

# Sensibilidad y especificidad de las pruebas de citología, colposcopia, biopsia y detección del virus del papiloma humano en lesión intraepitelial escamosa

*María del Carmen Colín Ferreyra,<sup>1,2</sup> Ma. Victoria Domínguez García,<sup>2</sup> Hugo Mendieta Zerón,<sup>3</sup> Ingrid Johana Rojas Arizmendi,<sup>4</sup> María del Socorro Romero Figueroa<sup>5</sup>*

## Resumen

La citología, colposcopia y biopsia son pruebas de rutina en el diagnóstico del cáncer cervicouterino (CaCu); en un gran número de estudios se ha asociado el virus del papiloma humano (VPH) con el desarrollo de lesiones cancerosas y precancerosas. En consecuencia, es importante determinar si la prueba de tipificación del ADN, junto con las primeras, incrementa la probabilidad de diagnóstico oportuno en casos de lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIE-AG). Para tal efecto, se llevó a cabo un estudio transversal con 38 pacientes. La tipificación del VPH se realizó por el método de *Linear Array* y se consultaron los expedientes para obtener los resultados de citología, colposcopia y biopsia; se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, coeficiente de verosimilitud, probabilidad pre-test y probabilidad post-test, me-

<sup>1</sup> Doctorado en Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.

<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Molecular, Centro de Investigación en Ciencias Médicas, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.

<sup>3</sup> Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. Asociación Científica Latina.

<sup>4</sup> Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia, Centro de Investigación en Ciencias Médicas, UAEM.

<sup>5</sup> Coordinación de Investigación, Instituto Mexicano del Seguro Social, Toluca, México.

dian­te metodolo­gías des­cri­tas en es­tudios pre­vios. Para el diag­nós­tico de LIE-AG, al in­cluir la prueba de ti­pifi­ca­ción del ADN, la sen­si­bi­li­dad está arri­ba de 80% y la es­pe­ci­fi­ci­dad es menor a 42%. La pro­ba­bi­li­dad de en­con­trar un pa­ciente con LIE-AG cuando se usa la cito­lo­gía jun­to con la ti­pifi­ca­ción de *Linear Array* tie­ne un in­cre­men­to de 7%; en la colpos­co­pia y *Linear Array* au­men­tó 10% y en la bio­psia y *Linear Array*, 3%. En con­clu­sión, en la prueba de ti­pifi­ca­ción se in­cre­men­ta la po­si­bi­li­dad post-test de de­tec­tar al pa­ciente con LIE-AG.

**Palabras clave:** VPH, cito­lo­gía, colpos­co­pia, bio­psia.

## INTRODUCCIÓN

El virus del papiloma humano (VPH) pertenece a la familia *Papillomaviridae*, virus cuyo material genético está compuesto por ADN, con una cápside que adopta una forma icosaédrica, con un diámetro de aproximadamente 50 nm, la nucleocápside no se encuentra rodeada por envoltura lipídica. El VPH tiene tropismo por el epitelio estratificado escamoso, específicamente por las células de la capa basal en proliferación. La importancia de la infección por VPH radica en que se ha asociado con el desarrollo de lesiones intraepiteliales escamosas (LIE) y cáncer cervicouterino (CaCu) (1-3).

El sistema *Bethesda* fue creado en 1988 con el propósito de establecer terminologías universales para las lesiones precancerosas y cancerosas. De esta clasificación surge el término LIE y se establece que existen dos grados: a) lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIE-BG) y b) lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LIE-AG) (4); este tipo de lesiones pueden evolucionar a CaCu, por lo que cobra relevancia su diagnóstico ya que, actualmente, el CaCu es un problema de salud (5). En 2003, en México, se observó una incidencia de 24 mil 94 casos de CaCu invasor y 14 mil 867 casos de CaCu *in situ* (6); desde 2008 se considera la segunda causa de muerte por cáncer (5). En 2012, el número de casos de CaCu en México se estimó en 13 mil 960, mientras que el número de casos de defunciones CaCu fue de 3 mil 840 (7, 8). Dada la incidencia, resulta relevante llevar a cabo el diagnóstico oportuno para evitar el incremento en los índices de mortalidad de las mujeres en el país.

