



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA CITOLOGÍA
CERVICOVAGINAL Y LA DETECCIÓN MOLECULAR DE
VIRUS DE PAPILOMA HUMANO EN LA DETECCIÓN DEL
CARCINOMA INVASOR DEL CUELLO UTERINO**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:
DRA. JUDITH LETICIA ACOSTA PIÑA**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**ASESOR DE TESIS:
DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE Y RENDÓN**

**NO. DE REGISTRO DE PROTOCOLO:
504.2019
CD. MX. 2022**



ISSSTE



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. ANDRÉS DAMIÁN NAVA CARRILLO
COORDINADOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DRA. ESTHER GUADALUPE GUEVARA SANGINÉS
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

DRA RUTH IXEL RIVAS BUCIO
JEFE DE INVESTIGACIÓN

DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE Y RENDÓN
PROFESOR TITULAR

DR. FERNANDO ENRIQUE DE LA TORRE Y RENDÓN
ASESOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. de la Torre, maestro de profesión, de vida y de perseverancia

A Noé, por el apoyo ininterrumpido durante estos años

A mi familia, motivo de inspiración

ÍNDICE:

1. RESUMEN	VI
2. SUMMARY	VII
3. ANTECEDENTES	IX
4. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	X
5. JUSTIFICACIÓN	XIII
6. HIPÓTESIS	XIV
7. OBJETIVOS	XIV
8. MATERIAL Y MÉTODOS	XVI
9. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	XVII
10. VARIABLES	XVIII
11. RESULTADOS	XX
12. DISCUSIÓN	XXIII
13. CONCLUSIONES	XXVII
14. BIBLIOGRAFÍA	XXIX
15. ANEXOS	XXXII

1. RESUMEN

La citología cervicovaginal es un método de tamizaje para detectar lesiones relacionadas con VPH, tiene alta especificidad, pero baja sensibilidad, algunos estudios han demostrado que las pruebas de ADN para el VPH son más sensibles que la citología cervical para la detección de neoplasias intraepiteliales y cáncer. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de la citología cervicovaginal y la detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800) en pacientes con cáncer cervicouterino invasor obtenidos del archivo del Servicio de Patología Quirúrgica del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos". Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, transversal y analítico. Se utilizaron las bases de datos de resultados de citología, PCR y quirúrgicos del 2012 al 2017. Se incluyeron todos los casos con reporte histopatológico de carcinoma invasor de cérvix en cualquiera de sus variantes histológicas que tengan prueba de PCR y que además cuenten con reporte de citología dentro de la base de datos de los servicios de Patología Quirúrgica, Citología y Biología Molecular, en el periodo comprendido del año 2012 al 2017. Los resultados mostraron que de 91 pacientes que tuvieron diagnóstico histológico de carcinoma invasor de cérvix, únicamente a 47 de ellas se les realizó estudio de RT-PCR. De estas los diagnósticos histológicos se distribuyeron así; carcinoma epidermoide invasor 28 (59.5%), adenocarcinoma 13 (27.6%) y carcinoma adenoescamoso 6 (12.8%). De las 47 pacientes que tuvieron resultado de PCR; 14 (29.79%) pacientes tuvieron resultado positivo para VPH 16, 6 (12.77%) para VPH 18, 6 (12.77%) para Pool de alto riesgo, 2 (4.26%) para pool de alto riesgo y VPH 16, y 19 (40.43%) obtuvieron un resultado negativo. Es decir, de las 47 pacientes, 28 (59.57%) tuvieron un resultado positivo de PCR y 19 (40.42%) negativo. En cuanto a los resultados de citología cervicovaginal convencional, de las 47 pacientes con prueba de PCR, 3 (6.38%) no tuvieron prueba de citología cervicovaginal. Las que obtuvieron un resultado de citología negativo (LEIBG, AGC, ASC-H y negativo) fueron 9 (19.14 %), insuficiente 2 (4.2%) y las que tuvieron un resultado citológico positivo (Carcinoma epidermoide invasor, adenocarcinoma y carcinoma adenoescamoso) fueron 33 (70.2%).

La sensibilidad de la prueba de RT-PCR fue de 59.5 %. La sensibilidad de la prueba de citología cervicovaginal convencional es de 78.57%. Si tomamos en cuenta a todas las pacientes con un resultado de citología cervicovaginal y diagnóstico histopatológico, sin importar si tuvieron o no resultado de PCR, (Tabla 3) podemos establecer que la sensibilidad general de la citología exfoliativa fue de 72.34% y la especificidad fue de 95.20%. El valor predictivo positivo de la citología es de 72.34% mientras que el valor predictivo negativo es de 95.62%.

En nuestro estudio encontramos que la sensibilidad de la prueba de citología cervicovaginal es superior a la de RT- PCR para la detección de carcinoma cervicouterino. La citología sigue siendo un estudio eficiente para la detección de lesiones malignas del cérvix. El estudio de RT- PCR COBAS ha demostrado una alta especificidad en pacientes con infección de VPH sin embargo concluimos que no se debería recomendar como sustituto de la citología cervicovaginal. En todo caso debería de realizarse un tamizaje conjunto para todas las pacientes que se realicen una citología cervicovaginal.

