

Identificación del virus del papiloma humano (VPH) en diferentes muestras de pacientes con diagnóstico de lesiones de alto grado en cuello uterino. Estudio piloto en una población colombiana

Identification of the human papillomavirus (HPV) in different kind of samples from patients diagnosed with high-grade lesions in the cervix. Pilot study in a Colombian population

Isabel Cristina Almonacid¹, Yenni Catherine García², Eduar Fernando Pinzón³,
Claudia Emilce Cifuentes⁴, Carmen Cecilia Almonacid⁵

Resumen

Introducción. El Virus del Papiloma Humano (VPH) es relevante en el desarrollo del cáncer de cérvix, situación que ha conducido a la tamización con citología cérvico-uterina y prueba molecular ADN-VPH que permiten la detección temprana de mujeres en riesgo de desarrollar esta patología. Aunque han disminuido la incidencia y mortalidad, no han logrado erradicar la enfermedad. **Objetivo.** Identificación del VPH en diferentes muestras de pacientes con diagnóstico de lesiones preneoplásicas y cáncer cérvico-uterino. **Metodología.** Se incluyeron pacientes con lesiones de alto grado (LEI-AG) y/o carcinoma en citología cervicouterina y/o biopsia. Al total se les tomó muestra de sangre, se evaluó la disponibilidad del tejido parafinado (FFPE) y se realizó genotipificación por PCR para VPH. **Resultados.** 27%(3) LEI-AG estuvieron entre los 30-39 años y 9%(1) en menores de 29; 50%(6) fueron positivas para VPH-AR diferentes al 16-18 en citología en base líquida (CBL) y 16% (1) negativa. Se obtuvo DNA del 100% de los FFPE, con positividad

1. Investigadora grupo de investigación Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca.
Investigadora Grupo ECZA, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0218-9367>

2. Investigadora grupo de investigación Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca.
Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca, Bogotá-Colombia.

3. Investigador grupo de investigación Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca
Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca, Bogotá-Colombia.

4. Investigadora grupo de investigación Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca
Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca, Bogotá- Colombia.

5. Investigadora Grupo ECZA, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.
Universidad Santo Tomás Bogotá- Colombia.

Correspondencia: Isabel.almonacid@yahoo.com

en el 67% (6), 2 (33%) para VPH-16 y 4 (67%) para otros (56,58 y 68). 1(11%) presentó coinfección con VPH-56 y 58. 67% (4) mostraron concordancia entre la CBL y el FFPE; 1 fue negativa en CBL y positiva para VPH-56 en FFPE y 1 fue positiva para VPH-18 en CBL y negativa en FFPE. No se obtuvo positividad para VPH en las muestras de plasma analizadas. **Conclusión.** La relación VPH y cáncer cérvico-uterino requieren desarrollar estudios regionales que permitan su entendimiento y que aporten a las políticas actualmente implementadas en el país.

Palabras claves: Neoplasia de cuello uterino, Alphapapillomavirus, Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Abstract

Introduction. The Human Papilloma Virus (HPV) is relevant in the development of cervical cancer, a situation that has led to screening with cervical-uterine cytology and DNA-HPV molecular test that allows the early detection of a risk of developing this pathology in women. Although the incidence and mortality have decreased, science could not eradicate this disease. **Objective.** Identified HPV in different samples of patients diagnosed with preneoplastic lesions and cervical-uterine cancer. **Methodology.** Patients with high-grade lesions (LEI-AG) and/or carcinoma on cervical cytology and/or biopsy were included. A blood sample was taken from all of them, the availability of paraffin tissue (FFPE) was evaluated, and PCR genotyping for HPV was performed. **Results.** 27% (3) LEI-AG were between 30-39 years old and 9% (1) were under 29; 50% (6) were positive for HR-HPV other than 16-18 in liquid-based cytology (CBL) and 16% (1) negative. DNA was obtained from 100% of the FFPE, with positivity in 67% (6), 2 (33%) for HPV-16 and 4 (67%) for others (56, 58 and 68). 1 (11%) presented coinfection with HPV-56 and 58. 67% (4) showed concordance between CBL and FFPE; 1 was CBL negative and HPV-56 positive on FFPE and 1 was CBL HPV-18 positive and FFPE negative. No HPV positivity was obtained in the plasma samples tested. **Conclusion.** The relationship HPV and cervical-uterine cancer requires to work out in regional studies that allow to understand and to reassess the policies that are currently implemented in the country.

