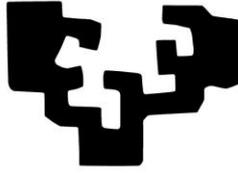


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

TESIS DOCTORAL

PREVALENCIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EN
PACIENTES CON VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO
EN EL TRACTO GENITAL INFERIOR

ANA HERNANZ LOZÓN

Bilbao

2017

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Daniel Andia, por la confianza y los ánimos que me ha transmitido día tras día y por todo lo que he aprendido y sigo aprendiendo trabajando a su lado. Esta Tesis Doctoral no existiría si no fuera por él.

Al Dr. Ramón Cisterna, por apostar por este proyecto y aceptar la dirección de esta tesis.

Al Dr. Antonio Escobar, por su constante disposición e inagotable paciencia para conseguir descifrar las ideas que necesitaba plasmar en números y resolver todas mis dudas estadísticas.

Al Servicio de Microbiología del Hospital de Basurto, en especial al Dr. Jose Ángel Álava, la Dra. Paloma Liendo y el Dr. Manuel Imaz, por dedicar su tiempo a explicarme el funcionamiento de sus laboratorios y su metodología de trabajo.

A todos mis compañeros del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Basurto, porque de todos y cada uno de ellos he aprendido algo y porque en esta tesis se refleja el trabajo diario que ellos realizan.

A mis padres, a quienes debo mi formación personal y profesional, por los sacrificios que han realizado y los ánimos que me han transmitido a lo largo de toda mi vida.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
AceVHB	Anticuerpo frente al Antígeno e del Virus de la Hepatitis B
ACG	Atipia de células glandulares
ACH	Anticoncepción hormonal
AcsVHB	Anticuerpo frente al Antígeno s del Virus de la Hepatitis B
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AEPCC	Asociación Española de Patología Cervical y Colposcopia
Ag	Antígeno
AGC-NOS	Atipia de células glandulares de significado incierto
AgeVHB	Antígeno e del Virus de la Hepatitis B
AgsVHB	Antígeno s del Virus de la Hepatitis B
AGUS	Atipia de células glandulares de significado incierto
AIS	Adenocarcinoma <i>in situ</i>
AP	Anatomía patológica
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	ARN mensajero
ASC-H	Atipia de células escamosas sin poder descartarse lesión de alto grado
ASCUS	Atipia de células escamosas de significado incierto
CCU	Cáncer de cuello uterino
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CE	Cuerpo elemental
CEIC	Comité ético de investigación clínica
cig	Cigarrillo
CIN 1+	Neoplasia intraepitelial cervical grado 1 o superior
CIN 2+	Neoplasia intraepitelial cervical grado 2 o superior
CIN	Neoplasia intraepitelial cervical
CIS	Carcinoma in situ
CR	Cuerpo reticulado
CT	<i>Chlamydia trachomatis</i>
DIU	Dispositivo Intrauterino
EEUU	Estados Unidos
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
EIP	Enfermedad inflamatoria pélvica
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
EMA	Agencia Europea del Medicamento
erb-b	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FISH	Hibridación <i>in situ</i> con fluorescencia
FTA-Abs	Prueba de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes
g	Gramo
HC	Captura de híbridos
HLA	Antígeno leucocitario humano
HPV	Virus del papilloma humano
H-SIL	Lesión escamosa intraepitelial de alto grado
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>

IC	Intervalo de confianza
IFCPC	<i>International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy</i>
Ig	Inmunoglobulina
IgMcVHC	IgM frente al core del Virus de la Hepatitis C
ITS	Infección de transmisión sexual
LAST	<i>Lower Anogenital Squamous Terminology</i>
LCR	<i>Long Control Region</i>
LLETZ	<i>Large loop excision of the transformation zone</i>
L-SIL	Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado
mg	Miligramo
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NO	Óxido nítrico
OR	<i>Odds ratio</i>
ORF	<i>Opening Reading frames</i>
OSI	Organización sanitaria integrada
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PPGF	<i>Platelet derived growth factor</i>
RFLP	Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción
SEAP	Sociedad Española de Anatomía Patológica
SEC	Sociedad Española de Contracepción
SEGO	Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia
SGB	<i>Streptococo del grupo B</i>
SIL	Lesión escamosa intraepitelial
SIL-NE	Lesión escamosa intraepitelial no especificada
SNS	Sistema Nacional de Salud
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TcVHB	Core del Virus de la Hepatitis B
UTM	Medio de transporte universal
VAIN	Lesión intraepitelial vaginal
VHB	Virus Hepatitis B
VHC	Virus Hepatitis C
VHS	Virus Herpes Simple
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
VLP	<i>Virus like particles</i>
VPH AR	Virus del papiloma humano de alto riesgo
VPH BR	Virus del papiloma humano de bajo riesgo
VPH pAR	Virus del papiloma humano de probable alto riesgo
VPH	Virus del papiloma humano
ZT	Zona de transformación

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1. El Virus del Papiloma Humano (VPH)	1
1.1. Clasificación de los VPH	1
1.2. Estructura y características del virus	2
1.3. Tipos de VPH	4
1.4. Ciclo replicativo	5
2. Infección por VPH.....	7
2.1. Epidemiología.....	7
2.2. Historia natural de la infección por VPH.....	8
2.3. Respuesta inmune	10
2.4. Oncogénesis por VPH	11
2.5. Factores de riesgo para las lesiones cervicales	12
3. Prevención del cáncer de cérvix.....	13
3.1. Prevención primaria: vacunación frente al VPH.....	13
3.2. Prevención secundaria: Cribado.....	18
3.3. El cribado hoy en día en España	29
3.4. El cribado en el País Vasco	31
4. Diagnóstico y tratamiento del CIN y del CCU.....	32
4.1. Colposcopia	32
4.2. Tratamiento de las lesiones intraepiteliales cervicales	34
5. <i>Chlamydia trachomatis</i>	41
5.1. Microbiología	41
5.2. Epidemiología.....	42
5.3. Clínica.....	44
5.4. Screening.....	44
5.5. Diagnóstico.....	45
5.6. Tratamiento	46
6. Relación entre <i>Chlamydia trachomatis</i> y VPH	47
2. OBJETIVOS	53
1. Objetivo principal	53
2. Objetivos secundarios	53