Las pruebas rutinarias que se han usado para el diagnóstico del CaCu son: cito­lo­gía, colpos­co­pia y bio­psia. Éstas han de­mos­tra­do re­ducir la in­ci­den­cia del CaCu; con­cre­ta­men­te, desde el co­mien­zo del uso de la cito­lo­gía, se ha de­mos­tra­do la dis­mi­nución en este pa­de­ci­mien­to (9); sin em­bar­go, ha pre­sen­ta­do una li­mi­ta­da sen­si­bi­li­dad para el diag­nós­tico de LIE (10, 11), lo que li­mi­ta su opor­tuna de­tec­ción.

Dentro de las pruebas diagnósticas de rutina para el CaCu y LIE, la primera que se realiza en las pacientes es la citología por medio de la tinción de *Papanicolaou* (PAP), en la cual se buscan cambios en las células. Si existen estos cambios, entonces se recomienda la toma de colposcopia y biopsia, mediante un estudio histopatológico con una biopsia dirigida principalmente por colposcopia; por tanto, estas dos últimas pruebas son confirmatorias. Mientras que la colposcopia determina la presencia o ausencia de lesión en el área del cérvix, así como su amplitud, la biopsia muestra cambios histológicos en el tejido. Sin embargo, ambas pruebas tienden a dar resultados variables y subjetivos de acuerdo con la experiencia del ginecólogo, citotecnólogo o patólogo que realiza la prueba. A eso se agrega que la biopsia es una prueba invasiva, molesta y dolorosa pero necesaria para confirmar el diagnóstico de la presencia de lesión cancerosa o precancerosa en la paciente (10, 12). Así, citología, colposcopia y biopsia se han usado para la búsqueda de cambios sugerentes de la infección por el VPH (13).

Para el diagnóstico de la infección por el VPH se han introducido diferentes pruebas moleculares (14-16). Debido a que el VPH no puede ser cultivado *in vitro*, su diagnóstico se basa en técnicas moleculares que se fundamentan en la secuencia de ADN; por ejemplo, hibridación *in situ*, *Southern blot*, captura de híbridos y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (17). Una ventaja de los métodos de detección de ADN del VPH es que identifican el genotipo, que puede clasificarse como de alto riesgo (VPH-AR) o de bajo riesgo (VPH-BR), de acuerdo con su asociación con el CaCu. Son considerados como genotipos de VPH-AR: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82; de VPH-BR: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108, y probablemente de VPH-AR: 26, 53, 66. Los genotipos que más frecuentemente se han encontrado en LIE son: 6, 11, 16, 18, 31, 39-45, 51-56; mientras que los encontrados en CaCu son: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 (18, 19). En consecuencia, resulta importante implementar alguna de estas pruebas para obtener un mejor seguimiento de las pacientes con infección por VPH.

Aunque las pruebas como citología, colposcopia y biopsia han demostrado ser importantes en la detección del CaCu, es crucial conocer si la incorporación de la prueba de tipificación del ADN en los análisis de rutina incrementa la probabilidad de diagnóstico oportuno de LIE.

El objetivo de este estudio radicó en identificar si la incorporación de la prueba de tipificación del ADN en las pruebas de rutina aumenta la probabilidad de diagnóstico oportuno de LIE.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Previa aceptación del protocolo de investigación por el Comité de Bioética del Centro de Investigación en Ciencias Médicas de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), se realizó un estudio transversal en el Centro de Investigación en Ciencias Médicas (CICMED), con muestras del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y del Hospital Materno-Perinatal "Mónica Pretelini". Los criterios de inclusión fueron: a) pacientes con LIE; b) pacientes con diagnóstico previo de VPH (positivo o negativo) con el método *Linear Array* por medio del cual se realizó la genotipificación del VPH, como se ha descrito anteriormente (20); c) pacientes que tuvieran en su expediente las pruebas completas de citología, colposcopia y biopsia.