2. SUMMARY

Cervicovaginal cytology is a screening method to detect HPV-related lesions, it has high specificity, but low sensitivity, some studies have shown that HPV DNA tests are more sensitive than cervical cytology for the detection of intraepithelial neoplasias and cancer . The objective of this work was to evaluate the efficiency of cervicovaginal cytology and molecular detection of human papillomavirus by RT-PCR (COBAS 4800) in patients with invasive cervical cancer obtained from the file of the Surgical Pathology Service of the Regional Hospital "Lic. Adolfo López Mateos" An observational, retrospective, cross-sectional and analytical study was carried out. The databases of cytology, PCR and surgical results from 2012 to 2017 were used. All cases with a histopathological report of invasive carcinoma of the cervix in any of its histological variants that have a PCR test and that also have a report of

cytology within the database of the Surgical Pathology, Cytology and Molecular Biology services, in the period from 2012 to 2017. All cases with histopathological report of invasive carcinoma of the cervix in any of its histological variants that had a PCR test and that also had a cytology report within the database of the Surgical Pathology, Cytology and Molecular Biology services were included. in the period from 2012 to 2017. The results showed that of 91 patients who had a histological diagnosis of invasive carcinoma of the cervix, only 47 of them underwent an RT-PCR study. Of these, the histological diagnoses were distributed as follows; invasive epidermoid carcinoma 28 (59.5%), adenocarcinoma 13 (27.6%) and adenosquamous carcinoma 6 (12.8%). Of the 47 patients who had a PCR result; 14 (29.79%) patients had a positive result for HPV 16, 6 (12.77%) for HPV 18, 6 (12.77%) for High Risk Pool, 2 (4.26%) for High Risk Pool and HPV 16, and 19 (40.43%) obtained a negative result. That is, of the 47 patients, 28 (59.57%) had a positive PCR result and 19 (40.42%) negative. Regarding the results of conventional cervicovaginal cytology, of the 47 patients with a PCR test, 3 (6.38%) did not have a cervicovaginal cytology test. Those who obtained a negative cytology result (ESLG, AGC, ASC-H and negative) were 9 (19.14%), insufficient 2 (4.2%) and those who had a positive cytological result (Invasive epidermoid carcinoma, adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma) they were 33 (70.2%).

The sensitivity of the RT-PCR test was 59.5%. The sensitivity of the conventional cervicovaginal cytology test is 78.57%. If we take into account all the patients with a cervicovaginal cytology result and histopathological diagnosis, regardless of whether or not they had a PCR result, (Table 3) we can establish that the general sensitivity of exfoliative cytology was 72.34% and the specificity was of 95.20%. The positive predictive value of cytology is 72.34% while the negative predictive value is 95.62%.

In our study we found that the sensitivity of the Pap smear is higher than that of RT-PCR for the detection of malignant neoplasms of the cervix. Cytology continues to be an efficient study for the detection of malignant lesions of the cervix. The COBAS RT-PCR study has shown high specificity in patients with HPV infection; however, we conclude that it should not be recommended as

a substitute for cervicovaginal cytology. In any case, a joint screening should be carried out for all patients who undergo cervical-vaginal cytology.

3. ANTECEDENTES

El papel que juega el VPH en la patogénesis del cáncer cervicouterino ha sido ampliamente estudiado y es elemental. La relación entre el carcinoma cervicouterino y la presencia de VPH fue establecida desde 1983 por Herald zur Hausen premio Nobel de Medicina (2008) (6) quien además tipificó algunos genotipos de alto riesgo.

En los últimos 50 años la incidencia y la mortalidad del carcinoma cervicouterino ha disminuido considerablemente gracias a los programas de prevención secundaria como las pruebas de tamizaje y detección por medio de la citología cervicovaginal. Esta prueba, que se realiza mediante una tinción especial de Papanicolaou, es una de las pruebas más rentables y exitosas de la medicina preventiva. Sin embargo, los reportes en la literatura que evalúan la sensibilidad de la citología cervicovaginal son muy variados, van desde el 30 % hasta el 87 %, con un promedio de 50% (1). Aunque la citología cervicovaginal se considera un estudio con alta especificidad (2), han habido varios intentos para mejorar su sensibilidad, como por ejemplo la preparación de la muestra en base líquida o su implementación conjunta con otros métodos observacionales como la colposcopia e incluso junto con la detección del genoma del Virus de Papiloma Humano (VPH) mediante técnicas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) (3).

En el 2014, los Estados Unidos la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. (FDA) aprobó la implementación de pruebas de detección molecular del VPH como parte de los estudios rutinarios para la detección de carcinoma invasor de cérvix a partir de los 25 hasta los 65 años (3).

4. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El 24 de abril del 2014, la FDA aprobó una propuesta de Roche Molecular Systems, Inc. (Pleasanton, California) para la detección molecular del VPH por medio del sistema RT- PCR COBAS (5), como un método alternativo de tamizaje primario para mujeres mayores de 25 años. En 2015, las sociedades profesionales de EE. UU. respaldaron el uso de la detección primaria del VPH como una de las tres opciones primarias disponibles para la detección del cáncer de cuello uterino (5).

Se sugirió entonces, que las pruebas de detección de ADN para el VPH serían más eficientes en la prevención de enfermedades invasivas que la citología cervicovaginal convencional. En septiembre de 2017, el Grupo de trabajo de servicios preventivos de los Estados Unidos (USPSTF) presentó un borrador de directrices para la detección del cáncer de cuello uterino en los Estados Unidos que omitía la opción para la realización pruebas conjuntas de citología y VPH para mujeres de 30 a 65 años, además la detección de primaria de VPH se respaldó hacerse cada 5 años. (5)

Si bien, la prueba conjunta de citología y detección molecular de VPH sigue siendo la mejor estrategia para detectar lesiones cervicovaginales de alto grado (4), las disposiciones y guías que sugirieron a partir del 2015, fueron causa de diversos estudios que trataron de justificar diferentes perspectivas.