3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	57
1. Determinación del grupo de estudio.....	57
2. Consideraciones éticas	59
3. Estudio de las pacientes	59
3.1. Anamnesis.....	59
3.2. Exploración.....	59
4. Tratamiento de las infecciones genitales	62
5. Consulta de Infecciones de Trasmisión Sexual	63
6. Tratamiento de lesiones intraepiteliales cervicales	66
6.1. Conización con asa de diatermia.....	67
7. Seguimiento de las lesiones intraepiteliales cervicales.....	67
7.1. Evolución del VPH y de las lesiones cervicales.....	68
8. Análisis de los resultados.....	69
4. RESULTADOS	73
1. Prevalencia de infección por CT en pacientes con VPH	73
1.1. Prevalencia global.....	73
1.2. Prevalencia según rangos de edad	73
2. Relación entre la infección por CT con otros factores.....	74
2.1. Tabaco.....	74
2.2. Método anticonceptivo	74
2.3. Otras infecciones del tracto genital inferior	77
2.4. Paridad.....	80
3. Relación entre la infección por CT y las alteraciones citológicas.....	81
4. Relación entre la infección por CT y la histología cervical.....	81
5. Evolución de la infección y las lesiones	83
5.1. Tratamientos recibidos.....	83
5.2. Seguimiento	84
6. Otros datos	89
6.1. Vacunación previa frente a VPH.....	89
6.2. Serologías.....	89

5. DISCUSIÓN.....	93
1. Prevalencia de infección por CT en pacientes con VPH	93
1.1. Prevalencia global.....	93
1.2. Prevalencia por grupos de edad.....	94
2. Relación entre la infección por CT con otros factores.....	95
2.1. Tabaco.....	95
2.2. Método anticonceptivo	96
2.3. Otras infecciones del tracto genital inferior	97
2.4. Paridad.....	100
3. Relación entre la infección por CT y las alteraciones citológicas	101
4. Relación entre la infección por CT y la histología cervical.....	102
5. Evolución de la infección y las lesiones intraepiteliales	107
5.1. Aclaramiento del VPH.....	107
5.2. Evolución del CIN.....	108
5.3. Influencia de la CT en el aclaramiento del VPH y la evolución del CIN.....	110
6. Otros datos	113
6.1. Vacunación previa frente a VPH.....	113
6.2. Serologías.....	114
6. CONCLUSIONES	117
7. BIBLIOGRAFÍA.....	121

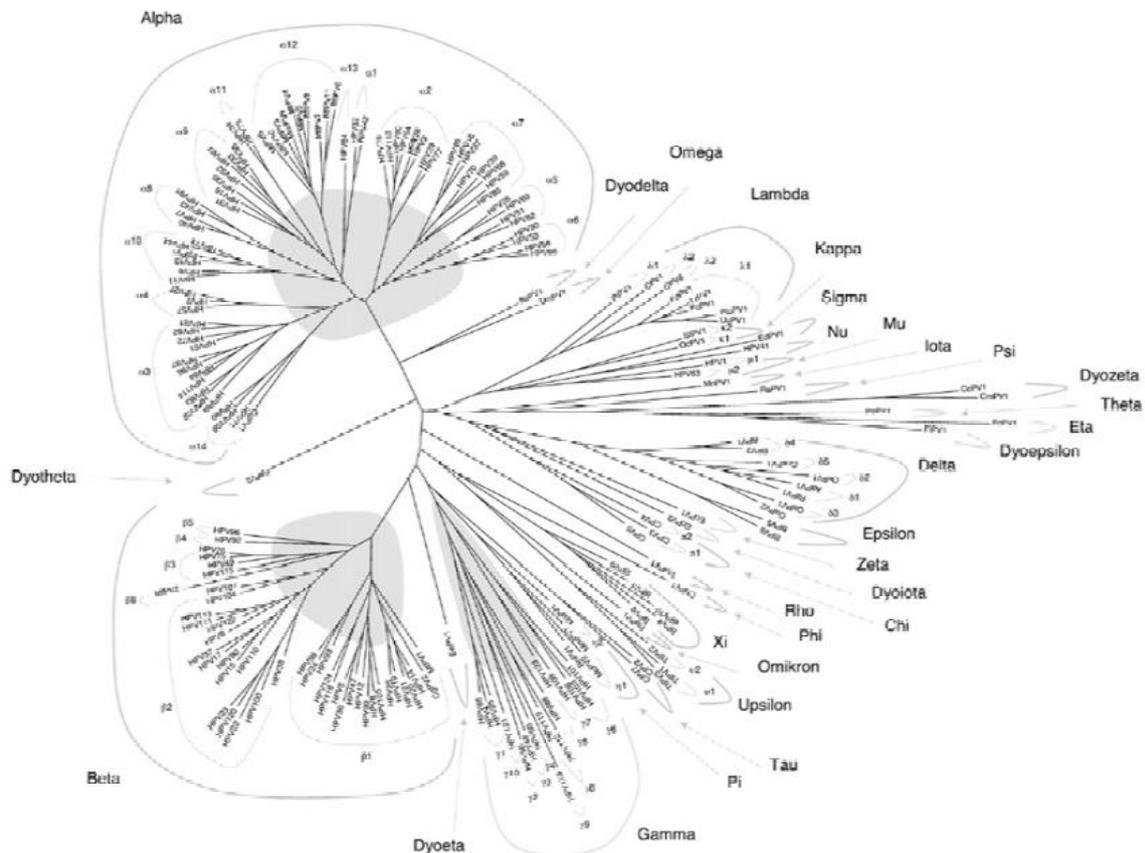
1. INTRODUCCIÓN

1. El Virus del Papiloma Humano (VPH)

1.1. Clasificación de los VPH

El virus del papiloma humano pertenece a la familia *Papillomaviridae*, y es un virus que puede infectar a numerosas especies animales desde aves hasta mamíferos, incluyendo el hombre. Hasta el momento se han secuenciado más de 200 tipos diferentes de VPH, la mayoría colonizan la piel o mucosas de forma asintomática. En 2004, de Viliers y cols¹ propusieron una clasificación de los virus del papiloma en 16 géneros. Más adelante, en 2010, Hans-Ulrich y cols² incluyeron otros 13 géneros, dando lugar a la clasificación actual que incluye 29 géneros (Figura 1). Destaca el género Alfa-papilomavirus que contiene más de 60 miembros entre los cuales se encuentran la mayoría de los VPH mucosotrópicos que infectan el tracto genital. Los tipos Beta, Gamma, Mu y Nu infectan sobre todo el epitelio cutáneo.

