revisión de 610 citologías indican el mismo tipo de distribución, con un 25% de pacientes con LSIL incluidas en el grupo de 31 a 40 años, siendo el porcentaje de mujeres con HSIL de 37,5% en el grupo de edad de 41 a 50 años y para el carcinoma de cervix, en el grupo de edad de 51-61 años (33,3%). En este trabajo (297)también se incluyen las edades medias de las principales lesiones citológicas, observándose un incremento progresivo de la edad en paralelo con la severidad de la lesión citológica, con una edad media para LSIL de 33,4 años, para HSIL de 44 años y para carcinoma escamoso de 59 años.

En nuestra experiencia, aunque la prevalencia de lesiones escamosas fue similar en las distintas Áreas de Salud, las diferencias encontradas fueron significativas. La mayor proporción de lesiones de alto grado (H-SIL y Carcinoma escamoso) se encontraron en el Área de Salud de Navalmoral de la Mata. Este área es eminentemente rural y presentan una mayor dificultad de acceso a los centros de recogida de muestra, además de ser la población con una edad media elevada (38,95 años) y encontrarse la mayor proporción de las mujeres examinadas en el grupo de edad de 35 a 44 años.Tambiénse encontró un aumento progresivo de la edad media paralelo al incremento del grado de lesiones citológicas. En las mujeres con ASC-US se observó una edad media de 29,75 años, en las mujeres con L-SIL de 27,74; en las diagnosticadas con ASC-H, 34,48; con H-SIL de 34,62 ycon carcinoma escamoso de 47 años. En el presente estudio se aprecia una clara asociación entre la edad y el grado de lesión, con medias de edad discretamente inferiores a las reseñadas por Delgado y cols.(287) y Rana y cols.(297). El pico de las lesiones de bajo grado se encontró en el grupo de mujeres menores de 25 años (46,25%) y el de HSIL en el de 36 a 45 años (41,7%).

La lesión escamosa másprevalente es L-SIL apareciendo más frecuentemente en los grupos de edad más bajos. Catellsagué y cols.(153)en el estudio CLEOPATRE informan de un 0,8% de presencia de L-SILy de un 0,1% de H-SIL en España. En el presente estudio sobre Extremadura, estas cifras son mayores para L-SIL (1,55%) y menores para H-SIL(0,3%).

En el presente estudio se han identificado 2.544 mujeres con LSIL, frente a 540 con HSIL. Este dato se encuentra en las estimaciones de la carga de enfermedad por infección de VPH en España descrita por Bladé y cols.(93) con una estimación de 159.352 mujeres con LSIL, frente a una media 73.255 con HSIL. Estos resultados también se encuentran en los trabajos de Rossi y cols.(183) o de Rana y cols.(297).

Así pues, las mujeres menores de 24 años presentan los mayores porcentajes de L-SIL, porcentajes que van decreciendo progresivamente con la edad. Con las lesiones de alto grado ocurre lo contrario, van aumentando con la edad. Independientemente de los grupos de edad seleccionados, estos datos se solapan por los descritos por otros autores y podemos adherirnos a sus conclusiones, es decir, sugerir que la mayor frecuencia de infecciones en mujeres jóvenes está en relación con los hábitos sexuales y que la persistencia de las infecciones por genotipos de alto riesgo a lo largo del tiempo, favorecen la transformación progresiva de las lesiones (8), (79), (169), (153), (183), (268), (269), (270), (284), (93), (297).

5. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR VPH ENTRE MUJERES CON CITOLOGÍA NEGATIVA Y SIN ANTECEDENTE GINECOLÓGICOS.

Los principales estudios epidemiológicos llevados a cabo a nivel mundial, ya sean los realizados por Clifford y cols.(7), Sanjosé y cols.(8), Castellsagué y cols.(123),Dutra y cols.(170) o Bruni y cols.(169)son metaanálisisdepublicaciones en las que se incluyen datos sobre mujeres sinalteraciones citológicas ni antecedentes ginecológicos, sobre las que se realizan estudios moleculares para identificar la existencia de infección por VPH. Las mujeres incluidas en estostrabajos proceden de estudios poblacionales, de cribados rutinarios, de estudios de casos controles o de otros tipos de estudios transversales, donde se han empleado métodos de selección de mujeres, criterios de cribado, métodos de detección genotípica e incluso distribuciones por edad y ajustes de tasas por grupos de edad muy diferentes(169).No obstante, este procedimiento consigue una homogeneización en las comparaciones de los distintos resultados. Así estos autores consiguieron poblaciones globales que oscilaron entre las 157.879 mujeres del meta-análisis de Clitfford y cols.(7) al millón de mujeres incluidas en el de Bruni y cols.(169), con presencia de mujeres de todas las regiones del mundo.Medianteeste procedimiento se estimó la

prevalencia de la infección por VPH y la distribución de genotipos ajustadas por grupos de edad en las distintas regiones del mundo.

En el metaanálisis de Bruni y cols.(169) se estima una prevalencia cruda y ajustada por grupos de edad y región geográfica de mujeres sin alteraciones citológicas con infección por VPH del 7,2% y el 11,7% respectivamente. En ese estudio(169) pudieron comprobar marcadas variaciones por regiones geográficas y edad, encontrando mayores prevalencias de infección en las regiones de África (21,1%) y de América Latina (16,1%) que en las regiones de Europa (14,2%), América del Norte (4,7%) o Asia (9,4%).

La *ICO HPV Inforamtioncentre*estima una prevalencia de infección por VPH para la población general de mujeres, del 11,9% en Europa (172), con amplias variaciones que van desde el 4,3% en Alemania (196), (298), hasta el 22,8% de Dinamarca (76), pasando por la estimación en España del 14,1% (153).

En el presente trabajo, no todas las mujeres sin lesiones citológicas a las que se les practica estudios moleculares estaban exentas de lesiones previas o historia ginecológica anterior, por lo que se realizó una búsqueda de mujeres que cumplieran estos requisitos. Se identificaron 596 mujeres de donde se extrajo una prevalencia cruda de infección por VPH del 6% y una vez ajustada por grupos de edad, del 5,74%. Este valor es inferior al encontrado por Castellsagué y cols.(153)en el estudio CLEOPATRE llevado a cabo en España para la estimación de la prevalencia de infección por VPH en las mujeres sanas, donde se obtuvo una prevalencia ajustada por edades del 14,3% para la población española, si bien existían claras variaciones entre comunidades autónomas. Para Extremadura, estos autores (153)estimaron una prevalencia de entre el 15% y el 16%,si bien tan sólo se contó con una muestra de 92 mujeres, muy lejos del tamaño muestral sugerido en Epidat®, en torno a 600 mujeres, para calcular una prevalencia esperada del 10% (media de las distintas publicaciones) conun intervalo de confianza del 95% y una precisión de 2-3%.La mínima prevalencia encontrada por estos autores (153)correspondió a la Comunidad Cántabra, en torno al 7%-8%, más próxima a la prevalencia encontrada en nuestro estudio, y la prevalencia más alta correspondió a la Comunidad de la Rioja, con una prevalencia superior al 20%. Estas variaciones han sido descritas desde los primeros trabajos publicados sobre el tema. Así en el año 1992,Mugica-van Herckenrode y cols.(278) informaron de una prevalencia de casos de infección por VPH-AR en el País Vasco del 17%, muy superior a la prevalencia cruda y para todos los genotipos encontrada

en nuestro estudio (6%), donde la prevalencia cruda para los genotipos de alto riesgo es de 5,89% y del 5,30% al ser ajustada por edades. Mugica-van Herckenrode y cols.(278)tan sólo buscaron la presencia de los genotipos de alto riesgo 16 y 18, mientras que en en el presente estudio se han identificado32 genotipos de alto y bajo riesgo, si bien tan sólo se han observado en esta muestra y por orden de frecuencia los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 45, 53, 56, 58, 66 y 62/81. En el año 1996, Muñoz y cols.(279) publican uno de los primeros trabajos donde se indica la prevalencia global de la infección por VPH en España, con la peculiaridad de compararla con los hallazgos de otros centros sanitarios de Brasil y Colombia. La prevalencia global estimada para toda su muestra fue del 10,5%, siendo superior para la muestra de Brasil (17%) y Colombia (13%). Sin embargo para la muestra española la prevalencia desciende hasta el 4,9%; un valor próximo al encontrado en el presente estudio. Muñoz y cols. (279) intentaron explicar estas discrepancias no sólo basándose en las diferencias geográficas y las previsibles costumbres sexulaes distintas, si no en los métodos de deteción vírica empleados, achacando la mayor prevalencia en Brasil al método más sensible empleado en aquella zona(PCR seguido de *suthern blot* para tipificación). Sin embargo, las diferencias encontradas en España por el estudio CLEOPATRE(153) también llegan a ser significativas entre comunidades y los métodos empleados eran semejantes. En el año 2003, De Sanjosé y cols.(280) obtienen la prevalencia más baja informada, un 3,4% para la población general de Barcelona. Un año después, Font y cols.(281) informan una prevalencia discretamente superior en otra muestra de mujeres de Barcelona, que oscila entre el 8,3% y el 9,2%. Todos estos valores se encuentran en torno al estimado en nuestra población a pesar de que en el mismo estudio CLEOPATRE(153), se estima una prevalencia para Cataluña próxima al 20%.

Entre los países europeos es en Alemania donde se estima la prevalencia más baja, del 4,3%, junto a Grecia (5,9%) (299), Países Bajos (5,6%) (274) y Suecia (6,8%) (300). Sin embargo es Tailandia donde se encuentra la prevalencia más bajadel mundo 2,9%(253). Este hecho parece estar relacionado con que la mayoría de las mujeres tailandesas tan sólo informan de una pareja sexual, mientras comprobamos que estas prevalencias no tienen aparente relación con el grado de desarrollo de los países.

Los países con las prevalencias más altas estimadas se encuentran en África, siendo Túnez el país con la más alta, del 37,5% para genotipos de alto riesgo. Son evidentes las marcadas diferencias en las estimaciones de la prevalencia de la infección por VPH tanto entre

regiones geográficas como entre países de la misma región. En el mismo trabajo de Bruni y cols.(169)seponen de manifiestolas diferencias encontradas en las distintas publicaciones referentes a los Estados Unidos de América, con prevalencias que oscilaron entre el 2,9% y el 80,8%(169), que sin llegara ser tan elevadas describe las mismas variaciones encontradas en España.

La proporción de mujeres con infección por VPH se incrementa de forma progresiva y significativa con el grado de lesión citológica, como se pudo comprobar en el presente estudio. Así el 82,68% de casos con ASC-US presentan infección por el virus; el 97,71% de los L-SIL; el 94,11% de los H-SIL y el 100% de los carcinomas escamosos.De Sanjosé y cols.(280)identifican esta misma distribución y con prevalencias similares. Sin embargo, esta distribución no se informa en todos los casos. Delgado y cols.(287) encuentran que la mayor prevalencia de infecciones se da en los casos de L-SIL sin que encuentren significación estadística.

