



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Editorial

Diagnóstico molecular del papilomavirus humano: nuevos desafíos en un escenario diferente

Molecular diagnosis of human papillomavirus: new challenges in a different scenario

Manuel Rodríguez-Iglesias

Unidad de Gestión Clínica de Microbiología, Hospital Universitario Puerta del Mar, Universidad de Cádiz, Cádiz, España

El cáncer cervical invasivo de la mujer es causado por el papilomavirus humano (VPH). El ADN del VPH es detectable en más del 95% de los casos; los genotipos 16 y 18 son responsables de más del 70% del cáncer cervical, y junto con el genotipo 45 contribuyen al 94% del adenocarcinoma de cérvix¹. Con un número estimado de 529.800 casos nuevos y 275.100 muertes por cáncer cervical en 2008, se sitúa en la tercera y cuarta posiciones en cuanto a incidencia y mortalidad por cáncer de la mujer en el mundo, teniendo en cuenta que el 85% de los casos se producen en los países menos desarrollados, con tasas de incidencia y mortalidad del 17,8 y del 9,8%, respectivamente, comparadas con los países desarrollados, en los que se reduce al 9,0 y al 3,2%², consecuencia de los programas de prevención de cáncer cervical ampliamente desarrollados en estos.

Aunque, la citología cervical o test de Papanicolaou ha contribuido a reducir las tasas de incidencia y mortalidad, existe una evidencia demostrada de que la incorporación del diagnóstico del virus aporta una sensibilidad analítica muy superior a la citología y es imprescindible su inclusión en los algoritmos diagnósticos³. En los programas de prevención y tratamiento del cáncer cervical intervienen, además de la citología y la detección de VPH, otras herramientas diagnósticas como la colposcopia, la categorización histológica y el uso de nuevos biomarcadores, y la correcta estratificación del riesgo es el parámetro que debe ser utilizado para elegir los procedimientos adecuados en las distintas fases del proceso: cribado, diagnóstico y tratamiento.

El cribado, definido como la actividad preventiva que permite diagnosticar la enfermedad en población a priori sana, debe tener como diana la detección de una neoplasia cervical intraepitelial de grado 3 (CIN3) o, siendo aun más estrictos CIN2, estadios histológicos de la enfermedad que son aún prevenibles. El cribado mediante una citología cervical solo detecta el 50-60% de los casos de CIN3, lo que obliga a revisiones citológicas muy cercanas en el tiempo. La detección del ADN del VPH en células exfoliadas tiene una sensibilidad analítica muy superior, por encima del 90%, pero la especificidad clínica es baja, ya que el diagnóstico del virus no predice su persistencia, causa necesaria para el desarrollo del cáncer.

Esta limitación se acentúa en mujeres jóvenes con muchas posibilidades de adquirir una infección por VPH autolimitada. Sin embargo, el valor predictivo negativo del test de VPH es muy alto y permitiría, en las pacientes libres del virus, distanciar el seguimiento en varios años. La utilización de ambas técnicas simultáneamente (citología + VPH), como se ha realizado en algún ensayo de cohortes (Kaiser Permanent Northern California), permite aumentar los intervalos de control a 3 años con buenos resultados.

Es posible reducir costes al utilizar una técnica seguida de otra en función de los resultados de la primera. La citología seguida del test de VPH ha sido muy empleada pero tiene los problemas ya comentados de la baja sensibilidad de la citología, y el cribado en citologías dudosas (ASCUS) o con lesiones de bajo riesgo (LSIL) puede conducir a tests de VPH positivos de incierto significado clínico. Actualmente hay propuestas de realizar la detección de VPH seguida de citología, que presenta los mejores resultados de sensibilidad clínica, disminuyendo costes al distanciar el control en las mujeres negativas, pero también los puede aumentar si se realiza en población con alta incidencia de infección, como en las mujeres jóvenes⁴. De ahí que diversos programas establezcan edades superiores a 30-35 años para una relación coste-eficacia adecuada. Queda por definir la utilidad de combinar el cribado de VPH combinado con la utilización de nuevos biomarcadores como la detección de ARNm de VPH, p16-INK y otros marcadores histológicos de progresión (Ki-67, MCM2 y TOP2a).