Figura 1. Árbol filogenético del VPH. El análisis filogenético está basado en el alineamiento múltiple de las secuencias nucleotídicas de L1. Fuente: Hans-Ulrich et al, 2010.



Se sabe que aproximadamente unos 40 tipos de virus del papiloma afectan la mucosa del tracto anogenital³, constituyendo la infección de transmisión sexual (ITS) más frecuente. Numerosos estudios clínicos a mediados de los años noventa confirmaron el papel fundamental de esta infección en la génesis tanto de las lesiones premalignas como del cáncer de cuello uterino en la mujer^{4,5,6,7}. Por el momento, entre 15-20 VPH son considerados los responsables del cáncer de cérvix y de sus precursores.

1.2. Estructura y características del virus

El VPH es un virus de pequeño tamaño, formado por una doble cadena de ADN circular que contiene aproximadamente 8000 pares de bases y está recubierto por una cápside proteínica icosaédrica de 55 nm de diámetro⁸ (Figura 2).

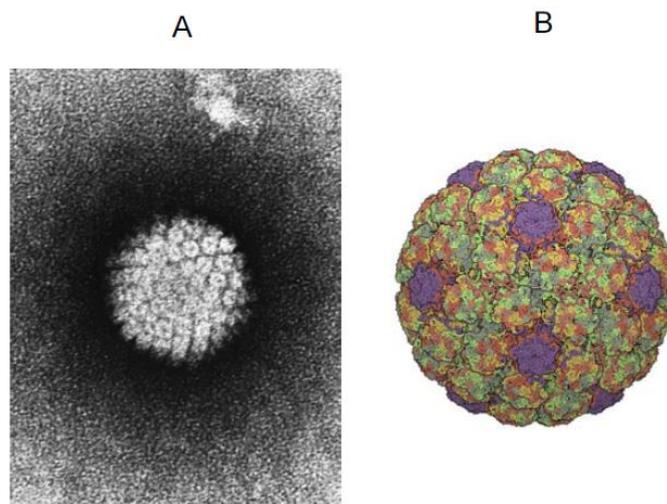


Figura 2: Virus del papiloma humano. A) Virión del papiloma humano al microscopio electrónico. B) Reconstrucción tridimensional de la partícula viral. En púrpura se observa la proteína de la cápside L2 y el resto es la proteína mayoritaria L1.

El VPH contiene en su genoma varios genes denominados Marcos de Lectura Abiertos u ORF (del inglés “*Open Reading Frames*”)⁹ que se clasifican en dos tipos (Tabla 1):

- a) Ocho genes de expresión temprana (E1-E8, del inglés “*Early*”) que se expresan en el inicio del ciclo viral y codifican las proteínas necesarias para la replicación y mantenimiento del virus.
- b) Dos genes de expresión tardía (L1-L2, del inglés “*Late*”) que se expresan al final del ciclo viral y codifican las proteínas que componen la cápside viral.

Existe también una región de control denominada LCR (del inglés “*Long Control Region*”) que rige la expresión génica de los genes E6 y E7 y el ensamblaje de las partículas virales^{10,11}.

Mientras que los genes de expresión temprana son muy diferentes en los distintos genotipos virales, los genes de expresión tardía son muy similares entre ellos. Esto convierte estos genes, especialmente la L1, en la diana principal para la detección del ADN viral.

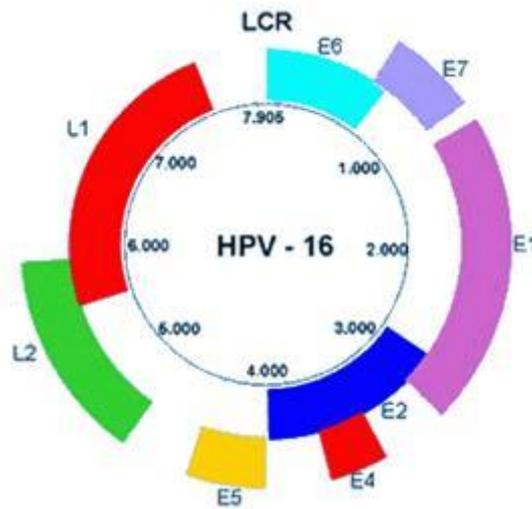


Figura 3: Representación esquemática de la organización del genoma del VPH 16. E1 a E7: genes tempranos. L1-L2: genes tardíos. LCR: long control región (región de control). Fuente: Arroyo, 2010¹².

Tabla 1: Función de las proteínas del papilomavirus.

Fuente: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic risk to Humans, vol 90. Human papillomaviruses.

ORF	Función
E1	Modulador de la replicación del ADN viral
E2	Principal regulador de la transcripción genética viral
E3	Desconocida
E4	Disrupción de la citoqueratina de las células escamosas, facilitando el ensamblaje viral y su liberación
E5	Activación de la proliferación celular y de receptores de los factores de crecimiento (PDGF, EGF y erb-b). Inhibición la apoptosis celular ¹³ .
E6	Síntesis de ADN. Proliferación y transformación celular unida a la p53
E7	Proliferación celular y transcripción unida al gen p105Rb, impidiendo que la célula entre en fase S ^{14,15} .
L1	Proteína mayor de la cápside
L2	Proteína menor de la cápside

E6 y E7 actúan sinérgicamente activando el ciclo celular y confiriendo a las células infectadas por el VPH un fenotipo proliferativo que, junto con el efecto antiapoptótico, favorece la oncogénesis.

1.3. Tipos de VPH

Los diferentes VPH se clasifican en tipos, subtipos o variantes en función de la homología de la secuencia de bases del ADN del gen L1¹⁶. Los distintos tipos de VPH se diferencian en su genoma en más del 10%, los subtipos se diferencian entre el 2 y el 10% y las variantes en menos del 2%.

Los serotipos de VPH que infectan al ser humano se clasifican, en función de su riesgo oncogénico, como de alto riesgo (AR o HR del inglés "*High Risk*") o bajo riesgo (BR o LR del inglés "*Low Risk*")¹⁷.