Quizá por lo extremadamente complejo de alcanzar un valor de prevalencia valorable, en función de estudios no poblacionales y dependiendo de los métodos empleados para detectar la infección, otras publicaciones sobre comunidades autónomas específicas no tratan de establecer la prevalencia de la infección por VPH si no la prevalencia tipo específica del VPH (284), (285), (286), (289). Tanto el estudio de Lacruz y cols. en la Comunidad de Madrid (284), como el de Alemany y cols.(289) se lleva a cabo con muestras histológicas y en el último se centra en la identificación de genotipos presentes en casos de cáncer de cérvix ya establecido.

No obstante es interesante reseñar que las publicaciones de *ICO HPV Information Centre*(1), tratan de establecer la prevalencia de los genotipos 16 y/o 18 para describir la prevalencia de infección por VPH. Entre las mujeres españolas con citologías normales es del 2,7%;con lesiones de bajo grado, del 23,9%;conlesiones de alto grado, del 45,6% y con cáncer cervical del 62,8%(1), (277). En otros países de nuestro entorno como Portugal estas cifras son del 5,6% para citologías normales, el 45,3% para lesiones intraepiteliales de bajo grado, el 56,2% para las de alto grado y del 81% para los casos con cáncer de cérvix(180). En Francia la presencia de infección en las citologías normales asciende al 4,7%; en las lesiones de bajo grado al 25,5%; en las lesiones de alto grado al 57,3% y en los casos de carcinoma de cérvix al 74,8%(193).

En el presente estudio,la prevalencia cruda de mujeres sin lesiones escamosas ni antecedentes ginecológicos con presencia de VPH16 y/o VPH18 es del 1,85%y del 1,65% al ser ajustado por grupos de edad. Estos valores son inferiores a los descritos por el *ICO HPV Information Centre*(301) e incluso para Tailandia (253).

6. Distribución por edad de las mujeres infectadas por VPH

La distribución por grupos de edad de la infección por VPH demostró un pico en el grupo de menor edad (15-24 años) con un porcentaje de infecciones del 83%. Este pico coincide con el inicio de las relaciones sexuales y ha sido en el trabajo de Bruni y cols.(169). En las edades medias de la vida la frecuencia de infección decrece progresivamente, pero en el último grupo deedad (66-75 años) se produce un segundo pico aunque de menor proporción. Este patrón bimodal ya fue descrito por De Sanjosé y cols. en 2007 (8) para todas las regiones del mundo excepto para Ásia, si bien con marcadas diferenciaspara la edad en la que se producía esa inflexión. Estos autores proponían tres posibles causas para este comportamiento. La primera que en las mujeres de mayor edad se produjera un estado de inmunosupresión asociado cambios hormonales durante la menopausia que facilitaran la reactivación de infecciones latentes, pero si esto fuera así, el pico de inflexión ocurriría en todas las regiones a edades similares. Una segunda causa podría deberse a cambios en la conducta sexual de las mujeres y de sus parejas sexuales a esas edades, si bien es una conducta que se da en regiones donde este segundo pico no ocurre como Nigeria o Vietnam. Finalmente, este patrón podría deberse a efectos en la propia toma de las muestras poblacionales, lo que podría explicar las variaciones e incongruencias de este efecto en las distintas regiones del mundo(8).
En el estudio CLEOPATRE en España (153), se identifica una progresiva disminución de infecciones por grupos de edad, pero sin un segundo pico en el grupo de mujeres de mayor edad. Este mismo patrón se identifica en el estudio CLEOPATRE portugués y en otro países como Italia (182), Dinamarca (76) o Alemania (196).

La disminución progresiva de lapresencia del VPH en mujeres de más edad puede ser explicado por su carácter autolimitado y posterior eliminación, gracias a la respuesta innata dela huésped (302). En algunos casos la respuesta inmune falla para eliminar la infección y en sujetos con infección persistente, generalmente por genotipos de alto riesgo, la lesión progresa hacia un grado mayor (302), (303). Así pues, las infecciones en mujeres de mayor

edad, no parecen representar nuevas infecciones, si no infecciones de larga duración que requieren más atención y un seguimiento más estrecho debido al aumento del riesgo de desarrollar lesiones de mayor grado e incluso cáncer (251).

7. Distribución genotípica

La distribución genotípica y las prevalencias de infección por VPH dependen en gran medida de lascaracterísticas de la población de estudio, como la edad, conducta sexual, región geográfica, así como de los métodos de estudio empleados tanto analíticos comoestadísticos. El número de genotipos detectados va a influir en la distribución de sus prevalencias de igual manera que los métodos de detección y su sensibilidad y especificidad.

Por estos motivos, la prevalencia de la infección por VPH se ha restringido tradicionalmente a mujeres sin alteraciones citológicas, lo que permite comparaciones más ajustadas entre los estudios realizados. Así mismo los principales metaanálisis para identificar la distribución genotípica de esta infección se han llevado a cabo bajo el mismo principio. De nuevo el principal estudio al que referirse es el de Bruni y cols.(169). Estos autores encontraron que los principales genotipos a nivel mundial, por orden de frecuencia, fueron: 16, 18, 52, 31, 58, 39, 51, y 56. Los cinco primeros genotipos indicados contribuyen al 50% de todas las infecciones por VPH (8). El VPH16 contribuyó al 22,5% del total de las infecciones (169).

Independientemente de llevar a cabo un cribado del cáncer de cérvix, es importante identificar la prevalencia tipo-específica de, principalmente, los genotipos de alto riesgo en cada país. Este dato es de vital importancia para poder diseñar una vacuna eficaz y monitorizar sus resultados.

En el presente estudio, los diez principales genotipos de alto riesgo, identificados en mujeres con diagnóstico negativo para malignidad, por orden de frecuencia fueron: 16, 31, 53, 52, 58, 6, 66, 18, 62/81 y 33. El VPH16 contribuye con el 17,37% del total de las infecciones. El segundo puesto es para el VPH31 que contribuye al 10,10% de las infecciones.Como se aprecia el VPH18 queda relegado al octavo puesto, contribuyendo al 5,40% de las infecciones en las mujeres extremeñas. Aunque en el informe de Bruni y cols. (169) se especifica la prevalencia global de los distintos genotipos, también se incluye información sobre distintas regiones del mundo y se observa como existe una gran

variabilidad en la distribución de estos genes. Así podemos observar como en Europa continental y América Latina y Caribe, el segundo genotipo más frecuente es el VPH31 y en África Continental, los es el VPH52. Tan sólo en América del Norte y Asia continental el genotipo 18 es el segundo más frecuente.

El genotipo 16 es el más frecuentemente involucrado en lasinfecciones cervicales, pero además tiene una contribución relativa superior al del resto de genotipos El resto de metaanálisis confirman los hallazgos de Bruni y cols.(169).

Respecto a la población española, en el estudio CLEOPATRA (153) el 97,8% de la muestra correspondíaa citologías normales y se encontró como primer genotipo implicado en las infecciones al VPH16, seguido por el VPH52 y el VPH31.

La prevalencia y distribución genotípica atendiendo a las lesiones epiteliales en el presente estudio también varían. Los diez genotipos más frecuentes son el 16, 31, 53, 66, 42, 51, 52, 6, 18 y 58.

Gomez-Román y cols.(286)realizaron un estudio para identificar la prevalencia tipo específica del VPH en una población de mujeres con lesiones citológicas. Estos autores (286)encontraron discretas variaciones en la frecuencia de estos genotipos en tres regiones distintas de España: Burgos, León y Santander. Aunque el genotipo 16 seguía siendo el más prevalente, el segundo en frecuencia fue el 53 y al igual que en nuestro estudio el genotipo 18 no formaba parta de los cinco más frecuentes. García-García y cols.(285) hicieron el mismo estudio sobre 974 mujeres valencianas. Estos autores, observaron que el genotipo 31 también ocupa el segundo puesto en esta población de mujeres. En el trabajo de Lacruz(284), aunque sea un estudio sobre muestras histológicas, se observa como el genotipo el genotipo 31 también ocupa el segundo puesto en frecuencia.

En otros paises también se encuentran otros genotipos distintos al 18, como segundo en frecuencia. Es el caso de Rumanía (304) donde el 12,26% de las infecciones son causadas por el VPH31. Sin embargo, en otras regiones del mundo, el genotipo más frecuente es el 18 como en el resto de Europa, Centro y Sudamérica. En Asia los genotipos más frecuentes son el 52 y 58 y en América del Norte el 52 y 53 (7), (8). Estas diferencias en la distribución de los genotipos de VPH en diferentes áreas puede estar relacionado con diferentes hábitos sexuales y con las migraciones de población (305). De acuerdo con la mayoría de las tasas de prevalencia de otros estudios (9),(304), las infecciones por genotipos de alto riesgo son más frecuentes que por genotipos de bajo riesgo. Así en

nuestro trabajo encontramos que casi el 91% de las infecciones están asociadas a genotipos de alto riesgo.

Como ya se comentó arriba, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) reveló los datos encontrados en 25 países (306). Aunque el orden de frecuencia varía, los diez principales genotipos son siempre los mismos: 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35, 59, 56, 39, 51, 73, 68 y 66.

8. Distribución genotípica por grupos de edad

En este trabajo,elgrupo de edad más frecuentemente infectado por VPH es el de menores de 25 años (82,60%), encontrándose un segundo pico en las mujeres de mayor edad, de entre 66 y 75 años (58,82%). Aunque procedente de mujeres sin lesiones citológicas, Bruni y cols.(169) encuentran una distribución similar, con distribuciones bimodales en América Central y del Sur, Europa del Sur y del Oeste y en global del África Continental. Esta distribución ya fue descrita previamente por De Sanjosé(8). El pico de incidencia en las mujeres de menos de 25 años, coincide con el inicio de las relaciones sexuales, alcanzando hasta el 80% de prevalencia en algunas poblaciones (169) como también es el caso en Extremadura. Estas infecciones iniciales son son las que tienden a eliminarse en un corto periodo de tiempo(100). El segundo pico en la frecuencia de infecciones encontrado entre las mujeres de mayor edad también ha sido descrito por otros autores como Franceschi y cols.(10) o Smith y cols.(307), llegando a ser tan importante como el inicial, como demostraron Herrero y cols.(79) y Lazcano-Ponce y cols.(308) en estudios de Costa Rica y Méjico.