En este escenario se ha multiplicado la oferta de métodos y tecnologías para el diagnóstico de VPH en muestras clínicas, ya sean células exfoliadas o biopsias, incluso parafinadas. Los procedimientos de extracción de los ácidos nucleicos, los métodos de detección del genoma vírico y la automatización necesaria para una determinación que se consolida como rutinaria en los laboratorios han adquirido niveles elevados de complejidad para la elección del más adecuado. Los tests comerciales disponibles pueden ser sistematizados en 5 grupos⁵: 1) ensayos de cribados basados en la detección de ADN de VPH de alto riesgo, en donde se incluyen la captura de híbrido como método de referencia, debido a la enorme experiencia adquirida en múltiples estudios previos, el uso de amplificación con sondas *invader* y los procedimientos de PCR; 2) ensayos similares de cribado para la detección de ADN de VPH de alto riesgo con determinaciones concurrentes o reflejas de los genotipos VPH-16

Correo electrónico: manuel.rodriguez Iglesias@uca.es

y VPH-18, genotipos cuya infección supone un riesgo de desarrollar cáncer muy superior a otros genotipos; 3) ensayos de genotipado basados en PCR del VPH mediante diversas tecnologías: hibridación reversa, microarray, array en suspensión y RFLP, a las que se une la pirosecuenciación y otros métodos de secuenciación masiva una vez que la tecnología se difunda en los laboratorios; 4) ensayos de cribado basados en la cuantificación de la expresión del ARNm de E6/E7 de los VPH de alto riesgo, con el valor añadido que supone su utilidad como marcador de progresión, y 5) hibridación in situ, disponible pero con limitaciones debido a su menor sensibilidad.

En este número de *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, Martró et al.⁶ comparan dos técnicas de genotipado de VPH en muestras parafinadas de 78 casos de carcinoma cervical invasivo. Una de ellas, Inno-Lipa HPV, ha sido ampliamente utilizada en muestras fijadas debido a su mayor sensibilidad en amplificar un pequeño fragmento de 65 pb de la región L1 del virus, lo que le hace especialmente indicado su uso en material de biopsia fijado y potencialmente más deteriorado que el material fresco. Lo más interesante del estudio es que la comparación la realiza con una técnica, F-HPV, que amplifica la región E6-E7, aumentando la sensibilidad en la detección, y evita posibles pérdidas de diana de la región L1 del genoma vírico integrado en las células tumorales. Los resultados demuestran la superioridad de Inno-Lipa, pero también recuperan algunas muestras negativas por esta y subrayan la frecuencia de infecciones múltiples en tejidos donde resultaría previsible la persistencia —y la responsabilidad en la transformación celular— de un solo tipo de VPH. Sus conclusiones demuestran que aún existe un margen de mejora en la reproducibilidad de los métodos diagnósticos, y la detección de todos los genotipos de una muestra requiere técnicas fiables y estandarizadas. La diversidad de métodos de diagnóstico de VPH precisa criterios estrictos de validación de los productos comerciales⁷ y la participación de los laboratorios clínicos en controles de calidad periódicos⁸. Es necesario resaltar la importancia de la elección del método adecuado, especialmente en las técnicas de genotipado, y su interpretación por profesionales experimentados, por lo que sigue vigente en todos sus términos la recomendación institucional que realizara la SEIMC sobre la responsabilidad del microbiólogo en el diagnóstico de los VPH⁹.

El diagnóstico del VPH evolucionará en los próximos años hacia una mayor exigencia de la calidad del resultado ofertada por el laboratorio, debido a dos factores esenciales: la participación de VPH en tumores de otras localizaciones anatómicas y los cambios epidemiológicos que surgirán una vez que la vacuna modifique la prevalencia de los genotipos responsables.

Será necesario diagnosticar VPH en procesos diferentes al cáncer de cérvix, y nos referimos no solo a su implicación en tumores con una relación demostrada, como ocurre en la región anal, sino también a otras localizaciones en la que resulta evidente su participación, como en los tumores orofaríngeos, especialmente de amígdala. La estandarización en la obtención y el procesamiento de la muestra será determinante para conseguir resultados precisos que supongan una ayuda en el diagnóstico y pronóstico de estos procesos y su posible prevención.