Los VPH BR son los causantes de las verrugas genitales y de las lesiones escamosas de bajo grado, y rara vez o nunca son oncógenos¹⁸. 12 tipos se han clasificado como de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108. Los VPH 6 y 11 son los más representativos de este grupo^{19,20}, ya que son responsables de aproximadamente el 90% de los condilomas genitales.

Los VPH AR se asocian frecuentemente a los cánceres invasores del tracto genital inferior y a las lesiones escamosas de alto grado^{21,22}. Los siguientes 15 tipos de VPH se clasificaron de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82²³. Los tipos 26, 53 y 66 se clasificaron como de probable alto riesgo (Tabla 2)²¹. Tanto los VPH AR como los de probable alto riesgo (VPH pAR) son considerados responsables de las lesiones intraepiteliales precursoras y del cáncer de cérvix.

Un metaanálisis que incluyó más de 14.500 casos de cáncer cervical los clasificó en orden decreciente de prevalencia: 16, 18, 33, 45, 31, 58, 52, 35, 59, 56, 51, 39, 6, 73, 68 y 82²⁴. De todos ellos, el VPH 16 es el principal causante de cáncer de cuello, representando entre el 40 y 70% de todos los casos²⁵. La prevalencia del VPH 18 en la población general es mucho menor, pero se encuentra hasta en un 25% de los carcinomas epidermoides, e incluso en un porcentaje más alto de los adenocarcinomas y carcinomas adenoescamosos de cérvix²⁶.

Diferentes estudios han demostrado que, si se emplean métodos de gran sensibilidad, prácticamente en el 100% de los cánceres invasores del cuello uterino y en más del

90% de sus lesiones precursoras se halla presencia del VPH^{27,28}. Por tanto, el VPH se considera la causa principal y necesaria del cáncer invasor del cuello uterino²⁹.

Tabla 2: Clasificación de los VPH

Clasificación de riesgo	Tipos de VPH
Alto riesgo	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82
Probables tipos de alto riesgo	26, 53 y 66
Bajo riesgo	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108
Riesgo indeterminado	34, 57, 83
Deben ser considerados cancerígenos	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, y 82
Deben ser considerados probables carcinógenos.	26, 53, y 66

1.4. Ciclo replicativo

Los VPH son virus epiteliotropos que pueden infectar la piel y las mucosas, entre ellas las células del epitelio escamoso del cérvix. Su entrada se produce por microtraumatismos en el epitelio que exponen la capa basal al virus, siendo la unión escamocolumnar cervical el área más susceptible. Tras entrar en las células de la capa basal, pueden producirse dos tipos de infecciones: productiva o latente.

En la infección latente el genoma del VPH se mantiene dentro las células basales de forma circular y libre (forma episomal), sin replicarse ni producir efectos citopáticos.

En la infección productiva, los episomas se multiplican junto con la replicación del ADN celular, aprovechando la capacidad de proliferación de las células basales. Tras la división celular, las células infectadas migran hacia las regiones más superficiales del epitelio y se diferencian. Al contrario que las células no infectadas, que abandonan el ciclo celular en cuanto se desprenden de la membrana basal, las células infectadas entran en fase S (síntesis y replicación del ADN), amplificando los genomas virales a cientos de copias por célula. Al mismo tiempo se sintetizan las proteínas virales resultando en el ensamblaje de los viriones, que son liberados en las capas más altas del epitelio. La liberación de los viriones lejos de la capa basal impide su acceso a la torrente sanguíneo y explica la escasa respuesta inmune que se desencadena contra

estos virus, lo que favorece la persistencia de las infecciones y por tanto la carcinogénesis.

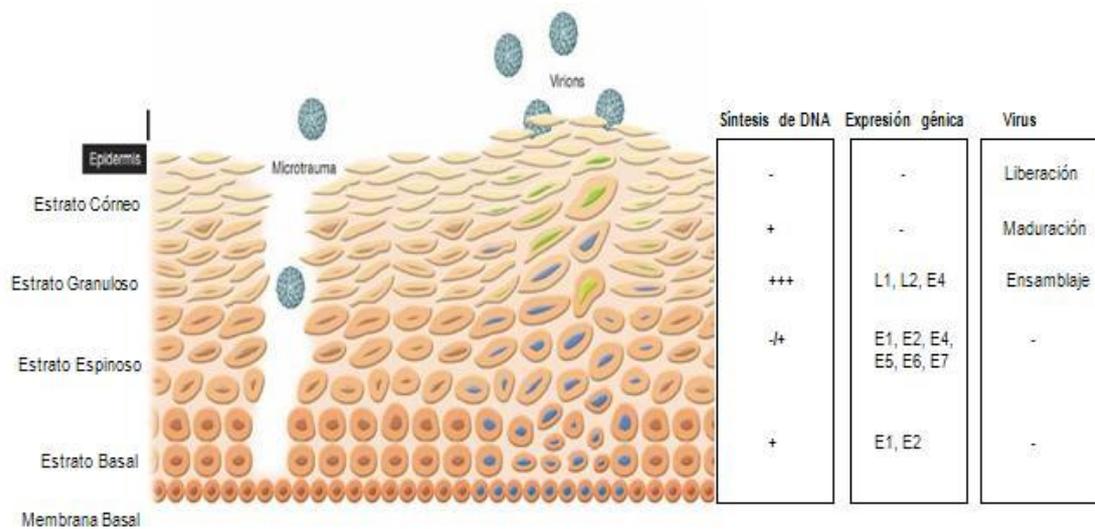


Figura 4: Ciclo replicativo del VPH. Adaptado de Lowy DR, Schiller JT. Journal Clin Investigation, 116: 1167-73, 2006

En las lesiones intraepiteliales de bajo grado (CIN 1) el virus permanece en forma episómica y el genoma viral no se integra en el ADN de las células huésped. En la superficie del epitelio, los genes virales de expresión tardía (L1 y L2) sintetizan la cápside proteica y se ensamblan numerosos viriones que se acumulan en el citoplasma celular, dando a las células el característico aspecto de coilocitos³⁰.