En países de nuestro entorno se encuentra la misma distribución. Así en Dinamarca (76)se encontró un pico máximo entre los 20 y 24 años para decaer la prevalencia de infección en los demás grupos de edad. En Italia (182)se encontró una distribución bimodal, con un pico inicial en el grupo de edad comprendido entre los 15 y 19 años y un segundo pico, aunque menor, en las mujeres mayores de 65 años. En España, el estudio CLEOPATRE demostró, igualmente, que la mayor prevalencia de infección se dio en el grupo de edad 18 a 25 años. Este incremento en la prevalencia de infecciones en mujeres más jóvenes hace pensar en un inicio de las relaciones sexuales más precoces y mayor número de parejas sexuales, como se pudo concluir en el estudio AFRODITA (276)

9. Distribución genotípica por diagnóstico citológico

La presencia de infección por VPH aumenta de forma significativacon el grado de lesión citológica. En este estudio los porcentajes de infección por genotipos de alto riesgo fue de 70,50%, 81,23%, 83,53%, 93,89 y 100; para ASC-US, L-SIL, ASC-H, H-SIL y carcinoma escamoso, respectivamente. Se encontraron datos similares en la bibliografía. Así García-García(285), informa de un 78% de infecciones de alto riesgo en mujeres valencianas con diagnóstico de L-SIL y un 87,4% con diagnóstico de H-SIL, resultando igualmente significativa esta distribución. Por su parte, Martín y cols.(119) describen sus hallazgos entre las mujeres madrileñas, con un 84,5% de ASC-US infectados por VPH, un 94,3% de L-SIL y un 96,3% de H-SIL. Datos similares los encontramos en el estudio CLEOPATRE (153) en España, donde se identificó que el 80,9% de los ASC-US/ASC-H/AGC se asociaban a infección, mientras que en las L-SIL subía al 93% y se encontraba en el 100% de las H-SIL. En Portugal (179) estos datos se repiten prácticamente idénticos: el 81,1% de las mujeres diagnosticadas de L-SIL están infectadas, mientras que las diagnosticadas de H-SIL la proporción llega al 100%,siendomás frecuentes las infecciones por genotipos de alto riesgo (12,1%) que por genotipos de bajo riesgo (7,2%) en las mujeres sin alteracionescitológicas.En el resto de Europa y del mundo, aún variando las cifras los resultados son similares(300), (196), (182), (207), (309).

10. Infecciones simples y múltiples

En el presente estudio, del total de las 3.968 mujeres con infecciones positivas para algún genotipo del VPH, 2.232 (56,25%) son infecciones simples y 1.736 (43,75%) lo son múltiples.En los estudios revisados son más frecuentes las infecciones múltiples, salvo en los estudios de Pista (118) y Mazarico y cols.(115). En el estudio liderado por Mazarico se observa la asociación en la mayoría de los casos a algún genotipo de alto riesgo, observándose una variación geográfica que oscila entre el 9% y el 50% en los países europeos. Al igual que el resto de los autores se encuentramayor frecuencia de infecciones y coinfecciones en mujeres jóvenes, lo que está estrechamente relacionado con su actividad sexual(116), (117), (118), (119), (120). Es más, la relación inversa entre la edad y la prevalencia de coinfecciones también puede ser atribuido a la adquisición de inmunidad ante la exposición contra el virus(302). Este punto también podría explicar porqué la coinfección por un gran número de genotipos es más frecuente entre mujeres jóvenes.

El riesgo de adquirir una nueva infección parece ser independiente de la infección previa con otros genotipos (75). Por otro lado, también se ha informado sobre elaumento del riesgo de desarrollar alteraciones citológicas en mujeres con infecciones múltiples(120),(310). En nuestro caso, al igual que en el estudio de Castellsagué(153), las mujeres con ASC-US son las que más infecciones mixtas experimentan, ocupando el segundo puesto las lesiones por L-SIL, como también describe Herrero y cols.(79).

En cuanto a los genotipos implicados en las infecciones múltiples,se observa que el genotipo más frecuentemente asociado es el 16 (21,98% de las infecciones múltiples), seguido del 6 (16,22%). En estas infecciones múltiples el genotipo más frecuentemente asociado al 16 es el 31 (5,09%) seguido por la asociación del 16-18 (4,83%), pero por detrás de la asociación del 16 al 6 (4,96%). Datos similares han sido publicados por otros autores como Cai y cols.(267). El principal papel de la coinfección es su repercusión clínica. Autores como Ho y cols.(74) identificaron un alto riesgo de progresión en mujeres jóvenes con coinfección, sin embargo, otros autores como Liaw y cols.(77) o Rousseau y cols.(78) demostraron que la persistencia de la infección por VPH era independiente de las infecciones múltiples. Una posible explicación a estas conclusiones opuestas es la sensibilidad de los métodos de detección del ADN vírico y su posible solapamiento.

Tiempos y riesgos de progresión, persistencia, regresión y aclaramiento

Como ya se vioanteriormente, la historia natural de la infección por VPH en el cérvix uterino conlleva una serie decambioscitohistológicos que van desde un estado de normalidad, donde a pesar de la infección no se identifican cambios citológicos del epitelio escamoso, a varios estadios sucesivos de alteraciones citológicas que pueden desembocar en cáncer cervical(3). Esta secuencia se corresponde con un proceso carcinogénico de múltiples etapas y es la que permite llevar a cabo el cribado citológico para el cáncer de cuello uterino. En numerosas ocasiones se ha puesto de manifiesto como las lesiones escamosas de bajo grado progresan hasta lesiones de alto grado e incluso hasta carcinomas o bien regresan hasta una situación citológica de normalidad(74), (91), (92).

Sin embargo el número de trabajos en los que se ha calculado el tiempo de progresión, persistencia o regresión de estas lesiones es escaso y menos aún aquellos en los que se tiene en cuenta la presencia del VPH. Cada uno de estos estudios usa un método estadístico diferente y dado que los resultados se basan en estudios citológicos, cabe la posibilidad de una clasificación errónea de los hallazgos citológicos, aunque estas evaluaciones sean

llevadas a cabo por expertos citólogos y en un centro de referencia que siga protocolos de control de calidad adecuados. Sin embargo, la presencia de falsos negativos podría dar lugar a una subestimación de los tiempos de regresión y tanto a sobreestimaciones o subestimaciones de los tiempos de progresión, dependiendo de si estos resultados se produjeron al inicio de la lesión o cuando ya se encontraba instaurada.Otro inconveniente es la toma de datos, ya que no se cuenta con los intervalos exactos entre tomas citológicas por lo que los intervalos de tiempo son variables y en el presente estudio, éstos son anuales y no mensuales. Finalmente y con el objetivo de simplificar nuestro estudio, consideramos el tiempo de regresión como el tiempo entre la fecha del diagnóstico de LSIL y la primera citología posterior negativa, no existiendo ningún tratamiento en medio de este período. La progresión se definió como el tiempo transcurrido entre el diagnóstico de LSIL y el de HSIL o carcinoma. La persistencia citológica se definió como el tiempo máximo entre citologías con diagnóstico de LSIL. El número total de diagnósticos con L-SIL

Con estas consideraciones, se ha estimado el tiempo medio de regresión, independientemente del genotipo implicado en 1,6 años (ET de 0,038 e IC al 95% entre 1,5 y 1,7); el de progresión en 7,8 años (ET de 0,233 e IC al 95% entre 7,3 y 8,3) y el de persistencia en 4,6 años (ET de 0,156 e IC al 95% entre 4,3 y 4,9). Estos datos son similares a los encontrados por Schlecht y cols.(92)con unos tiempos de regresión de 10,5 meses, de progresión de 85,7 meses (7,1 años) y de persistencia de 14,5 meses (1,2 años). Otros autores como Mitchel y cols.(311)manejan las probabilidades de regresión, persistencia y progresión, obteniendo como resultados 34%, 41% y 25% respectivamente, muy lejos de los valores obtenidos en el presente estudio, donde se obtuvieron unas probabilidades del 83,7%, 31,8% y del 5,3% respectivamente.Otros autores como Melnikow y cols.(312)encuentran valores también distantes de los reseñados, con un porcentaje de progresión del 20,8% y de regresión del 47,4%. Sin embargo en el estudio de 2004 de Moscicki y cols.(100)se identifica un 91% de regresiones al año del diagnóstico de LSIL en mujeres de entre 13 y 22 años. Aunque se trata de un rango de edad muy inferior al considerado en nuestro estudio, podemos asumir que se trata de una población con un inicio de relaciones sexuales más temprana que en Extremadura, ya que el porcentaje de regresión de la población más joven de nuestra muestra, es tan sólo discretamente inferior (82,67% de mujeres con edad inferior a 25 años).

En la revisión proporcionada por Holowaty y cols. en 1999 (313)se identifican amplias variaciones en los porcentajes de regresión, persistencia y progresión, dependiendo de los autores mencionados y poblaciones seleccionadas, sin embargo es posible constatar que

estos porcentajes se hacen más similares cuanto mayor es el periodo de tiempo observado. Así se puede observar hasta un 87,7% de regresiones a los 10 años, si bien el valor de progresiones del 28,8% aún queda lejos del 5% obtenido en este trabajo.

Aunque el principal agente causal de las lesiones cervicales es el VPH, se ha podido demostrar que el sistema inmune lo eliminahasta en el 90% de las infecciones, en un plazo de tiempo comprendido entre uno a dos años tras la infección (101). En este estudio el cálculo de estos tiempos no es valorable puesto que el momento de la realización del estudio de PCR venía determinado por razones clínicas y no por lasnecesidades de un estudio epidemiológico. No obstante si se ha podido constatar una mayor persistencia de las infecciones por genotiposde alto riesgo, como así lo hizo Trottier(75) o Richardson (99), aunque este último limitó su estudio a una población de mujeres jóvenes universitarias, obteniendo unos periodos medios de persistencia de 13,4 meses para las infecciones de bajo riesgo y 16,3 meses para las de alto riesgo. Así mismo Trottier(75) determina un periodo medio de aclaramiento de las infecciones de entre 4 y 20 meses, siendo superior para las infecciones por el genotipo 16. Este punto también ha podido ser evidenciado en este trabajo ya que se identifican periodos de persistencia y acarados de las infecciones por los genotipos 6 y 16 sustancialmente diferentes, siendo el periodo necesario de aclaramiento del genotipo 16 de 2,8 años y del genotipo 6 de 1,8 años.
La persistencia de las infecciones por genotipos de alto riesgo en uno de los principales factores que desembocan en la progresión hacia la malignización de la lesión (3). Aproximadamente, entre el 10% y el 20% de las mujeres no pueden aclarar la infección por el VPH (72) lo que determina periodos de persistencia superiores y una mayor tendencia a la malignización de las lesiones.

CONCLUSIONES

VIII. CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos, de acuerdo con los objetivos propuestos al principio del presente estudio, ha permitido formular las conclusiones que a continuación se detallan:

1. Entre 2002 y 2013 se realizan 355.938 citologías a 173.841 mujeres, lo que supone un cribado global del 36,91% de las mujeres extremeñas. El 42,85% de las citologías provienen de las Áreas de Badajoz y Cáceres. El 70,1% de las citologías proceden de los COPF de la Comunidad.

2. La prevalencia de las lesiones citológicas fueron las siguientes: 1% de ASC-US; 1,6% de L-SIL; 0,1% de ASC-H; 0,3% de H-SIL; 0,011% carcinomas escamoso; 0,015% de ACG y 0,011% de adenocarcinomas. La razón ASC/SIL fue del 0,63%.