Keywords: Cervical Neoplasm, Alphapapillomavirus, Polymerase Chain Reaction.

Introducción

Las Infecciones de Trasmisión sexual (ITS) representan un problema de salud pública debido a los elevados costos que generan dentro de los sistemas de salud a nivel mundial (1). El cáncer de cuello uterino es considerado una enfermedad de transmisión sexual (2) y para el año 2020 ocupó el cuarto lugar en frecuencia con 604.000 casos nuevos y 342.000 fallecimientos en el mundo, lo que representa casi el 7,7% de todas las muertes por cáncer en mujeres anualmente (3). Según las estimaciones de Globocan para el año 2020, América Latina y el Caribe ocupó el segundo lugar en incidencia y mortalidad por cáncer de cuello uterino a nivel mundial, con 54.439 casos nuevos y 31.582 muertes (3). En Colombia, durante el periodo comprendido entre el 2 de enero de 2020 y el 1 de enero de 2021, el cáncer de cuello uterino fue el segundo en incidencia con 2.050 casos nuevos reportados (CNR) con una tasa ajustada por edad de 6,04 casos por 100.00, y el segundo en mortalidad con 1.591 pacientes fallecidas (4).

La infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH) ha sido reconocido como el factor etiológico más importante para el desarrollo del cáncer de cuello uterino y en la actualidad se han descrito más de 120 genotipos, siendo la tercera parte de ellos capaces de infectar el epitelio del tracto genital femenino y otros epitelios como los del

canal anal, vagina, vulva, pene y cavidad oral, de tal manera que se ha estimado que el VPH es responsable del 5,2% de todos los cánceres en el mundo(5). Además de estas neoplasias, diferentes estudios lo han encontrado asociado a otros tumores(6) como los del tracto gastrointestinal(7), glándula mamaria(8) y pulmón, entre otros, situación que ha llevado a postular una posible transmisión sanguínea(9).

La carcinogénesis por este virus ha sido bien establecida en las displasias y carcinomas de cuello uterino, en especial para los de alto riesgo(10), sin embargo, se ha descrito que hasta un 5% de estos tumores no se encuentran asociados con la infección persistente del VPH(11). Aunque hasta el momento es difícil explicar este fenómeno, la teoría de “golpe y fuga” podría aclarar la ausencia de genoma viral en estos casos, ya que propone que una vez que la infección viral ha causado suficiente alteración celular, la expresión de las proteínas virales ya no son necesarias para el mantenimiento del tumor y en consecuencia el virus puede eliminarse durante la progresión del cáncer (11).

A medida que surgen nuevas evidencias con respecto a la historia natural del virus, la detección del cáncer de cuello uterino ha evolucionado hacia un proceso complejo, donde se hace necesario revisar las recomendaciones de la guía de práctica clínica para la detección y manejo de lesiones precancerosas, que incluyen como pruebas de tamización la citología de cuello uterino

y la prueba molecular ADN-VPH (12), algunas de las cuales utilizan la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), cuyo objetivo es permitir la amplificación en masa de fragmentos específicos de DNA mediante las variaciones de temperaturas que ocurren dentro de una serie de ciclos repetitivos(13). La inclusión de técnicas como la detección de ADN a partir de tejido fijado en formalina e incluido en parafina (FFPE) (14) y la implementación y estandarización de la tipificación a partir de plasma, mejorarían el diagnóstico de la infección, minimizando la utilización de procedimientos innecesarios en las pacientes.

De acuerdo a lo expuesto anteriormente, este estudio preliminar pretende identificar y describir la presencia del VPH utilizando las pruebas de tamización para el diagnóstico de lesiones preneoplásicas en cuello uterino actualmente aprobadas, la nueva técnica de FFPE y la genotipificación a partir de muestras de plasma sanguíneo.

Materiales y métodos

Selección de muestras

Se incluyeron pacientes en seguimiento de instituciones de salud de las ciudades de Ocaña y Bogotá D.C., sin límite de edad y no tratadas, con diagnóstico de lesión de alto grado y/o carcinoma en citología cervicouterina y/o biopsia, que aceptaron ingresar al estudio mediante la firma del

consentimiento informado. A cada una de ellas se les tomó una muestra de sangre total anticoagulada con EDTA y en cada caso se evaluó la disponibilidad de datos clínicos relevantes y de la muestra en tejido parafinado. El plasma se obtuvo por centrifugación de las muestras de sangre en un lapso no mayor a una hora después de su extracción.