En las lesiones intraepiteliales de alto grado (CIN 2-3) y en los cánceres invasores, el ADN vírico generalmente se integra en el genoma de las células epiteliales del huésped. Esta integración permite la expresión de los genes E5, E6 y E7, que estimulan la proliferación celular y son los responsables finales de la acción carcinogénica del VPH^{31,32}. Comienza la etapa de transformación de la célula, alterándose la maduración y estructuración del epitelio, con todas sus capas semejantes a la basal y con células aneuploides. En estas lesiones disminuye considerablemente la replicación viral: los virus no completan su ciclo vital, por lo que no se forma la cápside y no aparecen viriones completos.

2. Infección por VPH

2.1. Epidemiología

La infección por VPH es la ITS más frecuente en las mujeres. El mecanismo de transmisión del VPH es el contacto directo con la zona infectada. Los VPH genitales se transmiten por vía sexual por contacto directo con la mucosa o a través de fómites, con una tasa de transmisibilidad alta. La mayoría de las mujeres se infectan en los primeros años tras iniciar las relaciones sexuales, con un pico de mayor incidencia antes de los 25 años³³ y un descenso a partir de los 30-35 años. Se estima que hasta un 80% de la población puede entrar en contacto con el VPH a lo largo de su vida. En mujeres asintomáticas, la prevalencia de la infección es aproximadamente del 10%³⁴, si bien presenta una fuerte variabilidad geográfica. En España, se estimaba una prevalencia del VPH de entre 3-6% (de las más bajas del mundo)³⁵, pero los datos del estudio CLEOPATRE realizado en 2014 arrojan datos de prevalencia mucho mayores, del 14,3% (IC al 95%: 13,1-15,5). La prevalencia tiene una relación inversa con la edad, siendo del 28,8% (IC al 95%: 26,6-31,1) en mujeres entre 18-25 años, del 13,4% (IC al 95%: 10,7-16) en mujeres de 26-45 años y del 7,9% (IC al 95%: 6,2-9,6) en mujeres de 46-65 años³⁶.

La edad media de aparición de las lesiones intraepiteliales es entre los 28-35 años mientras que el carcinoma invasor se manifiesta principalmente entre los 41-51 años. Se sabe por tanto que el tiempo medio de evolución entre la primoinfección y el cáncer invasor puede llegar a ser de 20 a 40 años³⁷.

En términos globales, el cáncer de cuello uterino (CCU) es la tercera neoplasia más frecuente en las mujeres a nivel mundial. La incidencia del cáncer de cérvix varía extraordinariamente entre el 2,6 y el 54,6 por 100.000 mujeres/año en función de la localización geográfica. En los países en vías de desarrollo, la incidencia es mucho mayor que la de los países desarrollados³⁸.

En España, según los datos de 2012, el CCU ocupa el tercer lugar de los cánceres entre las mujeres³⁹. En 2008 se diagnosticaron alrededor de 529.409 casos de cáncer cervical y se produjeron 274.883 muertes debido a esta neoplasia maligna⁴⁰. La tasa anual de incidencia ajustada del cáncer de cérvix en España, excluido el carcinoma in situ, es del 7,2 por 100.000 mujeres y la tasa de mortalidad del 2,7 por 100.000 mujeres/año³⁵.

Se estima que los VPH 16 y 18 son responsables del 70% de los casos de CCU a nivel mundial y los ocho tipos más comunes (VPH 16, 18, 45, 31, 33, 35, 52 y 58) son

responsables del 89% de los casos. Los distintos análisis muestran que la distribución del tipo de VPH no varía mucho entre el carcinoma escamoso y el adenocarcinoma de cérvix. Aunque los VPH 16 y 18 son los dos tipos más frecuentes en ambos tipos histológicos, la prevalencia relativa del VPH 18 es más importante en el adenocarcinoma que en el carcinoma escamoso⁴¹.

Con menos frecuencia, el VPH está asociado también a otros cánceres de la zona anogenital como el cáncer de vulva (30-35% de los casos), de vagina (65-90%), anal (>80%), de la cavidad oral y de faringe (24-36%)^{42,43,44,45}. También en todos estos tipos de cáncer los genotipos 16 y 18 son los más frecuentemente detectados. En la Figura 5 puede observarse la frecuencia de las diferentes neoplasias atribuibles al virus del papiloma humano.

Figura 5: Carga de enfermedad atribuible al VPH

Nº de casos atribuibles a VPH y la fracción atribuible por sitio anatómico (Plummer 2016)			
Sitio cáncer relacionado VPH (ICD-10)	Nº casos incidentes	Nº casos atribuibles a VPH	FA (%)
Cérvix (C53)	530000	530000	100,0
Ano (hombres) (C21)	40000	35000	88,0
Vulva (C51)	34000	8500	24,9
Vagina (C 52)	15000	12000	78,0
Pene (C 60)	26000	13000	50,0
Orofaringe (C01; C09-10)	96000	29000	30,8
Cavidad oral (C02-06)	200000	4400	2,2
Laringe (C 32)	160000	3800	2,4
Otros faringe (C12-C14)	78000	0	0
TOTAL	1200000	630000	54,0

Franceschi L et al. Presentado en el congreso IPV 2017, Capetown.

2.2. Historia natural de la infección por VPH

La infección por VPH es generalmente asintomática y no produce activación de la cascada inflamatoria. La mayoría de las infecciones son transitorias y autolimitadas. Se estima que el 70% de las infecciones se aclaran a los 12 meses y el 90% a los 24 meses⁴⁶. El aclaramiento viral es un factor determinante para la regresión de las lesiones.

La duración de la infección depende del tipo de VPH y puede oscilar desde meses hasta años, siendo la duración media estimada de 8-10 meses. Los tipos de alto riesgo

persisten más que los de bajo riesgo, y concretamente los VPH 16 y 18 son los más persistentes. El tipo viral es, por tanto, uno de los principales factores predictores de riesgo de progresión a CIN 2-3⁴⁷ (Figura 6). Además el riesgo de persistencia del VPH aumenta con la edad.