En cuanto al análisis estadístico de los datos, se realizó un análisis descriptivo con cada una de las pruebas diagnósticas para la infección por VPH y presencia de LIE.

Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), coeficiente de verosimilitud positivo (CV +), probabilidad del *pre-test* y probabilidad *post-test* (21, 22) de citología, colposcopia, biopsia, la prueba de tipificación de ADN de VPH por *Linear Array* para el diagnóstico de LIE-AR respecto a la de LIE-BG.

## RESULTADOS

Se incluyeron 38 pacientes con diagnóstico de LIE cuyos expedientes contaron con las pruebas de rutina completas; la edad promedio fue de  $40 \pm 10$  años.

En la Tabla 1 se muestra que de las 38 pacientes, los casos positivos de infección por VPH fueron: de acuerdo con el método *Linear Array*, 26 (68%); en la citología, 17 (45%); en la colposcopia, 31 (82%) y en la biopsia, 22 (58%). Los genotipos encontrados en la muestra fueron: 11, 16, 18, 31, 33, 39, 45, 51, 52, 53, 58, 59, 67, 71, 78, 83 y 84. El más frecuente fue el genotipo 16, con una prevalencia de 47.3%.

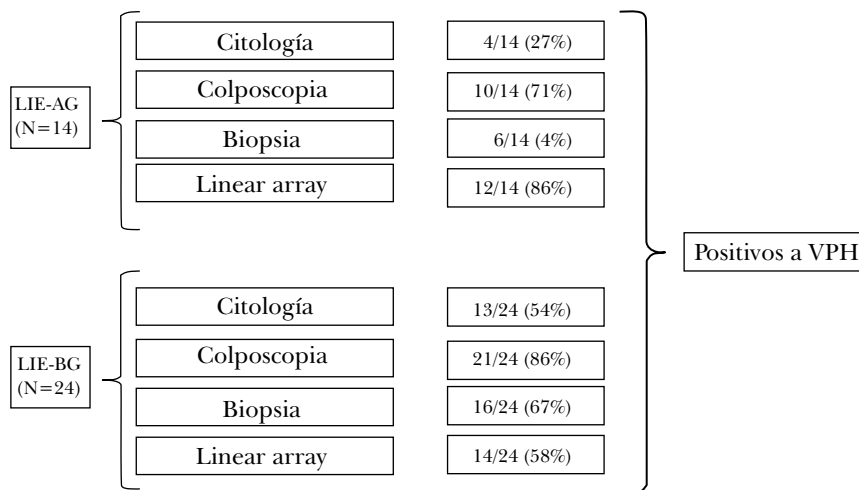
**Tabla 1**  
**Comparación del diagnóstico de la infección por VPH por citología, colposcopia, biopsia y *Linear Array***

Diagnóstico de infección por VPH (N=38)	Citología	Colposcopia	Biopsia	<i>Linear Array</i>
Positivo	17 (45%)	31 (82%)	22 (58%)	26 (68%)
Negativo	21 (55%)	07 (18%)	16 (42%)	12 (32%)

VPH = virus del papiloma humano.

En la Figura 1 se observa la proporción de pacientes que tuvieron un diagnóstico de LIE-AG y LIE-BG, así como la positividad a VPH, de acuerdo con cada prueba de rutina analizada. La prueba de *Linear Array* presenta un porcentaje de 86% de positividad en pacientes con LIE-AG y un porcentaje de 58% con LIE-BG. La colposcopia con datos sugerentes de VPH tuvo un porcentaje de 71% para LIE-AG y 86% para LIE-BG.