Extracción de ADN

En total se analizaron 36 cortes de 4 micras, correspondientes a 9 muestras de tejido parafinado fijado en formol. La extracción de ADN de FFPE se realizó mediante la metodología manual de extracción de ácidos nucleicos por columna, usando el Kit NukEx Pure RNA/DNA de Gerbion (GmbH, Kornwestheim, Alemania), siguiendo las indicaciones de la casa comercial.

La cuantificación del ADN obtenido de los tejidos embebidos en parafina se realizó mediante el uso del equipo NanoPhotometer (Implen, Munich, Alemania), evidenciándose para cada una de las muestras analizadas la concentración en ng/ μ L, la relación 260/280 y la relación 260/230.

Genotipificación

Seis de las pacientes incluidas en el estudio contaban con el resultado de prueba molecular en citología líquida diagnosticadas con el ensayo Abbott RealTime High Risk (HR) HPV.

La genotipificación a partir de tejido parafinado se realizó con el kit comercial (INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II, Fujirebio Europa, Gent, Bélgica). Este ensayo permite la identificación simultánea de 32 genotipos de VPH, 13 tipos del grupo de alto riesgo (VPH-16, VPH-18, VPH-31, VPH-33, VPH-35, VPH-39, VPH-45, VPH-51, VPH-52, VPH-56, VPH-58, VPH-59 y HPV-68), 7 del grupo potencial de alto riesgo (VPH-26, VPH-53, VPH-66, VPH-67, VPH-70, VPH-73 y VPH-82) y 12 tipos del grupo de bajo riesgo (VPH-6, VPH-11, VPH-40, VPH-42, VPH-43, VPH-44, VPH-54, VPH-61, VPH-62, VPH-81, VPH-83 y VPH-89). La metodología incluye la amplificación de una región de 65pb del marco abierto de lectura L1 del genoma viral por el sistema SPF10 y la posterior hibridación en la plataforma Tendigo™ (Fujirebio Europa, Gent, Bélgica), siguiendo las indicaciones del fabricante(15).

La genotipificación en suero se llevó a cabo con el kit INNO-LIPA HPV que permite identificar 32 genotipos de VPH incluyendo aquellos de baja carga viral (enmascarados), utilizando el principio de la hibridación reversa y los cebadores SPF10.

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante estadística descriptiva simple.

Resultados

Ingresaron al estudio 11 pacientes entre los 21 y 68 años y edad promedio de 43; el 18% eran menores de 30 años. En el grupo de edad de 30-39 años se presentó el mayor número de casos con diagnóstico de Lesiones de alto grado para un total de 3 (27%) (Tabla 1). Un caso (9%) reportado como carcinoma escamo celular infiltrante, se ubicó en el grupo etario de 20-29 años.

Tabla 1. Distribución del diagnóstico patológico por grupo de edad

Edad (Años)	CCE n (%)	CCE infiltrante n (%)	LEIAG n (%)
20 a 29	0 (0)	1 (9)	1 (9)
30 a 39	0 (0)	0 (0)	3 (28)
40 a 49	1 (9)	0 (0)	2 (18)
50 a 59	0 (0)	0 (0)	2 (18)
60 a 69	1 (9)	0 (0)	0 (0)
Total	2 (18)	1 (9)	8 (73)

Nota. CCE carcinoma escamocelular, LEIAG Lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

En 6 de las pacientes se tuvo acceso al resultado de la genotipificación a partir de citología en base líquida (CBL), evidenciándose positividad para VPH-AR diferentes al 16 y 18 en el 50% de los casos. Es de

resaltar que una paciente con diagnóstico de lesión de alto grado fue negativa en CBL y que una paciente menor de 30 años ya tenía cambios preneoplásicos con positividad para VPH 18 (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de los genotipos virales en citología líquida

No	Edad (Años)	Diagnóstico	Citología líquida
1	56	LEIAG	VPH-16
2	58	LEIAG	VPH-Otros
3	29	LEIAG	VPH-18
4	35	LEIAG	VPH Otros
5	43	LEIAG	VPH Otros
6	56	LEIAG	Negativo

Nota: LEIAG: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

Se recibió bloque parafinado en 9 de los 11 pacientes. En el 100% de estos se obtuvo ADN, con una cuantificación de ácido nucleico promedio de 2,34 ng/ μ L medido por espectrometría. El rango de pureza de ADN (A260/280) osciló entre 1,38 y 2,66 con un valor promedio de 2.0, resultados que indican una adecuada recuperación de material genético en las muestras procesadas.