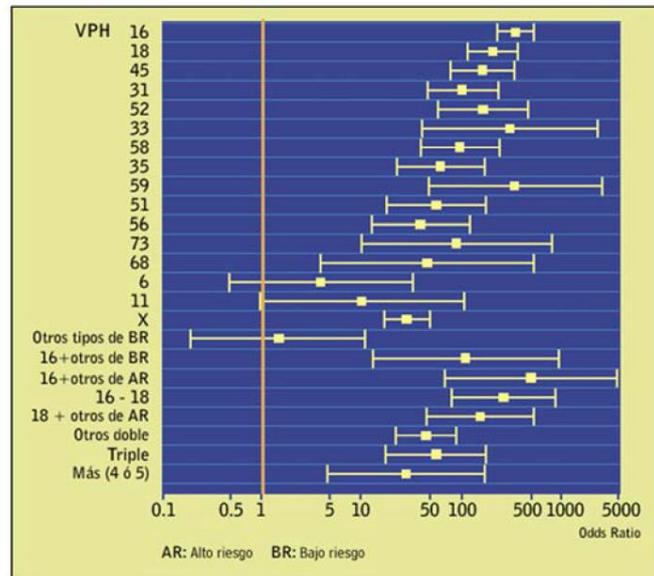


Figura 6: Riesgo específico de lesiones cervicales según el tipo vírico. Existen diferencias significativas entre tipos, especialmente entre los VPH-BR 6 y 11 y los VPH AR. Fuente: HPV Today nº4 (2004).

La infección suele iniciarse en el epitelio metaplásico cervical, en la zona de transformación. El VPH infecta la capa basal del epitelio y comienza la expresión de sus genes, alterando los mecanismos de protección celular y la maduración del epitelio cervical. Las células afectadas tienen un núcleo agrandado e hipercromático y con la cromatina de aspecto granuloso. Hay un mayor número de mitosis, mitosis atípicas y presencia de coilocitos.

En estadios iniciales, la lesión ocupa únicamente el tercio inferior del epitelio, conformando las lesiones denominadas de bajo grado (SIL BG o CIN 1). Aproximadamente el 85-90% de los CIN 1 regresan espontáneamente sin necesidad de tratamiento.

El 10-15% de los CIN 1 pueden progresar, encontrándose células atípicas en más de la mitad del espesor del epitelio o incluso en su totalidad, conformando las lesiones de alto grado (SIL AG): CIN 2 o CIN 3 respectivamente. Estas lesiones de alto grado solo remiten en el 40% de las pacientes, y tienden a progresar hacia carcinoma invasor, por lo que su tratamiento es fundamental.

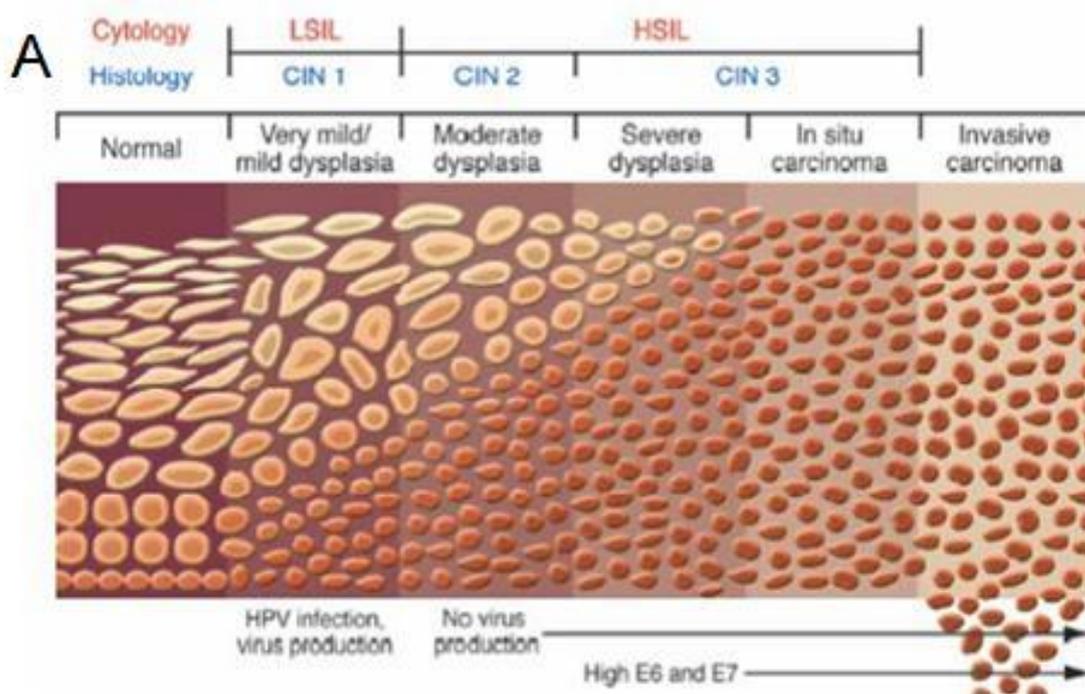


Figura 7: Esquema de la progresión histológica desde el epitelio normal hasta el carcinoma invasivo. La lesión intraepitelial de bajo grado afecta sólo al tercio inferior del epitelio. En la lesión de alto grado se produce una desestructuración de todo el grosor epitelial. En el carcinoma invasor, las células atípicas rompen la membrana basal e invaden el tejido subyacente. Adaptado de Lowy DR, Schiller JT. *Journal Clin Investigation*, 116: 1167-73, 2006

2.3. Respuesta inmune

Cuando el VPH entra en contacto con el epitelio, en la mayoría de las ocasiones las partículas virales son eliminadas de forma mecánica, al ser arrastradas por la descamación propia del epitelio y por la acción de la inmunidad innata o inespecífica como los macrófagos. Si el VPH sortea este primer mecanismo de defensa del huésped puede ser capaz de llegar a través de microtraumatismos del epitelio hasta las células basales. El VPH es un patógeno intracelular estricto, que necesita la célula huésped para replicarse y llevar a cabo su acción infectiva. La internalización de las partículas virales se lleva a cabo a través de un receptor de superficie que permite la endocitosis de las mismas. Los anticuerpos frente al VPH, tanto los generados de forma natural como los administrados en las vacunas, actúan sobre este complejo receptor-virus impidiendo la entrada de los virus en las células⁴⁸. Una vez que la partícula viral se internaliza, el único mecanismo de defensa del huésped para resolver la infección se relega a la inmunidad celular del propio individuo. Parte de las proteínas virales se presentarán en la superficie de la célula infectada y serán reconocidas por los sistemas de inmunidad celular que atacarán a dicha célula, destruyéndola y favoreciendo la regresión de la lesión cito-histológica si ésta se había producido.