En un artículo *Warner K. Huh et. al.* concluyen que la detección molecular primaria de VPH de alto riesgo, se puede considerar como una alternativa para la detección del carcinoma cervicouterino frente a la citología cervicovaginal e inclusive frente a las pruebas conjuntas. (3)

En el primer estudio prospectivo de los Estados Unidos, ATHENA, se evaluó el rendimiento de la detección primaria de VPH. Los resultados determinaron que la detección primaria con pruebas moleculares para VPH en mujeres mayores de 25 años para la detección de NIC 3, es significativamente más sensible que la citología o los estudios conjuntos. (10)

Por otro lado, *Haijun Zhou et. al.* Mencionan que, en la práctica clínica, la prueba de detección molecular de VPH de alto riesgo por sí sola, no es significativamente superior a la citología cervicovaginal como método primario de detección de lesiones cervicouterinas. La tasa de falsos negativos de la prueba de detección molecular de VPH de alto riesgo para detectar lesiones cervicovaginales de alto grado confirmadas por biopsia es comparable a la tasa de la prueba de citología cervicovaginal. (4).

En otro estudio con 256,648 pacientes, *Blatt AJ et. al.*, concluyen que la prueba conjunta de citología cervicovaginal en combinación con la detección molecular de VPH, es más sensible para la detección de Neoplasia Intraepitelial de Alto Grado (NIC-3), en mujeres de 30 a 65 años, en comparación al uso exclusivo de la detección molecular de VPH. El 19 % de las mujeres con carcinoma cervicouterino pueden recibir un falso negativo si únicamente se realizan la prueba de detección molecular de VPH. (7)

Finalmente, un estudio en Finlandia concluye que la sensibilidad de la prueba de detección molecular de VPH fue similar a la de la prueba de Papanicolaou, pero causó más sobre diagnóstico. Por lo tanto, este estudio sugiere que se debe reconsiderar la implementación de la prueba molecular de VPH si hay programas de detección bien organizados. (9)

En 2014 la FDA aprobó el sistema RT- PCR COBAS 4800, de ROCHE, el cual menciona en su ficha técnica que es un sistema de tecnología avanzada de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para amplificación y detección.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) considera en su resumen de VPH disponibles, que:

“El sistema Cobas 4800 es una prueba cualitativa in vitro que detecta 14 tipos de VPH de alto riesgo y que ha sido validada clínicamente. Puede detectar 12 genotipos de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68), y reporta específicamente los genotipos de alto riesgo 16 y 18.

La técnica utiliza el gen de β globina como control interno para la integridad, extracción y amplificación de la muestra. Esta prueba fue aprobada por la FDA para tamizaje primario. El equipo está totalmente automatizado, facilitando el flujo de trabajo del laboratorio; consta de un termociclador Cobas Z y el software necesario para la realización de la PCR en tiempo real, usando primers, o cebos, para la región L1 del VPH.

El procedimiento incluye el procesamiento de muestras de extracción de ADN y el análisis por la tecnología de PCR en tiempo real. La técnica no presenta reactividad cruzada con genotipos no carcinogénicos. Además, es mínimo el contacto que el profesional tiene con la muestra, evitando así posibles contaminaciones. Este equipo puede realizar 96 pruebas en aproximadamente 5 horas.

Las ventajas de este equipo son: reducción del tiempo de procesamiento y de trabajo; reducción de los movimientos repetitivos; reducción del riesgo de los errores debidos a la fatiga; reducción de la producción de residuos de riesgo biológico; y reducción de los costos al eliminar la necesidad de reactivos adicionales.

Entre las limitaciones indicadas por el fabricante se encuentra que la prueba debe realizarla personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y en la utilización del sistema Cobas 4800. Además, solamente el equipo Cobas x 480 y el analizador Cobas z 480 se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto. La presencia de inhibidores de la PCR puede dar lugar a resultados de falsos negativos o resultados no válidos, al igual que el bajo número de copias del virus en la muestra.”

5. JUSTIFICACIÓN

Este sistema de RT-PCR (Cobas 4800) de Roche se presumió eficaz para la mayor protección contra cáncer invasor en comparación con la citología (5). Otros autores atribuyen un bajo desempeño de la prueba de RT-PCR (COBAS 4800) para detectar el carcinoma invasor, esto debido a que el tipo de región genómica detectada se pierde durante el proceso de oncogénesis. Sin embargo, la detección de lesiones pre malignas es superior a la de cualquier otra prueba, incluyendo la citología. *Warner K. Huh et. al.* mencionan que la genotipificación del VPH de alto riesgo en pacientes positivas, logra un equilibrio razonable entre la detección de la enfermedad y la cantidad de pruebas de citología y colposcopias necesarias para lograr esa detección.(3) Sin embargo no consideran la posibilidad de que la detección molecular de VPH por medio de RT- PCR también obedece a fenómenos intrínsecos de los propios instrumentos y que la biotecnología que se implementa en las distintas marcas comerciales de dichos instrumentos afecta el resultado de sensibilidad y especificidad.

Un estudio en China que evaluó el rendimiento de la prueba de RT-PCR (Cobas 4800) de Roche en comparación con la prueba de ADN para VPH de alto riesgo Digene Hybrid Capture 2 (HC2) demostró que la prueba RT-PCR (Cobas 4800) presenta una especificidad significativamente mayor en la identificación de casos de NIC 2 y NIC 3 que la prueba HC2 con una sensibilidad comparable de ambas pruebas en la evaluación clínica. Además, en este estudio se demostró que la detección molecular de VPH de alto riesgo en conjunto con la citología cervicovaginal, es más eficaz para diagnosticar NIC2 que la citología sola. (11)

En el 2012, el Servicio de Patología Quirúrgica y Laboratorio de Biología Molecular del Hospital Regional “Lic. Adolfo López Mateos” implementó la técnica para detección molecular de virus de VPH por RT-PCR (COBAS 4800) para pacientes a las que también se les realiza citología exfoliativa y biopsia cervical. Se detectan 14 tipos de VPH en un único estudio, 12 tipos de alto riesgo: que identificamos en conjunto como POOL (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, and 68) y por separado VPH 16 y VPH 18. En la ciudad de México hay pocos centros hospitalarios que cuentan con detección

molecular de genotipos de VPH, por lo que es de gran interés poder evaluar la eficiencia y utilidad de la detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800) y su impacto en el diagnóstico de cáncer cervicouterino invasor.