La genotipificación a partir de FFPE mostró una positividad de 67% (6), correspondiendo el 33% (2) de estos casos a VPH-16

y el 67% (4) a otros VPH-AR, específicamente los genotipos 56, 58 y 68. Es de anotar que una de las pacientes (11%) tuvo coinfección por VPH 56 y 68 y que se identificó VPH-58 en una menor de 30 años. Al asociar el diagnóstico patológico con la genotipificación se demostró presencia de VPH-16 en dos de los 9 casos (33%), uno de ellos correspondía a carcinoma escamocelular (CCE) y el otro a LEIAG. Todos los casos positivos para genotipos diferentes al VPH-16 correspondieron a pacientes con LEIAG (Tabla 3).

Tabla 3. Distribución de los genotipos virales en tejido parafinado

No	Edad (Años)	Diagnóstico patológico	Genotipificación
1	68	CCE	Negativo
2	42	CCE	VPH-16
3	38	LEIAG	Negativo
4	43	LEIAG	VPH-16
5	56	LEIAG	VPH-58
6	58	LEIAG	Negativo
7	29	LEIAG	VPH-58
8	35	LEIAG	VPH 56 y 68
9	43	LEIAG	VPH-56

Nota. CCE: Carcinoma escamocelular LEIAG: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

Finalmente, la comparación de la genotipificación en los 3 tipos de muestra utilizadas (Tabla 4) mostró concordancia entre el resultado obtenido en la citología líquida y el tejido parafinado en el 67% (4) de los casos. De los dos casos restantes, uno fue positivo para VPH-18 en la citología líquida pero

negativo en el tejido parafinado y el otro fue negativo en la citología líquida, detectándose VPH-56 en el tejido parafinado. Es importante resaltar que no se obtuvo positividad para VPH en ninguna de las muestras de plasma analizadas.

Tabla 4. Distribución del diagnóstico molecular por tipo de muestra

No	Diagnóstico	Citología líquida	FFEP	Plasma
1	LEIAG	VPH-16	VPH-16	Negativo
2	LEIAG	VPH-Otros	VPH-58	Negativo
3	LEIAG	VPH-18	Negativo	Negativo
4	LEIAG	VPH Otros	VPH-58	Negativo
5	LEIAG	VPH Otros	VPH 56-68	Negativo
6	LEIAG	Negativo	VPH-56	Negativo

Nota. LEIAG: Lesión intraepitelial escamosa de alto grado

Discusión

El VPH es el causante de una de las infecciones de transmisión sexual más común alrededor del mundo (16) y generalmente es adquirido en edades tempranas. La prevalencia de esta infección presenta un pico después del inicio de la vida sexual, que para países como Estados Unidos se ubica en los 17 años (17). El 90% de las personas infectadas desarrollan infección transitoria e indetectable en un periodo de 1-2 años y solo un pequeño número desarrollan persistencia, condición que causa la aparición de las lesiones premalignas y malignas del cuello uterino (18).

Aunque las tasas de infección en menores de 21 años son altas, la incidencia de cáncer de cuello uterino en este grupo etario es extremadamente baja, reportándose prevalencias de 0,1 por 100.000 mujeres para Estados Unidos (12). Así mismo, datos del Programa de Vigilancia, Epidemiología y del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) recolectados entre los años 1999 y 2008, evidenciaron que 21% de los cánceres invasivos en menores de 40 años correspondían a mujeres entre 20 y 29 años y 1% a mujeres menores de 20 años(19). En el contexto latinoamericano, en la última década, se ha observado un aumento significativo en las tasa de incidencia para el grupo de edad de 0-29 años, siendo del 11% anual para Costa Rica y del 16% para Chile(20). En Cuba, se han evidenciado tasas de hasta

48,7% de Lesiones Intraepiteliales de alto grado (LEI-AG) en mujeres menores de 20 años (21) y en Perú, prevalencias de cáncer de cuello uterino que oscilan entre 16% para el grupo etario de 25 a 29 años y 5,3% para el de 20 a 24 años (22). Colombia no es ajena a esta situación, demostrándose para los años 2008 a 2012 hasta un 8,7% de Lesiones Intraepiteliales Escamosas de Bajo Grado (LIE-BG) en adolescentes de Norte de Santander (23) y 3% de cánceres de cuello uterino invasivo en mujeres manizaleñas menores de 25 años, tamizadas durante los años 2003 a 2018 (24). En concordancia con los resultados del presente estudio una paciente de 21 años (9%), fue diagnosticada con carcinoma escamocelular infiltrante, situación que continua aportando evidencia en la necesidad de la importancia de la tamización para la detección de lesiones pre-neoplásicas y cáncer de cuello uterino en mujeres que han iniciado su vida sexual, independiente de la edad. Esto esta alineado con la normatividad actual para Colombia, en la que se propone realizar la citología anual para mujeres menores de 25 años tres años después del inicio de la vida sexual (25) y la Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical que recomienda la tamización con citología de cuello uterino cada tres años para mujeres en edades comprendidas entre los 21 y 29 años (17).