Además, las células dendríticas de Langerhans fagocitan las partículas virales para luego presentarlas en su superficie y activar la inmunidad adaptativa o específica: los linfocitos T CD4. Estos linfocitos T CD4 activados se convertirán en Linfocitos T Helper de tipo 1 (Th1) o de tipo 2 (Th2) en función de los factores tisulares del entorno, fundamentalmente la presencia de ciertas interleuquinas. La vía Th1 finaliza en el maduración de linfocitos T citotóxicos específicos contra la infección viral establecida, y la vía Th2 generará Linfocitos B que producirán anticuerpos frente a los antígenos virales para combatir la infección establecida y las sucesivas infecciones por VPH⁴⁹.

El VPH puede producir infecciones a largo plazo sin causar ningún efecto sobre las células, aunque con producción de viriones de forma crónica o bien con reactivaciones intermitentes. Cuando el virus es capaz de evadir los mecanismos para la detección y la eliminación de las células virales por parte el sistema inmune hablamos de persistencia viral. Si el sistema inmune no es capaz de resolver la infección en un plazo de 1 ó 2 años y el virus persiste durante ese tiempo, aumentan las posibilidades de que se produzcan cambios citopáticos y como consecuencia el huésped presenta una mayor susceptibilidad a la neoplasia. La persistencia de la infección es una condición necesaria para que se produzca la transformación celular y la progresión lesional⁵⁰.

2.4. Oncogénesis por VPH

El VPH infecta las células basales, cuya tasa de replicación es muy elevada. Los errores en el ADN celular que pueden producirse en el proceso de replicación son reparados por una serie de proteínas, entre las que destacan dos denominadas p53 y Rb. Estas proteínas permiten sustituir las bases de nucleótidos del ADN erróneas por las correctas. Cuando p53 y Rb se encuentran con el genoma del VPH lo identifican como un ADN extraño e intentan reparar el “error genético”. Sin embargo no son capaces por el gran tamaño de este ADN (8000 pares de bases), por lo que conducen a la célula hacia la apoptosis o “muerte programada”.

Las células infectadas han desarrollado un mecanismo para bloquear a p53 y Rb, a través de las proteínas E6 y E7 del VPH, provocando así que el ADN se replique y se perpetúe, incrementándose la inestabilidad genómica⁵¹. Se ha descrito que los productos de los ORF E5 y E6 de los VPH AR se unen a estas proteínas reguladoras de forma más eficiente que los de los VPH BR⁵². Además, al integrarse el ADN viral en el ADN celular, el ORF E2 queda interrumpido e incapacitado para realizar su función, que es inhibir la expresión de E6 y E7, lo que produce la sobreexpresión de éstos.

En función de la magnitud de estos cambios genéticos dependerá el fenotipo celular, llegando a convertirse en ocasiones en una estirpe clonal tumoral.

2.5. Factores de riesgo para las lesiones cervicales

La infección persistente por el virus del papiloma humano es un requisito imprescindible para el desarrollo del cáncer de cuello uterino. Afortunadamente, la mayoría de las infecciones por VPH son transitorias y de todas las infecciones persistentes por VPH sólo una baja proporción progresará a una lesión intraepitelial cervical o a un cáncer de cuello uterino. Esto hace pensar que el VPH no constituye una causa suficiente de esta enfermedad, sino que son necesarios algunos cofactores que puedan promover la persistencia del virus o reforzar su oncogenicidad y así favorecer dicha progresión^{53,54,55,56,57}. Los factores considerados de riesgo y que interactúan con el VPH son los siguientes:

1) Tabaco: es el cofactor más ampliamente estudiado y más relacionado con la patología cervical. Las pacientes fumadoras tienen un riesgo mayor de padecer una lesión premaligna y un cáncer cervical (RR 1,6; IC al 95%: 1,48-1,73)^{58,59}. Varios estudios sugieren que se debe a una disminución de la inmunidad local a nivel genital y de la probabilidad de aclaramiento de las infecciones por VPH, lo que favorece su persistencia^{60,61}.

2) Contraceptivos hormonales orales: la toma de anticonceptivos durante más de 5 años incrementa hasta 2-3 veces el riesgo de CIN y de CCU. Se desconoce el mecanismo por el cual se produce este efecto, pero se cree que la influencia hormonal puede potenciar la expresión de determinados genes del VPH⁴².

3) Infecciones del cuello uterino: diversas cervicitis, especialmente las producidas por *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, virus herpes simple o *Trichomonas vaginalis*, pueden incrementar el riesgo de padecer una infección por VPH y, probablemente, aumentar así el riesgo de una neoplasia cervical⁶².

Además, parece que las infecciones múltiples por VPH aumentan el riesgo de persistencia del virus y pueden contribuir a la progresión de la displasia cervical^{63,46}. Las lesiones de bajo grado suelen ser causadas por un solo virus VPH mientras que en las lesiones de alto grado es más frecuente observar infecciones por varios genotipos.

4) Inmunosupresión: situaciones de inmunosupresión como la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o la inmunosupresión farmacológica (por ejemplo trasplantes, enfermedades autoinmunes con tratamientos con corticoides o

inmunomoduladores) incrementan el riesgo de neoplasia cervical^{64,65}. Estas pacientes inmunodeprimidas son más susceptibles a la infección y presentan un mayor riesgo de persistencia viral.

5) Paridad: parece que las mujeres con 5 embarazos o más tienen un riesgo mayor de padecer un CIN 3 o un CCU. Durante la gestación, la zona de transformación se exterioriza durante largo tiempo en el exocérnix, lo que facilita la exposición al VPH. También se ha sugerido que determinados factores hormonales asociados a la gestación pueden incrementar la replicación del VPH^{66,67}.

6) Conducta sexual: El inicio temprano de las relaciones sexuales y la promiscuidad sexual son factores que se asocian a mayor riesgo de exposición al VPH, y por tanto a mayor riesgo de infección⁶⁸. Se ha descrito que el riesgo de lesión cervical se asocia también con la no utilización de preservativo y con las relaciones sexuales con hombres no circuncidados.