En el presente estudio se evaluará la eficiencia de la citología cervicovaginal y la detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800) en pacientes con cáncer cervicouterino invasor diagnosticadas por biopsia de cérvix.

6. HIPÓTESIS

Debido a la relación causal que existe entre la infección por Virus de Papiloma Humano y la presencia de lesiones pre malignas y malignas cervicovaginales, así como la alta eficacia que se reporta en la literatura de la prueba de RT-PCR (Cobas 4800) de Roche para la detección de genoma de VPH, consideramos que la detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800) de Roche, deberá de ser positiva para al menos algún genotipo de alto riesgo en todas las pacientes con cáncer cervicouterino invasor con diagnóstico por biopsia.

7. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es comparar la eficiencia de la citología cervicovaginal y la detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800) en pacientes con cáncer cervicouterino invasor obtenidos del archivo del Servicio de Patología Quirúrgica del Hospital Regional “Lic. Adolfo López Mateos”

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Determinar la prevalencia de genotipos de alto riesgo del virus de papiloma humano, en casos de pacientes con reporte histopatológico de cáncer cervicouterino invasor.

Determinar la prevalencia de los genotipos 16 y 18 del virus de papiloma humano, en casos de pacientes con reporte histopatológico de cáncer cervicouterino invasor.

Valorar el resultado de citología en casos de pacientes con reporte histopatológico de cáncer cervicouterino invasor que cuenten con detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800).

Determinar la sensibilidad de la detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800) en pacientes con cáncer cervicouterino invasor.

Determinar la sensibilidad y especificidad de la citología exfoliativa para la detección de pacientes con cáncer cervicouterino invasor.

Comparar los resultados de la detección molecular de virus de papiloma humano por RT-PCR (COBAS 4800) y los resultados de la citología en pacientes con cáncer cervicouterino invasor.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo, transversal, observacional y descriptivo. El tipo de estudio fue de cohorte retrospectiva o de descripción de casos. Se revisó la base de datos de los servicios de Patología Quirúrgica, Citología y Biología Molecular, en el periodo comprendido del año 2012 al 2017. Se recolectaron los casos con los diagnósticos de citología cervicovaginal, los resultados de la prueba de RT-PCR (Cobas 4800) de Roche para VPH y los diagnósticos histopatológicos en las pacientes a las que se realizó biopsia. El análisis realizado midió la sensibilidad y especificidad de las pruebas.

Para poder realizar los estudios histopatológicos de las biopsias de cérvix, primeramente, se requiere que un médico ginecólogo examine el cuello uterino de cada paciente con un colposcopio para detectar áreas anormales. Se utilizan unas pinzas de biopsia para extirpar una pequeña sección (de aproximadamente 5 mm) del área anormal en la superficie del cuello uterino. El procedimiento de toma de biopsia puede causar dolor, dolor de breve duración y un ligero sangrado posteriormente. La muestra obtenida se fija en formol al 10%, y se somete a la técnica histológica la cual consiste en varios pasos de los cuales se obtiene una laminilla con un corte histológico de 5 micras el cual se tiñe con la tinción de rutina de Hematoxilina y Eosina. Una vez obtenidos los cortes se pueden observar en un microscopio.

El estudio de citología cervicovaginal es un procedimiento sistematizado y guiado clínicamente para obtener el material celular suficiente y representativo para ser evaluado por un observador experimentado (citotecnólogo, citólogo o patólogo) (12). Las muestras para detección deben ser tomadas por personal adiestrado con ese fin. Una muestra adecuada para un examen citológico requiere la visión directa del cuello a través de un espéculo vaginal. La muestra debe consistir en células obtenidas al raspar la circunferencia de la unión escamo columnar del cérvix. Una vez obtenido el material celular se realiza un extendido fino de este en forma longitudinal sobre una laminilla identificada, las laminillas deben fijarse lo más pronto posible. (13)

La prueba de detección molecular de VPH se realiza mediante la toma de material celular obtenido de la circunferencia de la unión escamo columnar del cérvix. El procedimiento es semejante a la toma de muestra para la citología exfoliativa o de base líquida, se utiliza un dispositivo especial, la brocha endocervical la cual se sumerge en un vial que preserva las células obtenida, posteriormente se utiliza el equipo RT-PCR (COBAS 2800) de Roche que es una prueba cualitativa que detecta VPH mediante la amplificación del ADN por PCR y la hibridación de ácidos nucleicos. Se realiza la genotipificación de 14 tipos de VPH en un único estudio, 12 tipos de alto riesgo: que identificamos en conjunto como POOL (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, and 68) y por separado VPH 16 y VPH 18.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se utilizaron las bases de datos de resultados de citología, PCR y quirúrgicos del 2012 al 2017. El total de pacientes con diagnóstico histopatológico positivo para carcinoma invasor de cérvix fue de 93 casos.

9. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los casos con reporte histopatológico de carcinoma invasor de cérvix en cualquiera de sus variantes histológicas que tengan prueba de PCR y que además cuenten con reporte de citología dentro de la base de datos de los servicios de Patología Quirúrgica, Citología y Biología Molecular, en el periodo comprendido del año 2012 al 2017.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Casos con reporte histopatológico de carcinoma invasor de cérvix que no cuenten con detección molecular de VPH con prueba de PCR.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Casos con reporte histopatológico de carcinoma invasor de cérvix que cuenten con detección molecular de VPH pero que no tengan reporte de citología.