Es de resaltar que la asociación entre la infección por los VPH de alto riesgo y el cáncer de cuello uterino ha promovido el

desarrollo de programas de cribado para la detección temprana de las lesiones pre-malignas y el cáncer cervical basados en la citología de cuello uterino y la prueba molecular ADN-VPH que permiten detectar la enfermedad y la infección respectivamente, captando de esta manera las mujeres que se encuentran en riesgo de desarrollar la enfermedad. Estos programas han demostrado ser efectivos en la reducción de la incidencia y mortalidad por esta patología, pero no han logrado erradicar la enfermedad (26). En relación con esto, llama la atención que un estudio sobre conductas de salud y factores de riesgo en la salud sexual y reproductiva de una población universitaria de la ciudad de Bogotá, observó que solo el 38% de la población femenina se había realizado la citología de cuello uterino como prueba de tamización para detección de la enfermedad (27).

Con respecto a la concordancia entre la citología y las pruebas moleculares, el estudio de tendencias de salud de Quest Diagnostics realizado en Estados Unidos en el año 2015 que comparó los resultados de las pruebas de detección de cáncer de cuello uterino en 256.648 mujeres, encontró que hasta el 19% de las mujeres con pruebas moleculares negativas presentaron lesiones precancerosas y cáncer de cuello uterino en citología (28), situación similar a la encontrada en el presente estudio donde 2 (18%) pacientes una con diagnóstico de LEI-AG y una con carcinoma escamocelular infiltran-

te, fueron negativas para la infección por VPH en FFPE. A su vez, 1 (9%) paciente con prueba ADN-VPH negativa en citología líquida fue diagnosticada con LEI-AG en biopsia, situación que podría ser explicada por la teoría de “golpe y fuga”, que propone que los virus facilitan la acumulación de mutaciones y promueven la inestabilidad genómica con pérdida del genoma, del episoma y/o oncogén en las células infectadas, conservando el fenotipo maligno hasta que el virus se vuelve prescindible para el mantenimiento del tumor (11).

Debido a que la oncogénesis viral es compleja, las guías para la detección del cáncer de cuello uterino recomiendan el uso de la citología de cuello uterino y la prueba molecular ADN-VPH a partir de los 30 años. Se ha demostrado que la citología tiene una especificidad del 98% (86-100%) y una sensibilidad del 51% (30-87%), la cual aumenta con el grado de la lesión (12). A su vez, la prueba ADN-VPH aumenta la sensibilidad para detectar lesiones de alto grado a costa de una menor especificidad, debido a la alta prevalencia de la infección y a su naturaleza transitoria(26). En el presente estudio 2 (18%) pacientes fueron diagnosticadas con lesiones preneoplásicas utilizando la citología como única prueba de tamización, resultado que permitió definir la conducta de manejo. Esta situación favorece a las poblaciones donde no se cuenta con el recurso de las pruebas moleculares. Las pautas de la Sociedad Estadounidense del Cáncer de

2012, recomiendan el uso de la detección citológica cada 3 años como prueba única o la combinación con la prueba molecular ADN-VPH (Co-Test) cada 5 años en mujeres de 30 a 65 años (17). En Colombia, la guía de práctica clínica para la detección y manejo de lesiones pre-malignas de cuello de cuello uterino recomiendan realizar la prueba de ADN-VPH como prueba de tamización primaria en mujeres mayores de 30 años, la cual se debe repetir a los 5 años si sale negativa; en caso de que resulte positiva, se recomienda complementar con la citología cervicouterina. Se sugiere de igual manera, realizar la tamización con citología cervicouterina cada tres años, en las mujeres con edades comprendidas entre los 25 y 30 años (25).