3. La edad media de las mujeres diagnosticadas de ASC-US fue de 29,75 años; de L-SIL fue de 27,74; de ASC-H fue de 34,48; de H-SIL fue de 34,62 y de 47 años para las mujeres diagnosticadas de carcinoma escamoso. Por grupos de edad, el 37% de los ASC-US y el 46,21% de los L-SIL se diagnostican entre los 15-24 años, el 40,83% de los ASC-H y el 41,71% de los H-SIL se encuentran entre los 25-34 años. Finalmente los carcinomas escamosos son más frecuentes entre los 45-54 años con una frecuencia del 31,57%.

4. **En la Comunidad de Extremadura la prevalencia cruda de infección por VPH en mujeres sin alteraciones citológicas ni antecedentes ginecológicos es del 6,06%. Al ajustarla por grupos de edad alcanza el 5,74%.** Los diez genotipos del VPH más prevalentes, por orden de frecuencia fueron: 16, 31, 53, 66, 42, 52, 6, 58 y 51. El VPH11 quedó en decimo octavo lugar.

5. El tiempo medio de progresión fue de 7,84 años, el de regresión fue de 1,63 años, el de persistencia fue de 4,6 años y el de aclaramiento de la infección fue de 3,67 años.

BIBLIOGRAFÍA

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in World. Summary Report 2014-02-20. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

2. Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III. Mapas de mortalidad provincial. Cáncer de cuello uterino. 2011. [Internet]. 2011 [citado 14 de septiembre de 2013].

3. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol [Internet]. 1999;189(1):12-9.

4. Muñoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol [Internet]. 1 de octubre de 2000;19(1):1-5.

5. De Villiers E, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, Hausen H zur. Classification of papillomaviruses. Virology [Internet]. 2004;324(1):17-27.

6. 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 [Internet]. 2003;348(6):518-27.

7. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJF, Vaccarella S, et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. The Lancet [Internet]. 2005;366(9490):991-8.

8. Sanjosé S de, Diaz M, Castellsagué X, Clifford G, Bruni L, Muñoz N, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. Lancet Infect Dis [Internet]. 2007;7(7):453-9.

9. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: A meta-analysis update. Int J Cancer [Internet]. 2007;121(3):621-32.

10. Franceschi S, Herrero R, Clifford GM, Snijders PJF, Arslan A, Anh PTH, et al. Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. Int J Cancer [Internet]. 2006;119(11):2677-84.

11. Decreto 23/2008 de 22 de febrero. DOE n°42 29 de febrero de 2008.

12. Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. Springer; 2015.

13. Pace M, Cayotte E, Agafitei L, Zupanic T, Wojtyniak B, Gissler M, et al. Revision of the European Standard Population: Report of Eurostat's Task Force: 2013 Edition. Publications Office; 2013.

14. Instituto Nacional de Estdística [Internet].

15. Plan de Salud de Extremadura 2013-2020. Gobierno de Extremadura. [Internet]. Consejería de Salud y Política Social; 2013.

16. Spriggs AI. History of cytodiagnosis. J Clin Pathol. 1977;30(12):1091.

17. Diamantis A, Beloukas AI, Kalogeraki AM, Magiorkinis E. A brief chronicle of cytology: from Janssen to Papanicolaou and beyond. Diagn Cytopathol. 2013;41(6):555-64.

18. Rigoni-Stern D. Fatti Statistici Relativi alle Mallattie Cancrose che Servirono di Base alle Poche Cose dette dal Doti. G Serv Progr Pathol Ter Ser. 1842;2(2):507-17.

19. Griffiths M. 'Nuns, virgins, and spinsters'. Rigoni-Stern and cervical cancer revisited. BJOG Int J Obstet Gynaecol [Internet]. 1991;98(8):797-802.

20. Koss LG. Diagnosticc cytology: its origins and principles. En: Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases. 5th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. p. 3-20.

21. Ruge C, Veit J. Anatomische Bedeutung der Erosion am Scheidentheil. Zentralbl F Gynaekol. 1877;1:10-7.

22. Amann JA jr. KurzgefaBtes Lehrbuch der mikroskopisch-gynakologischen Diagnostik. Wiesbaden, Germany: J.F. Bergmann; 1897.

23. Schauenstein W. Histologische untersuchunges uber atypisches plattienepithel an der portio un dan der innerfläche der cervix uteri. Arch Gynäkol. 1908;85:576-616.

24. Schottlander J, Kermauner F. Zur Kenntnis des Uteruskarzinoms: Monographische studie über morphologie, entwicklung, wachstum, nebst beiträgen zur klinik der erkrankung. Berlin, Germany: S Karger; 1912.

25. Daniel C, Babes A. Posibilitatea diagnosticului cancerului cu ajutorul frotiului. Proc Buchar Gynecol Soc. 1927;January 23:55.

26. Daniel C, Babes A. Diagnosticul cancerului colului uterin prin frotiu. Proc Buchar Gynecol Soc. 1927;April 5:23.

27. Babes A. Diagnostic du cancer du col utérin par les frottis. Presse Med. 1928;36:451-4.

28. Babes A. Sur le cancer superficiel du col utérin. Gynecol Obstet. 1931;23:418-33.

29. Ayre JE. Cancer Cytology of the Uterus: Introducing a Concept of Cervical Cell Pathology [Internet]. Grune & Stratton; 1951.

30. Papanicolaou G, Traut H. The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus. Am J Obstet Gynecol. 1941;42:193-205.

31. Papanicolaou G, Traut H. Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear. New York: Commonwealth Fund,; 1943.

32. Papanicolaou G. Atlas of Exfoliative Cytology. Boston: Massachusetts Commonweath Fund University Press; 1954.

33. Hanselaar AG. Criteria for organized cervical screening programs. Acta Cytol. 2002;46(4):619-29.

34. NIEBURGS HE, PUND ER. Detection of cancer of the cervix uteri: Evaluation of comparative exfoliative cytologic diagnosis: a study of 10,000 cases. J Am Med Assoc [Internet]. 28 de enero de 1950;142(4):221-6.

35. Naylor B. Cytopathology of the uterus: Historical perspectives. En: Cytopathology of the uterus. 2th ed. Chicago: American Society of Clinical Pathologysts; 1997. p. 1-28.

36. Arbyn M, Castellsagué X, de Sanjosé S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. Ann Oncol [Internet]. 1 de diciembre de 2011;22(12):2675-86.

37. RICHART RM. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. Clin Obstet Gynecol. 1967;10(4):748-84.

38. Richart R. Cervical intraepithelial neoplasia. Pathol Annu. 1973;8:301-28.

39. Riotton G, Christopherson W, Lunt R. International histological classification of tumours No. 8. Cytology of the female genital tract. World Health Organ Geneva. 1973;

40. Stoler M, M S, Group for the ASC of US-LSILTS (ALTS). Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: Realistic estimates from the ASCUS-LSIL triage study. JAMA [Internet]. 2001;285(11):1500-5.

41. Yobs A, Plott A, Hicklin M, Coleman S, Johnston W, Ashton P, et al. Retrospective evaluation of gynecologic cytodiagnosis. II. Interlaboratory reproducibility as shown in rescreening large consecutive samples of reported cases. Acta Cytol. 1986;31(6):900-10.

42. National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. J Am Med Assoc. 1989;18(262 (7)):931-4.

43. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. Jama.

2002;287(16):2114-9.

44. Sasieni P, Cuzick J, Lynch-Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. The National Co-ordinating Network for Cervical Screening Working Group. Br J Cancer. 1996;73(8):1001.

45. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Int J Gynecol Pathol. 2013;32(1):76-115.

46. Kurman RJ, Cancer IA for R on, Organization WH, others. WHO classification of tumours of female reproductive organs. International Agency for Research on Cancer; 2014.

47. Rosini S, Zappacosta R. Overview on Molecular Markers to Implement Cervical Cancer Prevention: Challenges and Perspectives. Hum Papillomavirus Relat Dis [Internet]. 2011 [citado 13 de septiembre de 2013];163.

48. Naib Z, Nahmias A, Josy W. Cytology and Histopathology of Cervical Herpes Simplex Infection. Cancer. 1966;19:1026-31.

49. Ayre J. The vaginal smear; precancer cell studies using a modified technique. Am J Obstet Gynecol. 1949;58(6):12051219.

50. AYRE JE. Role of the Halo Cell in Cervical Cancerigenesis: A virus manifestation in premalignancy? Obstet Gynecol. 1960;15(4):481-91.

51. Meisels A, Fortin R. Condylomatous lesions of the cervix and vagina. I. Cytologic patterns. Acta Cytol. 1975;20(6):505-9.

52. Meisels A. The story of a cell. The George N. Papanicolaou Award lecture. Acta Cytol. 1982;27(6):584-96.

53. Purola E, Savia E. Cytology of gynecologic condyloma acuminatum. Acta Cytol. 1977;21(1):26.

54. Meisels A, Fortin R, Roy M. Condylomatous lesions of the cervix. II. Cytologic, colposcopic and histopathologic study. Obstet Gynecol Surv. 1978;33(3):198-200.

55. Della Torre G, Pilotti S, De Palo G, Rilke F. Viral particles in cervical condylomatous lesions. Tumori. 1978;64(5):549-53.

56. Laverty C, Russell P, Hills E, Booth N. The significance of noncondylomatous wart virus infection of the cervical transformation zone. A review with discussion of two illustrative cases. Acta Cytol. 1978;22(4):195-201.

57. Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H, Kleinheinz H, Scheurlen W, Zur Hausen H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. EMBO J. 1984;3(5):1151-7.

58. Schwarz E, Freese U, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. Nature. 1985;314(6006):111-4.

59. Virus Taxonomy:1974 Rlease. International Commitee on Taxonomy of Viruses. Virology Division. IUMS. [Internet]. 2013 [citado 10 de octubre de 2013].

60. Virus Taxonomy:1999 Rlease. International Commitee on Taxonomy of Viruses. Virology Division. IUMS. [Internet]. 2013 [citado 10 de octubre de 2013].

61. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. Clin Microbiol Rev. 2003;16(1):1-17.

62. Danos O, Katinka M, Yaniv M. Human papillomavirus 1a complete DNA sequence: a novel type of genome organization among papovaviridae. EMBO J. 1982;1(2):231-6.

63. Schäfer F, Florin L, Sapp M. DNA Binding of L1 Is Required for Human Papillomavirus Morphogenesis in Vivo. Virology. 2002;295(1):172-81.

64. Leonardo A, Cerutti ML, Risso M, González M, Camporeale G, de Prat Gay G. Desarrollo de una vacuna profiláctica de segunda generación contra el papilomavirus humano. Med B Aires. 2011;71(3):261-6.

65. Martínez M. Expresión heteróloga de la proteína mayor de la cápsida (L1) del virus del papiloma humano tipo 18. Purificación y caracterización de las proteínas recombinantes y partículas similares al virus (VLPS). [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2008.

66. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine. 2012;30:F55-70.

67. Klingelhutz AJ, Roman A. Cellular transformation by human papillomaviruses: lessons learned by comparing high-and low-risk viruses. Virology. 2012;424(2):77-98.

68. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human Papillomaviruses. [Internet]. 2007.

69. Schiffman M, Herrero R, DeSalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. Virology. 2005;337(1):76-84.

70. Munoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. HPV in the etiology of

human cancer. Vaccine. 2006;24:S1-10.

71. Cobo F. Human papillomavirus infections: From the laboratory to clinical practice. Elsevier; 2012.

72. Stanley M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females. Gynecol Oncol. 2010;117(2):S5-10.

73. IARC. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Biological agents. [Internet]. Lyon: World Health Organization; 2012.

74. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. N Engl J Med. 1998;338(7):423-8.

75. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. Vaccine. 2006;24:S4-15.

76. Kjaer SK, Breugelmans G, Munk C, Junge J, Watson M, Iftner T. Population-based prevalence, type-and age-specific distribution of HPV in women before introduction of an HPV-vaccination program in Denmark. Int J Cancer. 2008;123(8):1864-70.

77. Liaw K-L, Hildesheim A, Burk RD, Gravitt P, Wacholder S, Manos MM, et al. A prospective study of human papillomavirus (HPV) type 16 DNA detection by polymerase chain reaction and its association with acquisition and persistence of other HPV types. J Infect Dis. 2001;183(1):8-15.

78. Rousseau M-C, Pereira JS, Prado JC, Villa LL, Rohan TE, Franco EL. Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. J Infect Dis. 2001;184(12):1508-17.

79. Herrero R, Castle PE, Schiffman M, Bratti MC, Hildesheim A, Morales J, et al. Epidemiologic profile of type-specific human papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. J Infect Dis. 2005;191(11):1796-807.

80. Muñoz N, Méndez F, Posso H, Molano M, van den Brule AJ, Ronderos M, et al. Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. J Infect Dis. 2004;190(12):2077-87.

81. Vaccarella S, Franceschi S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Clifford GM, et al. Sexual behavior, condom use, and human papillomavirus: pooled analysis of the IARC human papillomavirus prevalence surveys. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006;15(2):326-33.

82. Camargo M, Soto-De Leon SC, Sanchez R, Perez-Prados A, Patarroyo ME,

Patarroyo MA. Frequency of human papillomavirus infection, coinfection, and association with different risk factors in Colombia. Ann Epidemiol. 2011;21(3):204-13.

83. Deacon J, Evans C, Yule R, Desai M, Binns W, Taylor C, et al. Sexual behaviour and smoking as determinants of cervical HPV infection and of CIN3 among those infected: a case–control study nested within the Manchester cohort. Br J Cancer. 2000;83(11):1565.

84. Vaccarella S, Herrero R, Dai M, Snijders PJ, Meijer CJ, Thomas JO, et al. Reproductive factors, oral contraceptive use, and human papillomavirus infection: pooled analysis of the IARC HPV prevalence surveys. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006;15(11):2148-53.

85. Manhart LE, Holmes KK, Koutsky LA, Wood TR, Kenney DL, Feng Q, et al. Human papillomavirus infection among sexually active young women in the United States: implications for developing a vaccination strategy. Sex Transm Dis. 2006;33(8):502-8.

86. Denny LA, Franceschi S, de Sanjosé S, Heard I, Moscicki AB, Palefsky J. Human papillomavirus, human immunodeficiency virus and immunosuppression. Vaccine. 2012;30:F168-74.

87. Drolet M, Boily M-C, Greenaway C, Deeks SL, Blanchette C, Laprise J-F, et al. Sociodemographic inequalities in sexual activity and cervical cancer screening: implications for the success of human papillomavirus vaccination. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2013;22(4):641-52.

88. Stamataki P, Papazafiropoulou A, Elefsiniotis I, Giannakopoulou M, Brokalaki H, Apostolopoulou E, et al. Prevalence of HPV infection among Greek women attending a gynecological outpatient clinic. BMC Infect Dis. 2010;10(1):27.

89. Dillner J, Andersson-Ellstrom A, Hagmar B, Schiller J. High risk genital papillomavirus infections are not spread vertically. Rev Med Virol. 1999;9(1):23-9.

90. Summersgill KF, Smith EM, Levy BT, Allen JM, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in the oral cavities of children and adolescents. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology. 2001;91(1):62-9.

91. Leto M das GP, Júnior S, Porro AM, Tomimori J, others. Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. An Bras Dermatol. 2011;86(2):306-17.

92. Schlecht NF, Platt RW, Duarte-Franco E, Costa MC, Sobrinho JP, Prado JC, et al. Human papillomavirus infection and time to progression and regression of cervical intraepithelial neoplasia. J Natl Cancer Inst. 2003;95(17):1336-43.

93. Bladé AT, del Pino Saladrigues M, Gimferrer MC, Quitllet FA, Ortiz DA, Piqué

XC, et al. Guía de cribado del cáncer de cuello de útero en España, 2014. Rev Esp Patol. 2014;47:1-43.

94. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. J Natl Cancer Inst. 2000;92(9):690-8.

95. IARC. IARC Handbook on Cancer Prevention. Cervix Cancer Screening [Internet]. 2005.

96. von Knebel Doeberitz M, Vinokurova S. Host factors in HPV-related carcinogenesis: cellular mechanisms controlling HPV infections. Arch Med Res. 2009;40(6):435-42.

97. Conesa-Zamora P. Immune responses against virus and tumor in cervical carcinogenesis: Treatment strategies for avoiding the HPV-induced immune escape. Gynecol Oncol. 2013;S0090-8258(13):1110-4.

98. Dalstein V, Riethmuller D, Prétet J-L, Le Bail Carval K, Sautière J-L, Carbillet J-P, et al. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study. Int J Cancer. 2003;106(3):396-403.

99. Richardson H, Kelsall G, Tellier P, Voyer H, Abrahamowicz M, Ferenczy A, et al. The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2003;12(6):485-90.

100. Moscicki A-B, Shiboski S, Hills NK, Powell KJ, Jay N, Hanson EN, et al. Regression of low-grade squamous intra-epithelial lesions in young women. The Lancet. 2004;364(9446):1678-83.

101. Moscicki A-B, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. Vaccine. 2006;24:S42-51.

102. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, et al. Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection. J Natl Cancer Inst. 2010;102(5):315-24.

103. Van Oortmarssen G, Habbema J. Epidemiological evidence for age-dependent regression of pre-invasive cervical cancer. Br J Cancer. 1991;64(3):559.

104. Boyes D, Morrison B, Knox E, Draper G, Miller A. A cohort study of cervical cancer screening in British Columbia. Clin Investig Med Médecine Clin Exp. 1982;5(1):1.

105. Mitchell MF, Tortolero-Luna G, Wright T, Sarkar A, Richards-Kortum R, Hong WK, et al. Cervical human papillomavirus infection and intraepithelial neoplasia: a review. J Natl Cancer Inst Monogr. 1995;(21):17-25.

106. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. Lancet Oncol. 2008;9(5):425-34.

107. Maglennon GA, McIntosh P, Doorbar J. Persistence of viral DNA in the epithelial basal layer suggests a model for papillomavirus latency following immune regression. Virology. 2011;414(2):153-63.

108. Muñoz N, Hernandez-Suarez G, Mendez F, Molano M, Posso H, Moreno V, et al. Persistence of HPV infection and risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia in a cohort of Colombian women. Br J Cancer. 2009;100(7):1184-90.

109. Schiffman M, Herrero R, DeSalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Cecilia Rodriguez A, et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. Virology. 2005;337(1):76-84.

110. 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):368-83.

111. Maucort-Boulch D, Plummer M, Castle PE, Demuth F, Safaeian M, Wheeler CM, et al. Predictors of human papillomavirus persistence among women with equivocal or mildly abnormal cytology. Int J Cancer. 2010;126(3):684-91.

112. Louvanto K, Rintala MA, Syrjänen KJ, Grénman SE, Syrjänen SM. Genotype-specific persistence of genital human papillomavirus (HPV) infections in women followed for 6 years in the Finnish Family HPV Study. J Infect Dis. 2010;202(3):436-44.

113. Krivak TC, Rose GS, McBroom JW, Carlson JW, Winter Iii WE, Kost ER. Cervical adenocarcinoma in situ: a systematic review of therapeutic options and predictors of persistent or recurrent disease. Obstet Gynecol Surv. 2001;56(9):567-75.

114. Ylitalo N, Josefsson A, Melbye M, Sörensen P, Frisch M, Andersen PK, et al. A prospective study showing long-term infection with human papillomavirus 16 before the development of cervical carcinoma in situ. Cancer Res. 2000;60(21):6027-32.

115. Mazarico E, Gómez-Roig M, Miñano J, Cortes L, Gonzalez-Bosquet E. Relationship of human papilloma virus multiple genotype infection with patient’s age and type of cervical lesion. Eur J Gynaecol Oncol. 2013;35(4):378-81.

116. Chaturvedi AK, Katki HA, Hildesheim A, Rodríguez AC, Quint W, Schiffman M, et al. Human papillomavirus infection with multiple types: pattern of coinfection and risk of cervical disease. J Infect Dis. 2011;203(7):910-20.

117. Spinillo A, Gardella B, Roccio M, Alberizzi P, Cesari S, Patrizia M, et al. Multiple

human papillomavirus infection with or without type 16 and risk of cervical intraepithelial neoplasia among women with cervical cytological abnormalities. Cancer Causes Control. 2014;1-8.

118. Pista A, Oliveira A, Verdasca N, Ribeiro F. Single and multiple human papillomavirus infections in cervical abnormalities in Portuguese women. Clin Microbiol Infect. 2011;17(6):941-6.

119. Martín P, Kilany L, García D, López-García AM, Martín-Azaña MJ, Abraira V, et al. Human papillomavirus genotype distribution in Madrid and correlation with cytological data. BMC Infect Dis. 2011;11(1):316.

120. Bello BD, Spinillo A, Alberizzi P, Cesari S, Gardella B, D'Ambrosio G, et al. Cervical infections by multiple human papillomavirus (HPV) genotypes: prevalence and impact on the risk of precancerous epithelial lesions. J Med Virol. 2009;81(4):703-12.

121. Bosch F, Lorincz A, Munoz N, Meijer C, Shah K. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol. 2002;55(4):244-65.

122. de González AB, Sweetland S, Green J. Comparison of risk factors for squamous cell and adenocarcinomas of the cervix: a meta-analysis. Br J Cancer. 2004;90(9):1787-91.

123. Castellsagué X, Díaz M, De Sanjosé S, Muñoz N, Herrero R, Franceschi S, et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. J Natl Cancer Inst. 2006;98(5):303-15.