10. VARIABLES

DEFINICIÓN DE VARIABLES Y UNIDADES DE MEDIDA

Variable	Independiente o dependiente	Tipo de variable Nominal/ordinal/dimensional	Unidad de medición	Instrumento de medición	Momento de medición
Clase diagnóstica de citología exfoliativa	Independiente	Cualitativa Nominal		Evaluación citológica	Evaluación citológica
Tipo histológico de carcinoma invasor	Independiente	Cualitativa Nominal		Evaluación histopatológica	Evaluación histopatológica
Presencia de VPH (POOL / 16 y 18)	Dependiente	Cualitativa Nominal dicotómica	positivo/negativo	Estudio molecular por PCR	Inicio de recopilación de datos

Los resultados del estudio histopatológico que se consideran para este estudio se dividen en:

- Carcinoma invasor poco diferenciado
- Carcinoma epidermoide y adenoescamoso
- Adenocarcinoma

Los resultados del estudio de citología cervicovaginal que se consideran para este estudio se dividen en:

- Carcinoma epidermoide
- Carcinoma adenoescamoso
- Carcinoma poco diferenciado
- Adenocarcinoma
- Adenocarcinoma IN SITU
- ASC-H
- AGC
- LIEBG
- Material insuficiente
- Negativo

11. RESULTADOS

Se utilizaron las bases de datos de resultados de citología, PCR y quirúrgicos del 2012 al 2017. El total de pacientes con diagnóstico histopatológico positivo para carcinoma invasor de cérvix fue de 91 casos.

Los resultados mostraron que de 91 pacientes que tuvieron diagnóstico histológico de carcinoma invasor de cérvix, únicamente a 47 de ellas se les realizó estudio de RT-PCR. De estas los diagnósticos histológicos se distribuyeron así; carcinoma epidermoide invasor 28 (59.5%), adenocarcinoma 13 (27.6%) y carcinoma adenoescamoso 6 (12.8%). (Tabla 1)

Tabla 1. **DISTRIBUCIÓN DE CASOS DE CARCINOMA INVASOR CON ESTUDIO DE PCR POR TIPO HISTOLÓGICO**

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	Frecuencia en números absolutos	Frecuencia porcentual
Epidermoide	28	59,6
Adenocarcinoma	13	27,7
Adenoescamoso	6	12,8
Total de casos de carcinoma invasor con resultado de PCR	47	100,0

De las 47 pacientes que tuvieron resultado de PCR; 14 (29.79%) pacientes tuvieron resultado positivo para VPH 16, 6 (12.77%) para VPH 18, 6 (12.77%) para Pool de alto riesgo, 2 (4.26%) para pool de alto riesgo y VPH 16, y 19 (40.43%) obtuvieron un resultado negativo. Es decir, de las 47 pacientes, 28 (59.57%) tuvieron un resultado positivo de PCR y 19 (40.42%) negativo. (Tabla 2)

Tabla 2. DISTRIBUCIÓN DE CASOS POR RESULTADO DE PCR PARA VPH EN 47 CASOS DE CARCINOMA CERVICOUTERINO

RESULTADOS DE PCR	Frecuencia en números absolutos	Frecuencia porcentual
Positivos a Genotipo 16	14	29,8
Positivos a Genotipo 18	6	12,8
Positivo a pool	6	12,8
Positivo a pool y genotipo 16	2	4,3
Negativos	19	40,4
Total de casos de carcinoma invasor con resultado de PCR	47	100,0

En cuanto a los resultados de citología cervicovaginal convencional, de las 47 pacientes con prueba de PCR, 3 (6.38%) no tuvieron prueba de citología cervicovaginal. Las que obtuvieron un resultado de citología negativo (LEIBG, LEIAG, AGC, ASC-H y negativo) fueron 10 (21.27 %), insuficiente 2 (4.2%) y las que tuvieron un resultado citológico positivo (Carcinoma epidermoide invasor, adenocarcinoma y carcinoma adenoescamoso) fueron 32 (68.0%). (Tabla 3)

Tabla 3. DISTRIBUCIÓN DE CASOS POR DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO EN 47 CASOS DE CARCINOMA CERVICOUTERINO CON ESTUDIO DE PCR

DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO	Frecuencia en números absolutos	Frecuencia porcentual
Carcinoma epidermoide invasor	23	48,9
Adenocarcinoma	8	17,0
Carcinoma adenoescamoso	1	2,1
LEIAG	1	2,1
LIEBG	1	2,1
AGC	2	4,3
ASC-H	1	2,1
Negativo	5	10,6
Insuficiente	2	4,3
Sin resultado citológico	3	6,4
Total de casos de carcinoma invasor con resultado de PCR	47	100,0

Si conjuntamente evaluamos los resultados de citología cervicovaginal convencional y de RT- PCR (Cobas 4800), encontramos de las 47 pacientes con carcinoma cervicovaginal, los casos que obtuvieron ambos resultados positivos fueron 22 (46.8%), los que obtuvieron ambos resultados negativos fueron 6 (12.7%), los que obtuvieron alguno de los dos negativo fueron 14 (29.7%), 3 (6.38%) no tuvieron prueba de citología cervicovaginal, los 2 casos con reporte de citología cervicovaginal insuficiente (4.2%) fueron negativos para PCR. (Tabla 4)

Tabla 4. DISTRIBUCIÓN DE CASOS POR DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO Y RESULTADO DE PCR PARA VPH EN 47 CASOS DE CARCINOMA CERVICOUTERINO

47 Casos de carcinoma cervicouterino	Frecuencia en números absolutos	Frecuencia porcentual
Diagnóstico Citológico y PCR Positivos	22	46,8
Diagnóstico Citológico Negativo y PCR Positivos	3	6,3
Diagnóstico Citológico Positivo y PCR Negativo	11	23,4
Diagnóstico Citológico y PCR Negativos	6	12,7
Diagnóstico Citológico de Insuficiente con PCR Negativo	2	4,2
Sin Registro de diagnóstico Citológico	3	6,3

12. DISCUSIÓN

Con los resultados obtenidos podemos realizar tablas para determinar la sensibilidad de cada tipo de estudio y también el porcentaje de falsos negativos que originó cada uno.