En el año 2019 Estados Unidos publicó las directrices de conceso de gestión basadas en el riesgo del ASCCP para las pruebas de detección de cáncer de cuello uterino y lesiones preneoplásicas(29), en las que se definen las pautas para el manejo de una paciente acorde con el riesgo de desarrollar estas patologías, según las anomalías detectadas en las estrategias de detección actualmente disponibles: detección primaria del VPH, prueba conjunta (Co-test) y citología cervical sola, resaltando la importancia de la interpretación conjunta de las mismas que permitan un adecuado diagnóstico y manejo de la paciente.

La infección persistente por el VPH-AR, se considera uno de los factores de riesgo

más importantes para el desarrollo de varias neoplasias malignas, evidenciándose la importancia de su diagnóstico como biomarcador pronóstico y predictivo. Por esta razón se han desarrollado métodos moleculares reproducibles y sensibles para la detección de la infección, basados algunos de ellos en la extracción de ADN a partir de FFPE, que a pesar de verse limitada por la conservación del ADN por fragmentación y formación de enlaces cruzados de proteínas en muestras guardadas durante un tiempo prolongado (30), es un material de fácil acceso muy útil para estudios moleculares retrospectivos de virus oncogénicos(31) como se demostró en el presente estudio donde se detectó la presencia del virus en 6 muestras (66%) del total analizadas. Es de anotar que a 2 pacientes (33%) se les identificó VPH-16, seguido por otros diferentes al 16 y 18 en 4 casos (66%). No se detectó la presencia de VPH-18 y un caso negativo en citología líquida fue positivo para VPH-56 a partir de FFPE. Se debe resaltar la alta proporción de infección por VPH-AR diferentes al 16 y 18 encontrados y que un caso positivo para VPH-18 en citología líquida, fue negativo en FFPE, debido muy probablemente a la eliminación del virus una vez que éste no es requerido para el mantenimiento del tumor.

Existen aproximadamente 200 genotipos de VPH, de los cuales 30 a 40 infectan regular o esporádicamente el trato genital. Dentro de los de alto riesgo, cabe destacar

que los tipos 16 y 18 son responsables de aproximadamente el 65% de los casos de cáncer de cuello uterino y un 20% de estas neoplasias, son atribuibles a los genotipos 31, 33, 45, 52 y 58 (32). La vacunación profiláctica contra los VPH, se han convertido en un potente instrumento para prevenir la infección por estos virus, existiendo en la actualidad tres vacunas aprobadas para tal fin: la bivalente (VPH 16/18), tetravalente (VPH 6/11/16/18) y la nonavalente (VPH 6/11/16/18/31/33/45/52/58) (18). Es importante anotar que, en el presente estudio, un caso fue diagnosticado con VPH 56 y uno con poli infección 56 y 68, genotipos que no se encuentran incluidos en ninguna de estas vacunas. Esta situación nos lleva a plantear la necesidad de realizar un mayor número de estudios poblacionales que nos permitan entender el comportamiento de la infección en el país, y de esta manera incidir en la implementación de políticas efectivas en salud pública, que permitan mitigar la incidencia y mortalidad causadas por este virus.

Debido a los altos costos en salud derivados de los cánceres asociados con el VPH, existe una necesidad significativa de nuevas intervenciones preventivas secundarias. Los biomarcadores en sangre representan una modalidad potencial ideal para la detección temprana o la vigilancia de los cánceres asociados con el VPH en todos los sitios. Las investigaciones preliminares han destacado la aplicación potencial de los anticuer-

pos contra el VPH-16 y el ADN del VPH circulante. Sin embargo, se han explorado otros biomarcadores en sangre, incluidos los niveles de citoquinas, vitaminas, cofactores y varios polimorfismos genéticos (33)

El presente estudio empleó plasmas para la detección del material genético viral por PCR, pero a pesar de que las muestras se recolectaron en tubos con EDTA y se procesaron en un tiempo menor a 6 horas de acuerdo con las recomendaciones, no se detectó la presencia del virus. Diversas publicaciones han reportado un aumento en los niveles de ADN circulante en suero y una mayor integridad de éste por la lisis de los glóbulos blancos, pero la ausencia de amplificación puede estar ligada a que en el presente estudio no se utilizaron metodologías de extracción más eficientes que podrían contribuir a su detección, como los kits optimizados para la purificación de ADN libre (cell free DNA) en plasma. Además, los métodos de aislamiento de ADN circulante varían con los diferentes kits disponibles comercialmente, por lo que todos requieren del cumplimiento del protocolo para minimizar la variabilidad de recuperación de este tipo de material genético, que usualmente es de difícil recuperación(34).