124. Jensen KE, Schmiedel S, Frederiksen K, Norrild B, Iftner T, Kj\a er SK. Risk for cervical intraepithelial neoplasia grade 3 or worse in relation to smoking among women with persistent human papillomavirus infection. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012;21(11):1949-55.

125. Jensen K, Schmiedel S, Norrild B, Frederiksen K, Iftner T, Kjaer S. Parity as a cofactor for high-grade cervical disease among women with persistent human papillomavirus infection: a 13-year follow-up. Br J Cancer. 2012;108(1):234-9.

126. Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination. Nat Rev Immunol. 2004;4(1):46-55.

127. Evander M, Frazer IH, Payne E, Qi YM, Hengst K, McMillan N. Identification of the alpha6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. J Virol. 1997;71(3):2449-56.

128. Boyer SN, Wazer DE, Band V. E7 protein of human papilloma virus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteasome pathway. Cancer Res. 1996;56(20):4620-4.

129. Chang YE, Laimins LA. Microarray analysis identifies interferon-inducible genes and Stat-1 as major transcriptional targets of human papillomavirus type 31. J Virol. 2000;74(9):4174-82.

130. Wilson J, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. Geneva: World Health Organization, 1968. Public Health Pap. 2011;34.

131. Arbyn M, Benoy I, Simoens C, Bogers J, Beutels P, Depuydt C. Prevaccination distribution of human papillomavirus types in women attending at cervical cancer screening in Belgium. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009;18(1):321-30.

132. Sasieni P, Castanon A, Cuzick J. Screening and adenocarcinoma of the cervix. Int J Cancer. 2009;125(3):525-9.

133. Lönnberg S, Nieminen P, Luostarinen T, Anttila A. Mortality audit of the Finnish cervical cancer screening program. Int J Cancer. 2013;132(9):2134-40.

134. Chu KC, Springfield S. Determinants of cancer health disparities: barriers to cancer prevention, screening, diagnosis and treatment. 2008;

135. Jordan J, Arbyn M, Martin-Hirsch P, Schenck U, Baldauf J-J, Da Silva D, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for clinical management of abnormal cervical cytology, part 1. Cytopathology. 2008;19(6):342-54.

136. Cuzick J, Clavel C, Petry K-U, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. Int J Cancer. 2006;119(5):1095-101.

137. Stoler M, Wright T, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright T. ATHENA (Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) Study Group HPV. 2011. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. Am J Clin Pathol. 135:468-75.

138. Ferreccio C, Barriga MI, Lagos M, Ibáñez C, Poggi H, González F, et al. Screening trial of human papillomavirus for early detection of cervical cancer in Santiago, Chile. Int J Cancer. 2013;132(4):916-23.

139. Nieminen P, Vuorma S, Viikki M, Hakama M, Anttila A. Comparison of HPV test versus conventional and automation-assisted Pap screening as potential screening tools for preventing cervical cancer. BJOG Int J Obstet Gynaecol. 2004;111(8):842-8.

140. Hutchinson M, Cassin C, Ball 3rd H. The efficacy of an automated preparation device for cervical cytology. Am J Clin Pathol. 1991;96(3):300-5.

141. Epstein D, Labry Lima AO, Mochón LG, Balbino JE, Esquivias J. A comparison of

the accuracy of liquid cytology versus conventional screening: a meta-analysis of split-sample studies. J R Stat Soc Ser A Stat Soc. 2014;177(1):153-68.

142. Anttila A, Ronco G, Clifford G, Bray F, Hakama M, Arbyn M, et al. Cervical cancer screening programmes and policies in 18 European countries. Br J Cancer. 2004;91(5):935-41.

143. Solomon D, Nayar R. The Bethesda System for reporting cervical cytology: definitions, criteria, and explanatory notes. Springer; 2004.

144. Commission on laboratory accreditation. Laboratory accreditation program. Cytopathology checklist [Internet]. College of american pathologists; 2007.

145. Davey DD, Woodhouse S, Styer P, Stastny J, Mody D. Atypical epithelial cells and specimen adequacy: Current laboratory practices of participants in the College of American Pathologists interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(2):203.

146. Nascimento AF, Cibas ES. The ASC/SIL Ratio for Cytopathologists as a Quality Control Measure A Follow-up Study. Am J Clin Pathol. 2007;128(4):653-6.

147. Stoler MH. ASC, TBS, and the power of ALTS. Am J Clin Pathol. 2007;127(4):489-91.

148. Cibas ES, Zou KH, Crum CP, Kuo F. Using the rate of positive high-risk HPV test results for ASC-US together with the ASC-US/SIL ratio in evaluating the performance of cytopathologists. Am J Clin Pathol. 2008;129(1):97-101.

149. Tworek J, Nayar R, Savaloja L, Tabbara S, Thomas N, Winkler B, et al. General Quality Practices in Gynecologic Cytopathology: Findings From the College of American Pathologists Gynecologic Cytopathology Quality Consensus Conference Working Group 3. Arch Pathol Lab Med. 2013;137(2):190-8.

150. National Pathology Accreditation Advisory Council. Performance measures for Australian laboratories reporting cervical cytology [Internet].

151. Jones BA, Davey DD. Quality management in gynecologic cytology using interlaboratory comparison. Arch Pathol Lab Med. 2000;124(5):672-81.

152. Herbert A, Johnson J, Patnick J. Achievable standards, benchmarks for reporting and criteria for evaluating cervical cytopathology. Cytopathology. 1995;6(5):301-3.

153. Castellsagué X, Iftner T, Roura E, Vidart JA, Kjaer SK, Bosch FX, et al. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection of the cervix in Spain: The CLEOPATRE Study. J Med Virol. 2012;84(6):947-56.

154. Karnon J, Peters J, Platt J, Chilcott J, McGoogan E, Brewer N. Liquid-based

cytology in cervical screening: an updated rapid and systematic review and economic analysis. 2004;

155. Poljak M, Cuzick J, Kocjan BJ, Iftner T, Dillner J, Arbyn M. Nucleic acid tests for the detection of alpha human papillomaviruses. Vaccine. 2012;30:F100-6.

156. Snijders PJ, Heideman DA, Meijer CJ. Methods for HPV detection in exfoliated cell and tissue specimens. APMIS. 2010;118(6-7):520-8.

157. Gravitt PE, Coutlée F, Iftner T, Sellors JW, Quint WG, Wheeler CM. New technologies in cervical cancer screening. Vaccine. 2008;26:K42-52.

158. Meijer C, Berkhof H, Heideman D, Hesselink A, Snijders P. Validation of high-risk HPV tests for primary cervical screening. J Clin Virol. 2009;46:S1-4.

159. Stoler M, Castle P, Solomon D, Schiffman M. American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. The expanded use of HPV testing in gynecologic practice per ASCCP-guided management requires the use of well-validated assays. Am J Clin Pathol. 2007;127(3):335-7.

160. Ordi J, Puig-Tintore L, Torne A, Sanz S, Esteve R, Romagosa C, et al. [Contribution of high risk human papillomavirus testing to the management of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix]. Med Clin (Barc). 2003;121(12):441-5.

161. Ordi J, Alonso I, Torné A, Esteve R, Sierra E, Campo E, et al. Human papillomavirus load in Hybrid Capture II assay: does increasing the cutoff improve the test? Gynecol Oncol. 2005;99(2):313-9.

162. Ramirez-Hidalgo A, Musset-Biarnes M, Vilamala-Muns M, Laso-Perez E, Serrano-Munne L, Alameda-Quitllet F. Hybrid capture 2 high-risk human papillomavirus test: should« grey zone» results justify repeating the test? Anal Quant Cytopathol Histopathol. 2013;35(3):152-6.

163. Herraez-Hernandez E, Alvarez-Perez M, Navarro-Bustos G, Esquivias J, Alonso S, Aneiros-Fernandez J, et al. HPV Direct Flow CHIP: a new human papillomavirus genotyping method based on direct PCR from crude-cell extracts. J Virol Methods. 2013;193(1):9-17.

164. Wald NJ. The definition of screening. J Med Screen. 2001;8(1):1-1.

165. UK Screening Portal. UK National Screening Committee. Policy Review Process. Programme appraisal criteria. Criteria for appraising the viability, effectiveness and appropriateness of a screening programme [Internet]. UK National Screening Committee; 2009 [citado 20 de noviembre de 2014].

166. Strong K, Wald N, Miller A, Alwan A, others. Current concepts in screening for noncommunicable disease: World Health Organization Consultation Group Report on methodology of noncommunicable disease screening. J Med Screen. 2005;12(1):12-9.

167. Ortiz AG, Romano RJ, del Bosque JRCP. Cáncer de cuello uterino en Extremadura. Rev San Hig Púb. 1993;67:117-25.

168. Varios. Oncoguías SEGO: Prevención del cáncer de cuello de útero. Publicaciones SEGO; 2014.

169. Bruni L, Diaz M, Castellsagué M, 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):1789-99.

170. Dutra I, Foroni I, Couto AR, Lima M, Bruges - Armas J. Human Papillomavirus Worldwide Distribution in Women Without Cervical Cancer. En: Human Papillomavirus and Related Diseases – from Bench to Bedside Research Aspects [Internet]. Davy Vanden Broeck. Croatia: InTech; 2012. p. 37-64.

171. Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, de Sanjosé S, Franceschi S, et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: A meta-analysis from cervical infection to cancer. Int J Cancer. 2012;131(10):2349-59.

172. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Europe. Summary Report 2014-02-07. [Fecha de acceso 19 de febrero de 2014]. 2014.

173. Thulaseedharan JV, Malila N, Hakama M, Esmy PO, Cherian M, Swaminathan R, et al. Effect of screening on the risk estimates of socio demographic factors on cervical cancer-a large cohort study from rural India. Asian Pac J Cancer Prev. 2013;14(1):589-94.

174. Howell-Jones R, Bailey A, Beddows S, Sargent A, de Silva N, Wilson G, et al. Multi-site study of HPV type-specific prevalence in women with cervical cancer, intraepithelial neoplasia and normal cytology, in England. Br J Cancer. 2010;103(2):209-16.

175. Monsonego J, Zerat L, Syrjänen K, Zerat J-C, Smith JS, Halfon P. Prevalence of type-specific human papillomavirus infection among women in France: Implications for screening, vaccination, and a future generation of multivalent HPV vaccines. Vaccine. 2012;30(35):5215-21.

176. Dahlström LA, Ylitalo N, Sundström K, Palmgren J, Ploner A, Eloranta S, et al. Prospective study of human papillomavirus and risk of cervical adenocarcinoma. Int J

Cancer. 2010;127(8):1923-30.

177. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Ireland. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

178. Keegan H, Ryan F, Malkin A, Griffin M, Lambkin H. Human papillomavirus prevalence and genotypes in an opportunistically screened Irish female population. Br J Biomed Sci. 2006;64(1):18-22.