**Figura 1**  
**Diagrama de los pacientes en cada grupo de estudio**



LIE-AG = lesión intraepitelial de alto grado, LIE-BG = lesión intraepitelial de bajo grado, VPH = virus del papiloma humano.

En la Tabla 2 se observa que en el diagnóstico para LIE, al incluir la prueba de tipificación del ADN, la sensibilidad está arriba de 80% y la especificidad es menor que 42%, los VPP fueron menores que 46% y los VPN estuvieron por arriba de 75%; se encontró que cuando se usa la citología junto con la tipificación de *Linear Array* se tiene un incremento de 7% en la probabilidad de *post-test* de encontrar un paciente con LIE; en la colposcopia *Linear Array* aumentó 10% y en la biopsia y *Linear Array*, 3%.

**Tabla 2**  
**Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, coeficiente de verosimilitud y probabilidad *post-test* de las pruebas de rutina para el diagnóstico de LIE agregando la prueba de tipificación de ADN mediante la técnica de *Linear Array***

	SEN	ESP	VPP	VPN	CV	VP	VN	FP	FN	PPRT	PPOT
Citología	80%	39%	46%	75%	1.3	12	9	14	3	40%	47%
Colposcopia	86%	42%	46%	80%	1.5	12	10	14	2	37%	47%
Biopsia	80%	38%	42%	80%	1.3	11	9	15	3	37%	40%

SEN = sensibilidad, ESP = especificidad, VPP = valor predictivo positivo, VPN = valor predictivo negativo, coeficiente de verosimilitud positivo, coeficiente de verosimilitud negativo, VP = verdaderos positivos, VN = verdaderos negativos, FP = falsos negativos, FN = falsos negativos, PPRT = probabilidad *pre-test* y PPOT = probabilidad *post-test*.

## DISCUSIÓN

En este estudio se observó que en la prueba de tipificación de ADN, junto con las pruebas de rutina, aumenta la probabilidad de detectar pacientes con LIE. Esto se ha sugerido en diferentes estudios donde la combinación de PAP y las pruebas de VPH pueden aumentar la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico (23-25). Otros estudios han demostrado que el diagnóstico en las pruebas de rutina mejora cuando se incluyen pruebas moleculares, ya sea de ARN (E6/E7) (26) o de ADN (27). Esto último coincide con los resultados de este estudio en cuanto al diagnóstico de LIE, ya que se observó que en todos los casos la probabilidad *post-test* de encontrar una paciente enferma aumentó cuando se aplicaron las dos pruebas.

Es importante tener un diagnóstico oportuno de las LIE, pues permitiría evitar un gran número de casos que podrían convertirse en CaCu; por este motivo, implementar la prueba de tipificación del ADN del VPH, podría facilitar una detección oportuna de CaCu y LIE.

Es posible que, como se ha mencionado en la bibliografía, exista un diagnóstico erróneo y los criterios de diagnóstico pudieran ser revisados y actualizados (28). En diferentes estudios previos se identifican diferencias en la sensibilidad y especificidad para la prueba de citología y colposcopia, por lo que pueden presentarse variaciones de acuerdo con el lugar donde se llevan cabo y las personas que realizan los estudios (29, 30, 31).

En consecuencia, se sugiere que se incluya la prueba de ADN viral en la detección del CaCu, ya que aumentaría el diagnóstico oportuno de LIE, con la tipificación de VPH-AR en comparación con los de VPH-BR. En el mismo ámbito, se ha confirmado que la prueba de VPH puede disminuir la incidencia y mortalidad del CaCu (14). En otro estudio se demostró que la citología, junto con la prueba de ADN, puede mejorar el diagnóstico del VPH (32, 33) y que la citología pudiera ser un buen predictor de VPH-AR (33).