El establecimiento del vínculo causal entre el VPH y el cáncer de cuello uterino, junto con la comprensión de la epidemiología y la historia natural de la infección por VPH, ha dado lugar a un nuevo modelo para la carcinogénesis del cuello uterino: adquisición del VPH,

persistencia del VPH (frente a eliminación), progresión a precáncer e invasión. Debido a lo anterior, se hace indispensable implementar todas las herramientas diagnósticas actualmente disponibles, que permitan el enfoque basado en el riesgo donde se aborda la necesidad de la simplicidad y la estabilidad de las pautas clínicas, paralelamente con los continuos avances tecnológicos en los métodos de detección de infección viral y enfermedad. Así mismo, la eficacia y el impacto de la detección del cáncer de cuello uterino hacen necesario adelantar estudios que permitan comprender el comportamiento regional del virus, lo que puede contribuir con la permanente revisión y actualización de las guías de tamización y diagnóstico implementadas actualmente en el país.

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos al laboratorio Labtronics S.A.S por haber aportado el kit para la extracción de ADN, a Quimiolab S.A.S por realizar la genotipificación, al Laboratorio de Salud Pública de Cundinamarca por facilitar las instalaciones requeridas para el proceso de extracción de ADN, que permitieron el desarrollo del proyecto y a Álvaro Monguí por colaborar con la revisión del documento.

Conflicto de intereses y financiación: El presente trabajo no presenta conflicto de intereses y fue financiado con recursos propios y los aportados por Labtronics S.A.S y Quimiolab S.A.S.

Referencias

1. Lara Gutiérrez D, Mérida R, Mora S. Tratamientos alternativos de medicina tradicional para Chlamydia trachomatis, agente causal de una infección asintomática. NOVA. 2018;13(30):65–74.
2. Fernandes A, Viveros-Carreño D, Hoegl J, Ávila M, Pareja R. Human papillomavirus-independent cervical cancer. Int J Gynecology Cancer. 2022; 32(1):1–7.
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021; 71(3):209–249.
4. Ministerio de Salud y Protección Social. Cuenta de Alto Costo. Día Mundial del Cáncer de Cervix 2022. [Internet]. [Consultado 07 Oct 2022]. Disponible en: <https://cuentadealtocosto.org/site/dia-mundial-del-cancer-de-cervix-2022/>.
5. Zaldívar G, Martín F, Sosa F, Ávila J, Lloret M, Román M, Vega G. Cáncer cérvicouterino y virus del papiloma humano. Rev. Chil. Obstet. ginecol. 2015;77(4):315–321.
6. Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers - a brief historical account. Virology. 2009; 384(2):260–265.
7. Almonacid I, Almonacid C, Rosas S, Hernández E, González J. The current outlook of human papillomavirus and its association with digestive tract cancer. Revista Logos, Ciencia & Tecnología. 2021;13(1):129–143.
8. Rios M, Hernández M, Frontela M. Infecciones virales, posible factor de riesgo en cáncer de mama. Rev Cubana de Obstet Ginecol. 2016;42(3).
9. Hu Y, Ren S, He Y, Wang L, Chen C, Tang J, Liu W, Yiu F. Possible Oncogenic Viruses Associated with Lung Cancer. Onco Targets Ther. 2020;13:10651–66.
10. Toro A, Tapia L. Virus del papiloma humano (VPH) y cáncer. Medicina & Laboratorio. 2021; 25 (2):467–83.
11. Ferreira D, Tayyar Y, Idris A, MacMillan N. A “hit-and-run” affair-A possible link for cancer progression in virally driven cancers. Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2021;1875(1):188476.