Sin embargo, el reto futuro se presentará con los cambios producidos por las campañas de vacunación y su influencia sobre la prevalencia de las anomalías citológicas y los programas de cribado que requerirán ser diseñados en función de la nueva situación¹⁰. Ya existen resultados publicados que demuestran una disminución en la incidencia de VPH de las jóvenes vacunadas en Australia¹¹ y confirman las estimaciones de los modelos predictivos¹². La monitorización del impacto vacunal requiere una

colaboración multidisciplinar, con capacidad técnica y soportes de información adecuados, que aporten las evidencias significativas que justifiquen los cambios en las medidas sanitarias tomadas por quien tiene la responsabilidad de su gestión¹³. No obstante, el cribado debe mantenerse como una estrategia importante en el control del cáncer cervical, tanto en las personas vacunadas como no vacunadas. La reducción de la incidencia en mujeres jóvenes tras vacunaciones masivas de adolescentes aporta la posibilidad de retrasar la edad de inicio del cribado, lo que, unido a mayor intervalo en los controles y mejor sensibilidad de los ensayos de VPH, dibuja un panorama atractivo con programas de cribado más eficientes en el coste y efectivos en el control de la enfermedad¹⁴.

La disponibilidad de ensayos diagnósticos de VPH sensibles, reproducibles y a un coste razonable serán críticos en el seguimiento de las vacunas actuales y el diseño e implantación de los programas vacunales. Serán necesarios métodos estandarizados que determinen el nivel total de anticuerpos, su capacidad neutralizante y las concentraciones específicas de anticuerpos de tipo¹⁵. La vacunación del VPH ofrece una oportunidad única de disminuir el cáncer y las enfermedades asociadas a su infección. En este sentido, los laboratorios de Microbiología tienen que aportar toda su capacidad y experiencia profesional, asumiendo la responsabilidad que les corresponde mediante la obtención e interpretación de resultados de forma fiable y eficaz.

Bibliografía

- De Sanjose S, Quint WC, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010;11:1048–56.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010 [consultado 6 Ene 2012]. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>
- Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103:368–83.
- Franceschi S, Denny L, Irwin KL, Jeronimo J, Lopalco PL, Monsonego J, et al. Eurogin 2010 roadmap on cervical cancer prevention. *Int J Cancer.* 2011;128:2765–74.
- Poljak M, Kocjan BJ. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010;8:1139–62.
- Martró E, Valencia MJ, Tarrats A, Castella E, Llatjos M, Franquesa S, et al. Comparison between two human Papillomavirus genotyping assays targeting the L1 or E6-E7 region in cervical cancer biopsies. *Enferm Infecc Microbiol Clin* Este número. 2012;30:225–9.
- Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer.* 2009;124:516–20.
- Eklund C, Zhou T, Dillner J. WHO Human Papillomavirus Laboratory Network. Global proficiency study of human papillomavirus genotyping. *J Clin Microbiol.* 2010;48:4147–55.
- Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Recomendaciones de la SEIMC sobre la responsabilidad y funciones del microbiólogo en el diagnóstico de los papilomavirus humanos, 2008 [consultado 6 Ene 2012]. Disponible en: <http://www.seimc.org>
- Brotherton JM, Gertig DM. Primary prophylactic human papillomavirus vaccination programs: future perspective on global impact. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011;9:627–39.
- Brotherton JM, Fridman M, May CL, Chappell G, Saville AM, Gertig DM. Early effect of the HPV vaccination programme on cervical abnormalities in Victoria, Australia: an ecological study. *Lancet.* 2011;377:2085–92.
- Cuzick J, Castañón A, Sasieni P. Predicted impact of vaccination against human papillomavirus 16/18 on cancer incidence and cervical abnormalities in women aged 20–29 in the UK. *Br J Cancer.* 2010;102:933–9.
- Wong CA, Saraiya M, Hariri S, Eckert L, Howlett RI, Markowitz LE, et al. Approaches to monitoring biological outcomes for HPV vaccination: challenges of early adopter countries. *Vaccine.* 2011;29:878–85.
- Tay SK. Cervical cancer in the human papillomavirus vaccination era. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2012;24:3–7.
- Villa LL. HPV prophylactic vaccination: The first years and what to expect from now. *Cancer Lett.* 2011;305:106–12.