En el caso de la especificidad solo pudimos obtener el resultado de la citología cervicovaginal de manera general, ya que en el caso específico de la prueba molecular de PH RT-PCR (Cobas) de Roche, no es lógico incluirlo en este estudio ya que se estudiaron pacientes con carcinoma invasor de cérvix y no pacientes sanas. Además, las pacientes con PCR positivo que no fueran positivas a carcinoma cervicouterino en el estudio histopatológico, pueden ser portadoras de lesiones precursoras de malignidad, lesiones de bajo grado, o inclusive ser sanas a pesar de tener la infección latente. Esto

resulta un problema ya que se podría interpretarse como un sobre diagnóstico para un estudio de este tipo. Sin embargo, en la práctica clínica, el saber que hay pacientes positivas a VPH de alto riesgo, que aún no han presentado una lesión del epitelio cervicovaginal es de gran utilidad, ya que se pueden identificar pacientes que probablemente van a desarrollar lesiones cervicovaginales en un futuro. Esto puede mejorar la pesquisa y detección oportuna mediante el seguimiento con citología cervicovaginal.

En el caso de la sensibilidad de la prueba de RT-PCR (Cobas 4800) de Roche fue de 59.5 %. El porcentaje de falsos negativos que obtuvo prueba de RT-PCR (Cobas 4800) de Roche fue de 40.4 %. (Tabla 5)

La sensibilidad de la prueba de citología cervicovaginal convencional fue de 76.1%. No se incluyeron los resultados insuficientes. El porcentaje de falsos negativos que obtuvo la citología cervicovaginal fue de 23.8%. (Tabla 6).

Si comparamos la sensibilidad de la prueba de RT-PCR (Cobas 4800) de Roche y la de la prueba de citología cervicovaginal podemos observar que la citología es mucho más sensible para detectar pacientes con carcinoma cervicouterino que la prueba de PCR por sí sola. Además, el porcentaje de falsos negativos es mayor en la prueba de RT- PCR (Cobas 4800) que en la citología cervicovaginal.

Al analizar conjuntamente la sensibilidad de la citología cervicovaginal y la detección molecular de VPH RT- PCR (Cobas 4800), es decir, si analizamos casos con carcinoma cervicouterino que tuvieron acceso a ambas pruebas y se observan conjuntamente encontramos que la sensibilidad total aumenta hasta un 85.7 % con un porcentaje de falsos negativos del 14.2 %. (Tabla 7). Estos resultados superan por mucho la sensibilidad de ambos estudios de manera aislada. También es notable como el porcentaje de falsos negativos disminuye. Para obtener la sensibilidad conjunta se eliminaron casos sin estudio de citología cervicovaginal. Por otro lado, es notable que los dos casos con reporte citológico de “insuficiente” también fueron negativos para la prueba de RT-PCR, lo que podría sugerir que probablemente la calidad de la toma del material citológico para el estudio de ambas pruebas influye en

los resultados por lo que no se tomaron en cuenta para estimar los falsos negativos.

Si tomamos en cuenta a todas las pacientes con un resultado de citología cervicovaginal y diagnóstico histopatológico de carcinoma cervicouterino, sin importar si tuvieron o no resultado de PCR, (Tabla 8) podemos establecer que la sensibilidad general de la citología exfoliativa fue de 72.34% y la especificidad fue de 95.20%. El valor predictivo positivo de la citología es de 72.34% mientras que el valor predictivo negativo es de 95.62%.

Comparativamente, la sensibilidad de la citología cervicovaginal para detectar carcinoma cervicouterino en el grupo que tuvo resultado de RT-PCR (76.1%) fue levemente mayor que en la población en general (72.34%). Esto podría deberse al tamaño heterogéneo de ambos grupos, sin embargo, se demuestra que la sensibilidad de la citología cervicovaginal es persistente en cuanto a los resultados del Laboratorio de citología del Hospital Regional “Licenciado Adolfo López Mateos”

Tabla 5. Sensibilidad de RT-PCR (Cobas 4800) para casos de carcinoma cervicouterino

Casos de Carcinoma cervicouterino con resultado de PCR	Total: 47
PCR +	28
PCR -	19

Tabla 6. Sensibilidad de la citología cervicovaginal para casos de carcinoma cervicouterino

Casos de carcinoma cervicouterino con resultado de citología (y resultado PCR)	Total: 42
Citología positiva	32
Citología negativa	10

Tabla 7. Sensibilidad de la citología cervicovaginal en combinación con la detección de VPH por RT-PCR (Cobas 4800) en casos de carcinoma cervicouterino

Casos con resultados de citología cervicovaginal y RT- PCR	Total: 42
Ambos estudios positivos	22
Alguno de los dos es positivo	14
Ambos estudios negativos	6

Tabla 8. Tabla de resultados general para citología cervicovaginal (sin importar estudio PCR)

Casos con resultado histopatológico negativo	Total: 275
Citología positiva	13
Citología negativa	262