179. Pista A, de Oliveira CF, Cunha MJ, Paixao MT, Real O, Group CPS, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Portugal: the CLEOPATRE Portugal study. Int J Gynecol Cancer. 2011;21(6):1150-8.

180. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Portugal. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

181. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Italy. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

182. Agarossi A, Ferrazzi E, Parazzini F, Perno CF, Ghisoni L. Prevalence and type distribution of high-risk human papillomavirus infection in women undergoing voluntary cervical cancer screening in Italy. J Med Virol. 2009;81(3):529-35.

183. Rossi PG, Chini F, Bisanzi S, Burroni E, Carillo G, Lattanzi A, et al. Distribution of high and low risk HPV types by cytological status: a population based study from Italy. Infect Agent Cancer. 2011;6:1-8.

184. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Greece. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

185. Tsiodras S, Georgoulakis J, Chranioti A, Voulgaris Z, Psyrri A, Tsivilika A, et al. Hybrid capture vs. PCR screening of cervical human papilloma virus infections. Cytological and histological associations in 1270 women. BMC Cancer. 2010;10(1):53.

186. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human

Papillomavirus and Related Diseases in Russian Federation. Summary Report 2014-01-31. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

187. Rogovskaya SI, Shabalova IP, Mikheeva IV, Minkina GN, Podzolkova NM, Shipulina OY, et al. Human Papillomavirus Prevalence and Type-Distribution, Cervical Cancer Screening Practices and Current Status of Vaccination Implementation in Russian Federation, the Western Countries of the former Soviet Union, Caucasus Region and Central Asia. Vaccine. 2013;31:H46-58.

188. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Poland. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

189. Szostek S, Klimek M, Zawilinska B, Kosz-Vnenchak M. Genotype-specific human papillomavirus detection in cervical smears. Statistics. 2008;53(54):74.

190. Kornya L, Cseh I, Deak J, Bak M, Fulop V. The diagnostics and prevalence of genital human papillomavirus (HPV) infection in Hungary. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2002;100(2):231-6.

191. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Hungary. Summary Report 2014-01-31. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

192. Anton G, Peltecu G, Socolov D, Cornitescu F, Bleotu C, Sgarbura Z, et al. Type-specific human papillomavirus detection in cervical smears in Romania. APMIs. 2011;119(1):1-9.

193. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in France. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

194. Vaucel E, Coste-Burel M, Laboisse C, Dahlab A, Lopes P. Human papillomavirus genotype distribution in cervical samples collected in routine clinical practice at the Nantes University Hospital, France. Arch Gynecol Obstet. 2011;284(4):989-98.

195. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Germany. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

196. Klug SJ, Hukelmann M, Hollwitz B, Düzenli N, Schopp B, Petry K-U, et al. Prevalence of human papillomavirus types in women screened by cytology in Germany. J Med Virol. 2007;79(5):616-25.

197. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Netherlands. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

198. Hesselink A, Heideman D, Berkhof J, Topal F, Pol R, Meijer C, et al. Comparison of the clinical performance of the PapilloCheck HPV detection with GP5+/6+-PCR-EIA in population-based cervical screening. J Clin Microbiol. 2010;48(3):797-801.

199. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Switzerland. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

200. Dobec M, Bannwart F, Kaeppeli F, Cassinotti P. Automation of the linear array HPV genotyping test and its application for routine typing of human papillomaviruses in cervical specimens of women without cytological abnormalities in Switzerland. J Clin Virol. 2009;45(1):23-7.

201. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Africa. Summary Report 2014-02-20. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

202. De Marco F, Houissa-Kchouk F, Khelifa R, Marcante ML. High-risk HPV types in Tunisia. A pilot study reveals an unexpectedly high prevalence of types 58 and 82 and lack of HPV 18 among female prostitutes. J Med Virol. 2006;78(7):950-3.

203. Hammouda D, Clifford GM, Pallardy S, Ayyach G, Chékiri A, Boudrich A, et al. Human papillomavirus infection in a population-based sample of women in Algiers, Algeria. Int J Cancer. 2011;128(9):2224-9.

204. Allan B, Marais DJ, Hoffman M, Shapiro S, Williamson A-L. Cervical human papillomavirus (HPV) infection in South African women: implications for HPV screening and vaccine strategies. J Clin Microbiol. 2008;46(2):740-2.

205. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Tunisia. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de

acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

206. Hassen E, Chaieb A, Letaief M, Khairi H, Zakhama A, Remadi S, et al. Cervical human papillomavirus infection in Tunisian women. Infection. 2003;31(3):143-8.

207. Alhamany Z, El Mzibri M, Kharbach A, Malihy A, Abouqal R, Jaddi H, et al. Prevalence of human papillomavirus genotype among Moroccan women during a local screening program. J Infect Dev Ctries. 2010;4(11):732-9.

208. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Morocco. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

209. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Algeria. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

210. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in South Africa. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

211. Fukuchi E, Sawaya GF, Chirenje M, Magure T, Tuveson J, Ma Y, et al. Cervical human papillomavirus incidence and persistence in a cohort of HIV-negative women in Zimbabwe. Sex Transm Dis. 2009;36(5):305-11.

212. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Zimbabwe. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

213. Womack SD, Chirenje Z, Blumenthal PD, Gaffikin L, McGrath JA, Chipato T, et al. Evaluation of a human papillomavirus assay in cervical screening in Zimbabwe. BJOG Int J Obstet Gynaecol. 2000;107(1):33-8.

214. Castellsagué X, Klaustermeier J, Carrilho C, Albero G, Sacarlal J, Quint W, et al. Vaccine-related HPV genotypes in women with and without cervical cancer in Mozambique: Burden and potential for prevention. Int J Cancer. 2008;122(8):1901-4.

215. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Mozambique. Summary Report 2014-03-03.

[Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

216. Castellsagué X, Menéndez C, Loscertales M-P, Kornegay JR, dos Santos F, Gómez-Olivé FX, et al. Human papillomavirus genotypes in rural Mozambique. The Lancet. 2001;358(9291):1429-30.

217. De Vuyst H, Parisi MR, Karani A, Mandaliya K, Muchiri L, Vaccarella S, et al. The prevalence of human papillomavirus infection in Mombasa, Kenya. Cancer Causes Control. 2010;21(12):2309-13.

218. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Kenya. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

219. Okolo C, Franceschi S, Adewole I, Thomas JO, Follen M, Snijders P, et al. Human papillomavirus infection in women with and without cervical cancer in Ibadan, Nigeria. Infect Agent Cancer. 2010;5(1):24.

220. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Nigeria. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

221. Keita N, Clifford G, Koulibaly M, Douno K, Kabba I, Haba M, et al. HPV infection in women with and without cervical cancer in Conakry, Guinea. Br J Cancer. 2009;101(1):202-8.

222. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Guinea. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

223. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Senegal. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

224. Xi LF, Touré P, Critchlow CW, Hawes SE, Dembele B, Sow PS, et al. Prevalence of specific types of human papillomavirus and cervical squamous intraepithelial lesions in consecutive, previously unscreened, West-African women over 35 years of age. Int J Cancer. 2003;103(6):803-9.

225. Murillo R, Almonte M, Pereira A, Ferrer E, Gamboa OA, Jerónimo J, et al.

Cervical cancer screening programs in Latin America and the Caribbean. Vaccine. 2008;26:L37-48.

226. Gage JC, Ferreccio C, Gonzales M, Arroyo R, Huivı n M, Robles SC. Follow-up care of women with an abnormal cytology in a low-resource setting. Cancer Detect Prev. 2003;27(6):466-71.

227. Dailard C. HPV in the United States and Developing Nations: A Problem Of Public Health or Politics? Guttmacher Rep Public Policy. 2003;6(3).

228. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Mexico. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

229. Lazcano-Ponce EC, Castro R, Allen B, Nájera P, de Ruíz PA, Hernández-Ávila M. Barriers to early detection of cervical-uterine cancer in Mexico. J Womens Health. 1999;8(3):399-408.

230. Lazcano-Ponce E, Alonso P, Ruiz-Moreno JA, Hernández-Avila M. Recommendations for cervical cancer screening programs in developing countries: The need for equity and technological development. Salud Pública México. 2003;45:449-62.

231. Ogedegbe G, Cassells AN, Robinson CM, DuHamel K, Tobin JN, Sox CH, et al. Perceptions of barriers and facilitators of cancer early detection among low-income minority women in community health centers. J Natl Med Assoc. 2005;97(2):162.

232. Chu KC, Miller BA, Springfield SA. Measures of racial/ethnic health disparities in cancer mortality rates and the influence of socioeconomic status. J Natl Med Assoc. 2007;99(10):1092.

233. Raab SS, Jones BA, Souers R, Tworek JA. The effect of continuous monitoring of cytologic-histologic correlation data on cervical cancer screening performance. Arch Pathol Lab Med. 2008;132(1):16-22.

234. Tworek JA, Jones BA, Raab S, Clary KM, Walsh MK. The value of monitoring human papillomavirus DNA results for Papanicolaou tests diagnosed as atypical squamous cells of undetermined significance: a College of American Pathologists Q-Probes study of 68 institutions. Arch Pathol Lab Med. 2007;131(10):1525-31.

235. DeMay RM. Cytopathology of false negatives preceding cervical carcinoma. Am J Obstet Gynecol. 1996;175(4):1110-3.

236. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human

Papillomavirus and Related Diseases in Costa Rica. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

237. Coser J, da Rocha Boeira T, Simon D, Kazantzi Fonseca A, Ikuta N, Lunge V. Prevalence and genotypic diversity of cervical human papillomavirus infection among women from an urban center in Brazil. Genet Mol Res. 2013;12(4):4276-85.

238. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Brazil. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

239. Ferreccio C, Prado RB, Luzoro AV, Ampuero SL, Snijders PJ, Meijer CJ, et al. Population-based prevalence and age distribution of human papillomavirus among women in Santiago, Chile. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004;13(12):2271-6.

240. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Chile. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

241. Molano M, Posso H, Weiderpass E, Van den Brule A, Ronderos M, Franceschi S, et al. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. Br J Cancer. 2002;87(3):324-33.

242. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Colombia. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

243. Ginaldi L, De Martinis M, D'ostilio A, Marini L, Loreto M, Quaglino D. The immune system in the elderly. Immunol Res. 1999;20(3):117-26.

244. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Argentina. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

245. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, et al. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003–2006. J Infect Dis. 2011;204(4):566-73.

246. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human

Papillomavirus and Related Diseases in United States of America. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

247. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Canada. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

248. Behbakht K, Lynch A, Teal S, Degeest K, Massad S. Social and cultural barriers to Papanicolaou test screening in an urban population. Obstet Gynecol. 2004;104(6):1355-61.

249. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Asia. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

250. Li L, Dai M, Clifford G, Yao W, Arslan A, Li N, et al. Human papillomavirus infection in Shenyang City, People's Republic of China: a population-based study. Br J Cancer. 2006;95(11):1593-7.