12. Lees B, Erickson B, Huh W. Cervical cancer screening: evidence behind the guidelines. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(4): 438–43.
13. Pereira J, Gaviria L, Zea S, Jaramillo P, Bedoya A. Descripción de pruebas moleculares en el diagnóstico del virus ZIKA en el periodo 2008-Febrero 2018. Revisión sistemática. *NOVA.* 2018;16(30):81–93.
14. Guirou E, Schindler T, Hosch S, Donfack O, Yoboue C, Krähenbühl S, et al. Molecular malaria surveillance using a novel protocol for extraction and analysis of nucleic acids retained on used rapid diagnostic tests. *Sci Rep.* 2020;10(1):12305.
15. Hamont D, Ham M, Bakkers J, Massuger L, Melchers W. Evaluation of the SPF10-INNO LiPA human papillomavirus (HPV) genotyping test and the roche linear array HPV genotyping test. *J Clin Microbiol.* 2006;44(9):3122–9.
16. Iriarte G, Orjuela J, Osorio W, Jiménez L. Detección de ARNm de oncoproteínas E6/E7 del Virus del Papiloma Humano en cáncer de cuello uterino. *Acta bioquim. clín. latinoam.* 218;52(3):361–72.
17. Saslow D, Solomon D, Lawson H, Killackey M, Kulasingam S, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. *Ca Cancer J Clin.* 2012;62(3):147–72.
18. Domínguez S, Perdomo T, Aguilar K, Hernández M. Infección por el virus del papiloma humano en adolescentes y adultas jóvenes. *Rev Cubana de Obstet Ginecol.* 2018; 44(1):1-13.
19. Benard V, Watson M, Castle P, Saraiya M. Cervical carcinoma rates among young females in the United States. *Obstet Gynecolo.* 2012;120(5): 1117-23.
20. Pilleron S, Cabasag C, Ferlay J, Bray F, Luciani S, Almonte M, et al. Cervical cancer burden in Latin America and the Caribbean: Where are we? *Int J Cancer.* 2020; 147(6):1638-1648.
21. Fleites Y, González M, Vásquez V, González A, Enríquez I, Leyva I. Lesiones de cuello uterino en mujeres menores de 25 años. *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos.* 2011; 9(6): 22-28.
22. Ruiz R, Serrano M, Ruiz E, Mantilla R, Valdivieso N, Olivera M, et al. Características clínico-patológicas y sobrevida en mujeres jóvenes con cáncer cervical: análisis retrospectivo del instituto nacional de enfermedades neoplásicas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2017;34(2):218–27.
23. Sampedro C, Ríos L, Cardona J. Prevalencia de alteraciones preneoplásicas del cáncer de cuello uterino en un municipio del Norte de Antioquia-Colombia, 2008-2012. *Med Arh.*2014;10(1):1–10.
24. Arango M. Tendencias temporales del cáncer de cuello uterino invasivo en mujeres entre 20 y 39 años en Manizales, Colombia. 2003-2018. *Revista Médica Risaralda.* 2021;27(1):21–27.
25. Arbeláez A, Carreño C, Coñazos L, Castillo A. Implementación de la nueva guía práctica clínica para la detección y manejo de lesiones precancerosas de cuello uterino en mujeres de la ciudad de Cali, Colombia. *Infectio.* 2020;24(1):20–26.
26. Zhang J, Zhao Y, Dai Y, Dang L, Ma L, Yang C, et al. Effectiveness of High-risk Human Papillomavirus Testing for Cervical Cancer Screening in China. *JAMA Oncol.* 2021; 7(2):263–270.
27. Acosta S, Ibáñez E, Alfonso A, Cifuentes L, Gamba S, Mojica C, et al. Conductas de Salud y Factores de Riesgo en la Salud Sexual y Reproductiva de una Población Universitaria. *NOVA.* 2010;8(13):33–43.
28. Blatt A, Kennedy R, Luff R, Austin R, Rabin D. Comparison of cervical cancer screening results among 256,648 women in multiple clinical practices. *Cancer Cytopathol.* 2015;123(5):282–288.
29. Perkins R, Guido R, Castle P, Chelmow D, Einstein M, Garcia F, et al. 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines for Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2020; 24(2):102–131.
30. Biesaga B, Janecka A, Mucha A, Adamczyk A, Szostek S, Słonina D, et al. HPV16 detection by qPCR method in relation to quantity and quality of DNA extracted from archival formalin fixed and paraffin embedded head and neck cancer tissues by three commercially available kits. *J Virol Methods.* 2016; 236:157-163.
31. Božić L, Jovanović T, Šmitran A, Janković M, Knežević A. Comparison of HPV detection rate in formalin-fixed paraffin-embedded tissues of head and neck carcinoma using two DNA extraction kits and three amplification methods. *Eur*

32. Schwarz G, Sánchez C, Moreno N, Morató M, Martín S, Javierre A, et al. Infectious Disease Prevention Group. Update on vaccines, 2020. *Aten Primaria*. 2020; 52 (2):70–92.
33. Balachandra S, Kusin S, Lee R, Blackwell J, Tiro J, Cowell L, et al. Blood-based biomarkers of human papillomavirus-associated cancers: A systematic review and meta-analysis. *Cancer*. 2021;127(6):850–64.
34. Trigg R, Martinson L, Parpart-Li S, Shaw J. Factors that influence quality and yield of circulating-free DNA: A systematic review of the methodology literature. *Heliyon*. 2018;4(7):1-24.