Casos con resultado histopatológico positivos carcinoma invasor (Con o sin PCR)	Total: 50
Citología positiva	34
Citología negativa	13
Citología insuficiente o inadecuada	3

13. CONCLUSIONES

La prueba de Papanicolaou es una de las pruebas más rentables y exitosas en la medicina preventiva. Se ha sugerido que las pruebas de detección de ADN para el VPH por medio de estudios de PCR serían más eficientes en la prevención secundaria de enfermedades invasivas que la propia citología cervicovaginal. En 2014, la FDA aprobó la prueba de PCR con el sistema COBAS como un método alternativo de tamizaje primario para mujeres mayores de 25 años. Concluyen que la detección primaria de VPH ofrece una mayor protección contra cáncer invasor en comparación con la citología. Otros autores atribuyen un bajo desempeño de la prueba de RT-PCR del COBAS 4800 para detectar el carcinoma invasor de cérvix, debido a que el tipo de región genómica detectada, se pierde durante el proceso de

oncogénesis. Sin embargo, la detección de lesiones pre malignas es superior al de cualquier otra prueba, incluyendo la citología.

En nuestro estudio encontramos que en el Hospital Regional "Licenciado Adolfo López Mateos", la sensibilidad de la prueba de citología cervicovaginal (76.1%), fue superior a la sensibilidad que presentó la prueba de detección molecular de VPH RT-PCR (Cobas 4800) de Roche para la detección de carcinoma cervicouterino (59.5 %). Cuando evaluamos conjuntamente la sensibilidad de ambos estudios observamos que la sensibilidad para la detección de carcinoma cervicouterino se eleva hasta un 85.7 %. Cabe resaltar que este estudio solamente consideró las lesiones invasoras.

Estos resultados son de relevancia tanto para el ISSSTE como para los derechohabientes y la población en general, ya que con los datos obtenidos de este estudio concluimos que la citología cervicovaginal sigue, y seguirá siendo un estudio eficiente para la detección de lesiones malignas del cérvix. La implementación de nuevas técnicas moleculares como la genotipificación de VPH mediante RT-PCR (Cobas 4800) puede abrir nuevas oportunidades diagnósticas si se practican de manera conjunta a los estudios de rutina como herramientas que se coadyuvan y nunca como estudios aislados de tamizaje para la prevención primaria o secundaria. Como lo hemos explicado antes la evaluación aislada de la prueba de detección molecular de VPH mediante RT-PCR (Cobas 4800) presentó una sensibilidad mucho menor que la citología cervicovaginal para la detección de carcinomas invasores de cérvix, por lo que no se debería utilizar como sustituto de la citología cervicovaginal.

En conclusión, en nuestra institución y en la población en general, se debería continuar con el tamizaje de carcinoma cervicouterino mediante la citología cervicovaginal y de ser posible sugerimos que se prefiera realizar un tamizaje conjunto con estudios de detección molecular para VPH, ya que hemos demostrado que el uso de ambos estudios eleva la sensibilidad de la detección de carcinoma cervicouterino.