251. Onuki M, Matsumoto K, Satoh T, Oki A, Okada S, Minaguchi T, et al. Human papillomavirus infections among Japanese women: age-related prevalence and type-specific risk for cervical cancer. Cancer Sci. 2009;100(7):1312-6.

252. Vu LT, Le HT. Cervical Human Papilloma Virus Infection among the General Female Population in Vietnam: A Situation Analysis. Asian Pac J Cancer Prev. 2011;12:561-6.

253. Sukvirach S, Smith JS, Tunsakul S, Munoz N, Kesararat V, Opasatian O, et al. Population-based human papillomavirus prevalence in Lampang and Songkla, Thailand. J Infect Dis. 2003;187(8):1246-56.

254. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in China. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

255. Dai M, Bao Y, Li N, Clifford G, Vaccarella S, Snijders P, et al. Human papillomavirus infection in Shanxi Province, People's Republic of China: a population-based study. Br J Cancer. 2006;95(1):96-101.

256. Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, et al. A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. J Infect Dis. 2005;191(11):1808-16.

257. Sun Z-R, Ji Y-H, Zhou W-Q, Zhang S-L, Jiang W-G, Ruan Q. Characteristics of HPV prevalence among women in Liaoning province, China. Int J Gynecol Obstet. 2010;109(2):105-9.

258. Garland S, Park S, Ngan H, Frazer I, Tay E, Chen C, et al. The need for public education on HPV and cervical cancer prevention in Asia: Opinions of experts at the AOGIN Conference. Vaccine. 2008;26(43):5435-40.

259. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Japón. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

260. Konno R, Shin H-R, Kim Y-T, Song YS, Sasagawa T, Inoue M, et al. Human papillomavirus infection and cervical cancer prevention in Japan and Korea. Vaccine. 2008;26:M30-42.

261. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Viet Nam. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

262. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Thailand. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

263. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Iran. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

264. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in India. Summary Report 2014-03-03. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

265. Bao Y-P, Li N, Smith J, QIAO Y-L. Human papillomavirus type distribution in women from Asia: a meta-analysis. Int J Gynecol Cancer. 2008;18(1):71-9.

266. Clifford GM, Goncalves MAG, Franceschi S, others. Human papillomavirus types among women infected with HIV: a meta-analysis. Aids. 2006;20(18):2337-44.

267. Cai HB, Ding XH, Chen CC. Prevalence of single and multiple human

papillomavirus types in cervical cancer and precursor lesions in Hubei, China. Oncology. 2008;76(3):157-61.

268. Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA, et al. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. Sex Transm Dis. 1996;23(4):333-41.

269. Franceschi S, Rajkumar R, Snijders P, Arslan A, Mahe C, Plummer M, et al. Papillomavirus infection in rural women in southern India. Br J Cancer. 2005;92(3):601-6.

270. Thomas J, Herrero R, Omigbodun A, Ojemakinde K, Ajayi I, Fawole A, et al. Prevalence of papillomavirus infection in women in Ibadan, Nigeria: a population-based study. Br J Cancer. 2004;90(3):638-45.

271. Passmore J, Morroni C, Shapiro S, Williamson A-L, Hoffman M, others. Papanicolaou smears and cervical inflammatory cytokine responses. J Inflamm. 2007;4(8).

272. Bardin A, Vaccarella S, Clifford G, Lissowska J, Rekosz M, Bobkiewicz P, et al. Human papillomavirus infection in women with and without cervical cancer in Warsaw, Poland. Eur J Cancer. 2008;44(4):557-64.

273. Cuschieri K, Cubie H, Whitley M, Seagar A, Arends M, Moore C, et al. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. J Clin Pathol. 2004;57(1):68-72.

274. Coupe V, Berkhof J, Bulkmans N, Snijders P, Meijer C. Age-dependent prevalence of 14 high-risk HPV types in the Netherlands: implications for prophylactic vaccination and screening. Br J Cancer. 2008;98(3):646-51.

275. Hibbitts S, Jones J, Powell N, Dallimore N, McRea J, Beer H, et al. Human papillomavirus prevalence in women attending routine cervical screening in South Wales, UK: a cross-sectional study. Br J Cancer. 2008;99(11):1929-33.

276. de Sanjose S, Cortés X, Méndez C, Puig-Tintore L, Torné A, Roura E, et al. Age at sexual initiation and number of sexual partners in the female Spanish population: Results from the AFRODITA survey. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2008;140(2):234-40.

277. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Spain. Summary Report 2014-01-31. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

278. Mugica-Van Herckenrode C, Malcolm A, Coleman D. Prevalence of human papillomavirus (HPV) infection in Basque Country women using slot-blot hybridization: a survey of women at low risk of developing cervical cancer. Int J Cancer. 1992;51(4):581-6.

279. Muñoz N, Kato I, Bosch F, Eluf-Neto J, De Sanjosé S, Ascunce N, et al. Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. Sex Transm Dis. 1996;23(6):504.

280. de Sanjose S, Almirall R, Lloveras B, Font R, Diaz M, Muñoz N, et al. Cervical human papillomavirus infection in the female population in Barcelona, Spain. Sex Transm Dis. 2003;30(10):788.

281. Font R, Pérez M, Coll C, Avecilla A, Vilama M, Martínez F. Utilización de modelos longitudinales para estimar el tiempo de regresión/progresión de la infección por el virus del papiloma humano en una cohorte de mujeres atendidas en centros de planificación familiar en Barcelona. Gac Sanit. 2004;18(supl3):11-148.

282. Puig F, Echavarren V, Yago T, Crespo R, Montañés P, Palacios M, et al. Prevalencia del virus del papiloma humano en una muestra de población urbana en la ciudad de Zaragoza. Prog Obstet Ginecol [Internet]. 2005;48(04):172-8.

283. González C, Ortiz M, Canals J, Muñoz L, Jarrín I, de la Hera MG, et al. Higher prevalence of human papillomavirus infection in migrant women from Latin America in Spain. Sex Transm Infect [Internet]. junio de 2006;82(3):260-2.

284. Lacruz Pelea C, Muñoz Fernández de Legaria M. Vacunas VPH: lesiones de cérvix y tipos virales asociados en la Comunidad de Madrid. Rev Esp Patol. 2009;42(2):121-5.

285. García-García JA, Pérez-Vallés A, Martorell M, Gómez B, Gómez-Cabrero D, Soler F, et al. Distribution of human papillomavirus types in women from Valencia, Spain, with abnormal cytology. Acta Cytol. 2010;54(2):159-64.

286. Gomez-Román JJ, Echevarria C, Salas S, González-Morán M-A, Pérez-Mies B, Gracía-Higuera I, et al. A type-specific study of human papillomavirus prevalence in cervicovaginal samples in three different Spanish regions. Apmis. 2009;117(1):22-7.

287. Delgado D, Marín JM, de Diego J, Guerra S, González B, Barrios JL, et al. Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in women with abnormal cervical cytology in the Basque Country, Spain. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012;30(5):230-5.

288. Xunta de Galizia. Prevalencia de VPH de alto risco nas mulleres galegas. Boletín Epidemiolóxico de Galicia [Internet]. 2012.

289. Alemany L, Pérez C, Tous S, Llombart-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):512-7.

290. de Sanjosé S, Ibáñez R, Rodríguez-Salés V, Peris M, Roura E, Diaz M, et al. Screening of cervical cancer in Catalonia 2006–2012. ecancermedicalscience. 2015;9.

291. International Committee of Medical Journal Editors http://www. icmje. org.

Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals [Internet].

292. Rossi PG, Ricciardi A, Cohet C, Palazzo F, Furnari G, Valle S, et al. Epidemiology and costs of cervical cancer screening and cervical dysplasia in Italy. BMC Public Health. 2009;9(1):71.

293. Balaha MH, Al Moghannum MS, Al Ghowinem N, Al Omran S. Cytological pattern of cervical Papanicolaou smear in eastern region of Saudi Arabia. J Cytol Acad Cytol. 2011;28(4):173.

294. Eversole GM, Moriarty AT, Schwartz MR, Clayton AC, Souers R, Fatheree LA, et al. Practices of participants in the College of American Pathologists interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology, 2006. Arch Pathol Lab Med. 2010;134(3):331-5.

295. Juskevicius R, Zou KH, Cibas ES. An analysis of factors that influence the ASCUS/SIL ratio of pathologists. Am J Clin Pathol. 2001;116(3):331-5.

296. Ko V, Nanji S, Tambouret RH, Wilbur DC. Testing for HPV as an objective measure for quality assurance in gynecologic cytology. Cancer Cytopathol. 2007;111(2):67-73.

297. Rana S, Jairajpuri Z, Jetley S, others. Cervical smear cytology on routine screening in a semi urban population in New Delhi: A review of 610 cases. Arch Med Health Sci. 2013;1(2):131.

298. 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):591-8.

299. Agorastos T, Lambropoulos AF, Sotiriadis A, Mikos T, Togaridou E, Emmanouilides CJ. Prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus in Greece. Eur J Cancer Prev. 2009;18(6):504-9.

300. Forslund O, Antonsson A, Edlund K, van Den Brule AJ, Hansson B-G, Meijer C, et al. Population-based type-specific prevalence of high-risk human papillomavirus infection in middle-aged Swedish Women. J Med Virol. 2002;66(4):535-41.

301. Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Serrano B, Brotons M, Cosano R, Muñoz J, et al. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Spain. Summary Report 2014-01-31. [Fecha de acceso 23 de febrero de 2014]. 2014.

302. Fernandes JV, Araújo J, Fernandes T. Biology and natural history of human

papillomavirus infection. Open Access J Clin Trials. 2013;5:1-12.

303. WHO. Human papillomavirus laboratory manual [Internet]. Geneva: WHO; 2010. 124 p.

304. Moga MA, Irimie M, Oanta A, Pascu A, Burtea V. Type-specific Prevalence of Human Papillomavirus by Cervical Cytology among Women in Brasov, Romania. Asian Pac J Cancer Prev APJCP. 2014;15(16):6887.

305. Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. J Natl Cancer Inst. 1995;87(11):796-802.

306. Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Harper DM, Leodolter S, et al. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. N Engl J Med. 2007;356(19):1928-43.

307. 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(4):S5-25.

308. Lazcano-Ponce E, Herrero R, MUnoz N, Cruz A, Shah KV, Alonso P, et al. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. Int J Cancer. 2001;91(3):412-20.

309. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. Vaccine. 2012;30:F12-23.

310. Fife KH, Cramer HM, Schroeder JM, Brown DR. Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. J Med Virol. 2001;64(4):550-9.

311. Mitchell MF, Hittelman WN, Hong WK, Lotan R, Schottenfeld D. The natural history of cervical intraepithelial neoplasia: an argument for intermediate endpoint biomarkers. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1994;3(7):619-26.

312. Melnikow J, Nuovo J, Willan AR, Chan BK, Howell LP. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. Obstet Gynecol. 1998;92(4):727-35.

313. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. J Natl Cancer Inst. 1999;91(3):252-8.