La prueba de detección del ADN del VPH tiene otra ventaja: la posibilidad de detectar el VPH antes del desarrollo de LIE. Esto último es muy importante ya que permitiría intervenir antes de que se presente una LIE y por tanto establecer el tratamiento oportuno a la paciente. Un impacto inmediato es que se incidiría en la reducción de costos que una paciente con CaCu representa para un país y que puede ser muy elevado; por ejemplo, el costo anual es de aproximadamente 4 mil 970 dólares en Brasil, y de 13 mil 505 dólares en Francia (34-36).

Una desventaja de la prueba de tipificación de ADN (arriba de los 150 dólares por paciente) es que implica un costo mayor que el de las pruebas de rutina, lo que posiblemente podría impedir que en países en vías de desarrollo fuera integrado entre las pruebas de diagnóstico; sin embargo, el costo por CaCu sigue siendo más elevado que cualquier método de detección oportuno.

Dada la variabilidad que se presenta en los métodos diagnósticos, puede ocurrir que los criterios de aplicación varíen entre diferentes países, por lo que sería correcto revisar tales criterios para aplicarlos de igual manera en todo el mundo, con la mejor certeza de obtener una detección correcta y oportuna.

## CONCLUSIONES

Para el diagnóstico de LIE, al incluir el estudio de tipificación de VPH, se incrementa la posibilidad de detectar pacientes con LIE-AG.

## REFERENCIAS

1. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 4: 244-65.
2. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, Ho CH, Lippman SM, Tsao AS. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010; 2: 15.

3. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer* 2010; 10: 550-60.
4. Solomon D, Darvey D. The 2001 Bethesda Systems: terminology for reporting results of cervical cytology. *J Am Med Assoc* 2002; 287: 2114-9.
5. Ferlay J, Pisani P, Parkin DM. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC-GLOBOCAN; 2008.
6. Montalvo Esquivel G, Coronel Martínez JA, Alvarado Zermeño A, Cantú de León DF, Flores Alatríste D, Ortega Rojo A *et al.* Oncoguía cáncer cervicouterino 2011; 6-69.
7. GLOBOCAN 2012. Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC). Francia: Globocan; 2012 (<http://globocan.iarc.fr>).
8. Knaul, Arreola Ornelas y Méndez. Dirección General de Información en Salud (DGIS). Base de datos de defunciones generales 1979-2012. Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). México: Secretaría de Salud (<http://www.sinais.salud.gob.mx>).
9. Arbyn M, Raifu AO, Weiderpass E, Bray F, Anttila A. Trends of cervical cancer mortality in the member states of the European Union. *Eur J Cancer* 2009; 15: 2640-8.
10. Mayrand MH, Duarte Franco E, Rodríguez I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A *et al.* Canadian cervical cancer screening trial study group. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 1579-88.
11. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A *et al.* New Technologies for Cervical Cancer Screening Working Group. Results at recruitment from a randomized controlled trial comparing human papillomavirus testing alone with conventional cytology as the primary cervical cancer screening test. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 492-501.
12. Schiffman M, Castle PE, Jerónimo J, Rodríguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370: 890-907.
13. Bosch FX, de Sanjosé S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers* 2007; 23: 213-27.
14. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, 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: 1095-101.
15. Cuzick J, Mayrand MH, Ronco G, Snijders P, Wardle J. Chapter 10: new dimensions in cervical cancer screening. *Vaccine* 2006; 24: 90-7.
16. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A *et al.* New technologies for cervical cancer screening (NTCC) working group. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical



- cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010; 249-57.
17. Hubbard RA. Human papillomavirus testing methods. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 940-5.
  18. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
  19. De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, Zur HH. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324: 17-27.
  20. Schalasta G, Rosenthal T, Grothe M. Roche AMPLICOR human papillomavirus (HPV) and Linear Array HPV tests will profit from automated DNA extraction. *Clin Lab* 2007; 53: 131-3.
  21. Salech F, Mery V, Larrondo F, Rada G. Estudios que evalúan un test diagnóstico: interpretando sus resultados. *Rev Méd Chile* 2008; 136: 1203-1208.
  22. Capurro D, Rada G. El proceso diagnóstico *Rev Méd Chile* 2007; 135: 534-538.
  23. Yoshida T, Sano T, Takada N, Kanuma T, Inoue H, Itoh T, Yazaki C, Obara M, Fukuda T. Comparison of self-collected and clinician-collected materials for cervical cytology and human papillomavirus genotyping: analysis by linear array assay. *Acta Cytol* 2011; 55(1):106-12.
  24. Dobec M, Bannwart F, Kaeppli 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.
  25. Monsonogo J, Pollini G, Evrard MJ, Sednaoui P, Monfort L, Quinzat D, Dachez R, Syrjänen K. Linear array genotyping and hybrid capture II assay in detecting human papillomavirus genotypes in women referred for colposcopy due to abnormal Papanicolaou smear. *Int J STD AIDS*. 2008; 19(6): 385-92.
  26. Sorbye SW, Arbyn M, Fisman S, Gutteberg TJ, Mortensen ES. HPV E6/E7 mRNA testing is more specific than cytology in post-colposcopy follow-up of women with negative cervical biopsy. *PLoS One* 2011; 6: e26022.
  27. Rijkaart DC, Berkhof J, van Kemenade FJ, Coupe VM, Rozendaal L, Heideman DA *et al.* HPV DNA testing in population-based cervical screening (VUSA-Screen study): results and implications. *Br J Cancer* 2012; 106: 975-81.
  28. Scott DR, Hagmar B, Maddox P, Hjerpe A, Dillner J, Cuzick J, *et al.* Use of human papillomavirus DNA testing to compare equivocal cervical cytological interpretations in the United States, Scandinavia, and the United Kingdom. *Cancer* 2002; 96: 14-20.

29. Sanabria JG, Herrera MA, Abreu M, Salgueiro V, Palacios G. Sensibilidad y especificidad de la citología orgánica cervical. Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica 2005; 2-12.
30. Karimi-Zarchi M, Peighambari F, Karimi N, Rohi M, Chiti Z. A comparison of 3 ways of conventional Pap smear, liquid-based cytology and colposcopy vs. cervical biopsy for early diagnosis of premalignant lesions or cervical cancer in women with abnormal conventional Pap test. *Int J Biomed Sci* 2013; 9: 205-10.
31. Zamudio Andrade A, Zepeda Zaragoza J, Rodríguez Blanco B, Tenorio Marañón FR. Evaluación del Papanicolaou y la colposcopia en el diagnóstico de la infección por el virus del papiloma humano. *Rev Fac Med UNAM* 2001; 44: 5-7.
32. Nygard M, Roysland K, Campbell S, Dillner J. Comparative effectiveness study on human papillomavirus detection methods used in the cervical cancer screening programme. *BMJ Open* 2013; 4: e003460.
33. Cuzick J, Ho L, Terry G, Kleeman M, Giddings M, Austin J, *et al.* Individual detection of 14 high risk human papilloma virus genotypes by the PapType test for the prediction of high grade cervical lesions. *J Clin Virol* 2014; S1386-6532.
34. Da Fonseca AJ, Ferreira LP, Dalla-Benetta AC, Roldan CN, Ferreira ML. Epidemiology and economic impact of cervical cancer in Roraima, a Northern state of Brazil: the public health system perspective. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2010; 32: 386-92.
35. Arveux P, Bénard S, Bouée S, Lafuma A, Martin L, Cravello L, *et al.* Invasive cervical cancer treatment costs in France. *Bull Cancer* 2007; 94: 219-24.
36. Mendieta Z, López H, Layton T, Santillán B, Colín F, Camarillo R, *et al.* Human Papillomavirus: mini-review and collateral expected benefits of the vaccine. *Nepal J Obstet Gynaecol* 2013; 8: 4-9.