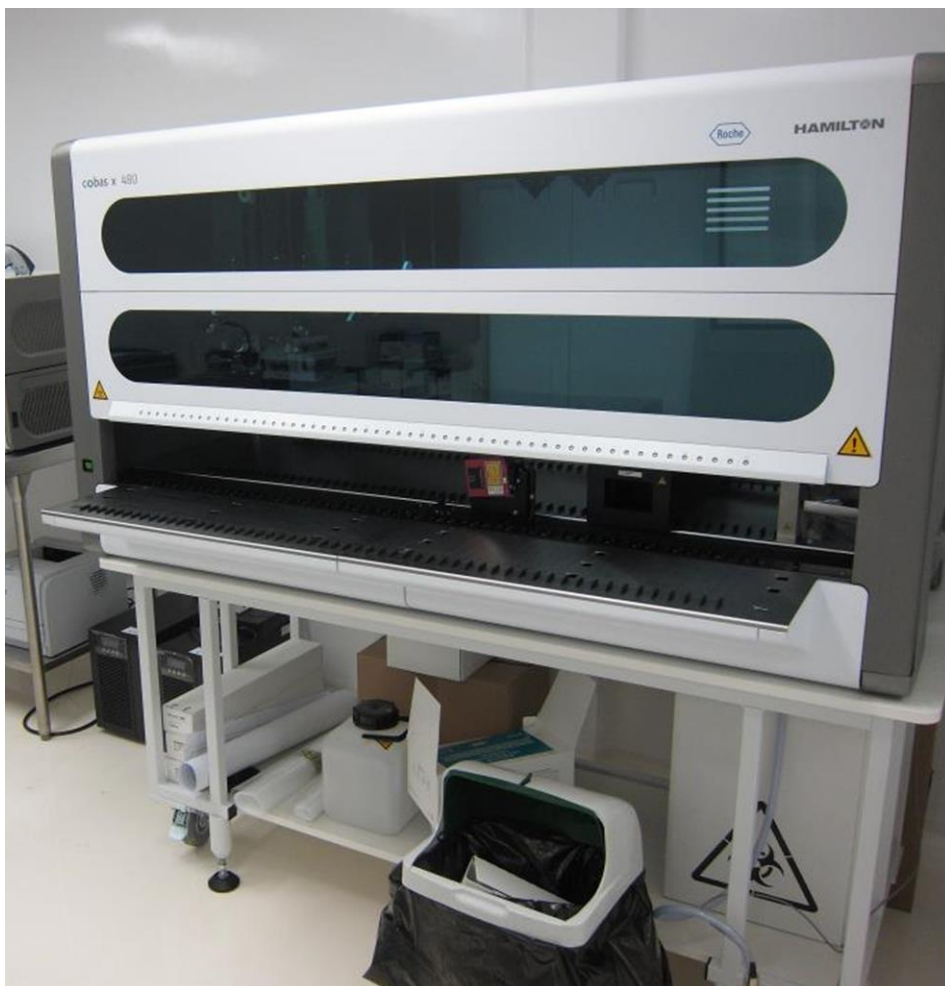
14. BIBLIOGRAFÍA

1. Cortinas P; Rios K y Sanchez L, J. Citología cervical como pesquisa: Factores para mejorar la sensibilidad. *Gac Méd Caracas*. 2008, vol.116, n.1, pp.37-40. ISSN 0367-4762.
2. Cabrera J. Evaluación de citología cervicovaginal y la colposcopia, como método de detección de la neoplasia intraepitelial cervical. *Rev Per Ginecol Obstet*. 2003 Sep.; 49 (3): 155-159
3. Huh WK, Ault KA, Chelmow D, Davey DD, Goulart RA, García FA, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: Interim clinical guidance. *Gynecologic Oncology*. 2015;136(2):178-82. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.12.022
4. Zhou H, Mody RR, Luna E, Armylagos D, Xu J, Schwartz MR, Mody DR, Ge Y. Clinical performance of the Food and Drug Administration-Approved high-risk HPV test for the detection of high-grade cervicovaginal lesions. *Cancer Cytopathol*. 2016 May;124(5):317-23. doi: 10.1002/cncy.21687. Epub 2016 Jan 15. PMID: 26774025.
5. NAYAR, Ritu; GOULART, Robert A.; DAVEY, Diane D. Primary HPV cervical cancer screening in the United States: Are we ready?. *Journal of the American Society of Cytopathology*, 2018, vol. 7, no 1, p. 50-55.
6. Ochoa FJ. Virus del papiloma humano. Desde su descubrimiento hasta el desarrollo de una vacuna. Parte I/III. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2014;13(5):308-315
7. Blatt AJ, Kennedy R, Luff RD, Austin RM, Rabin DS. Comparison of cervical cancer screening results among 256,648 women in multiple clinical practices. *Cancer Cytopathol*. 2015 May;123(5):282-8. doi: 10.1002/cncy.21544. Epub 2015 Apr 10. Erratum in: *Cancer Cytopathol*. 2016 May;124(5):362-3. PMID: 25864682; PMCID: PMC4654274.
8. Malila N, Leinonen M, Kotaniemi-Talonen L, Laurila P, Tarkkanen J, Hakama M. The HPV test has similar sensitivity but more overdiagnosis than the Pap test--a randomised health services study on cervical cancer screening in Finland. *Int J Cancer*. 2013 May 1;132(9):2141-7. doi: 10.1002/ijc.27850. Epub 2012 Oct 12. PMID: 22987601.
9. Anttila A, Kotaniemi-Talonen L, Leinonen M, Hakama M, Laurila P, Tarkkanen J, Malila N, Nieminen P. Rate of cervical cancer, severe intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma in situ in primary HPV DNA

- screening with cytology triage: randomised study within organised screening programme. *BMJ*. 2010 Apr 27;340:c1804. doi: 10.1136/bmj.c1804. PMID: 20423964; PMCID: PMC3191726.
10. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol*. 2015 Feb;136(2):189-97. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.11.076. Epub 2015 Jan 8. PMID: 25579108.
 11. Liu SS, Chan KKL, Wei TN, Tse KY, Ngu SF, et al. (2022) Clinical performance of the Roche Cobas 4800 HPV test for primary cervical cancer screening in a Chinese population.
 12. Loustalot M, Espinosa R, Blas I, Vite G. Manual de Procedimientos para la Toma de la Muestra de Citología Cervical. Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva, 1 ed 2006
 13. Organización Panamericana de la Salud, Manual de procedimientos para el control del cáncer de cuello uterino. Serie PALTEX para ejecutores de programas de salud no.6 (1990)
 14. The Bethesda System for reporting cervical cytological diagnoses. National Cancer Institute Workshop. *JAMA*. 1994
 15. Smith J, Lindsay L, Hoots B, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer*. 2007; 121:621-632.
 16. Haijun Zhou, Roxanne R. Mody, et al. Clinical Performance of the Food and Drug Administration–Approved High-Risk HPV Test for the Detection of High-Grade Cervicovaginal Lesions. *Cancer Cytopathology* . 2016 (12)
 17. Regauer S, Reich O, Kashofer K. HPV-negative Squamous Cell Carcinomas of the Cervix With Special Focus on Intraepithelial Precursor Lesions. *Am J Surg Pathol*. 2022 Feb 1;46(2):147-158.
 18. Regauer S, Reich O, Kashofer K. HPV-negative Squamous Cell Carcinomas of the Cervix With Special Focus on Intraepithelial Precursor Lesions. *Am J Surg Pathol*. 2022 Feb 1;46(2):147-158.
 19. Regauer S, Reich O, Kashofer K. HPV-negative Squamous Cell Carcinomas of the Cervix With Special Focus on Intraepithelial Precursor Lesions. *Am J Surg Pathol*. 2022 Feb 1;46(2):147-158.
 20. Petry KU, Cox JT, Johnson K, Quint W, Ridder R, Sideri M, Wright TC Jr, Behrens CM. Evaluating HPV-negative CIN2+ in the ATHENA trial. *Int J*

Cancer. 2016 Jun 15;138(12):2932-9. doi: 10.1002/ijc.30032. Epub 2016
Mar 2. PMID: 26851121; PMCID: PMC5069615.

15. ANEXOS



Equipo RT- PCR Cobas (4800) de Roche en el Hospital Regional
"Licenciado Adolfo López Mateos"