7) Predisposición genética: determinados perfiles genéticos del sistema HLA y polimorfismos en el gen p53 predisponen al desarrollo de la neoplasia⁶⁹. La predisposición genética también puede favorecer la integración del ADN vírico que se encuentra de forma episomal en el ADN celular y de esta forma desencadenar los mecanismos de transformación neoplásica.

3. Prevención del cáncer de cérvix

3.1. Prevención primaria: vacunación frente al VPH

La vacunación sistemática ha comportado grandes beneficios en la población y ha permitido incluso la erradicación de múltiples enfermedades. El cáncer de cérvix es una de las pocas neoplasias con un claro factor etiológico infeccioso, lo que permite que la prevención del mismo se base en evitar la infección por el virus que la produce, el VPH.

3.1.1. Formulación de las vacunas frente al VPH

Existen 2 vacunas comercializadas en España frente al VPH: desde 2007 Gardasil®, que ofrece protección frente a VPH 6, 11, 16 y 18 (vacuna tetravalente) y desde 2008 Cervarix™, que protege frente a VPH 16 y 18 (vacuna bivalente). Ambas vacunas están constituidas por *Virus Like Particles* (VLP), partículas de la cápside viral sin ninguna capacidad infectiva, que inducen una potente respuesta de anticuerpos neutralizantes.

Además, desde marzo de 2015 está aprobada por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) una nueva vacuna promovida por la casa comercial MSD: Gardasil 9[®]. Esta nueva vacuna ofrece como novedad la inclusión de 9 serotipos de VPH: 7 genotipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58) y 2 genotipos de bajo riesgo (6 y 11), ofreciendo protección frente a más del 80% de las neoplasias de cérvix.

El estudio pivotal recientemente publicado en el New England Journal of Medicine⁷⁰, pone de manifiesto que Gardasil 9[®] presenta una eficacia del 96,7% en la prevención de lesiones de alto grado en el cuello de útero, vagina y vulva causadas por los cinco tipos oncogénicos de VPH adicionales (31, 33, 45, 52, 58) en mujeres entre 16 y 26 años. Además, la vacuna ha demostrado inducir una respuesta de anticuerpos frente a los tipos 6, 11, 16 y 18 que fue no inferior a la inducida por su precursora, Gardasil[®]. De este modo, se traslada la eficacia de Gardasil[®] a Gardasil 9[®] para los tipos 6, 11, 16, 18.

Tabla 3: Características de las vacunas frente al VPH⁷¹

	Cervarix™	Gardasil®	Gardasil 9®
Fabricante	GlaxoSmithKline	Merck & Co., Inc	Merck & Co., Inc
Tipos de VLP	16/18	6/11/16/18	6/11/16/18/31/33/45/52/58
Dosis de proteína L1	20/20 µg	20/40/40/20 µg	30/40/60/40/20/20/20/20/20 µg
Células productoras	Línea celular del insecto <i>Trichoplusia ni (Hi-5)</i> infectada con baculovirus recombinante que expresa L1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura del pan) que expresa L1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura del pan) que expresa L1
Adyuvante	ASO ₄ (500 µg hidróxido de aluminio, 50µg 3-O-desacil-4'-monosfosforil lípido A)	225µg hidroxifosfato sulfato de aluminio	500 µg hidroxifosfato sulfato de aluminio
Pauta de administración	0, 1 y 6 meses	0, 2 y 6 meses	0, 2 y 6 meses
Lugar de administración	Intramuscular en deltoides		

Con la vacunación sistemática de la mayoría de la población femenina es de esperar que en el futuro disminuya la prevalencia de infección de los genotipos causantes actualmente de la mayoría de las infecciones (genotipos 16 y 18) y un aumento de la

prevalencia relativa de otros genotipos de alto riesgo. Por ello es de vital importancia conocer los genotipos de alto riesgo menos frecuentes y su impacto en la producción de lesiones genitales.

3.1.2. Inmunidad

Para potenciar la inmunidad utilizan adyuvantes que en el caso de Cervarix™ es hidróxido de aluminio con un lipopolisacárido detoxificado (ASO₄) y en el caso de Gardasil® es hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo. Las dos vacunas han demostrado una elevada inmunogenicidad, generando títulos de anticuerpos entre 40 y 100 veces superiores a los adquiridos por la infección natural⁷², sobre todo cuando son administradas en mujeres menores de 15 años^{73,74}. Además, la calidad de la respuesta inmune generada por la vacuna implica el mantenimiento del elevado título de anticuerpos a lo largo del tiempo mediante mecanismos de memoria⁷⁵.

Los anticuerpos migran desde el suero hasta la mucosa cervico-vaginal mediante trasudación o exudación, y bloquean los virus impidiendo su entrada en las células basales del epitelio. Es importante la presencia de anticuerpos en el tracto genital inferior en una concentración suficientemente elevada para combatir la infección en su lugar de entrada y así prevenirla⁷⁶.

3.1.3. Eficacia

Las dos vacunas comercializadas han demostrado más de un 90% de eficacia tras tres dosis en la prevención de lesiones precancerosas (CIN 2+) en mujeres no expuestas a los tipos de VPH específicos a las vacunas⁷⁷. Su eficacia frente a estas lesiones precancerosas ha sido generalmente aceptada como un marcador subrogado en la protección contra el cáncer. Esto es necesario, ya que el carcinoma de cérvix es una enfermedad de lento desarrollo y se requerirían estudios a muy largo plazo (20-30 años) para poder demostrar el impacto sobre la enfermedad invasiva. Además, no sería ético dejar evolucionar las lesiones precancerosas cuando se conoce que su tratamiento conlleva en la mayoría de los casos la curación de la paciente.

Las vacunas han demostrado ser eficaces en la protección frente a los genotipos incluidos en su composición, y ambas (especialmente la vacuna bivalente) han demostrado cierto grado de protección cruzada frente a otros genotipos^{78,79}, por la relación filogenética que existe entre los distintos tipos de VPH. Los estudios sugieren que esta protección añadida puede representar entre un 11%-16% de protección adicional frente al cáncer de cérvix.

3.1.4. Seguridad

Los ensayos clínicos exhaustivos (datos de seguridad de pre-autorización) y la farmacovigilancia demuestran que las dos vacunas frente al VPH tienen buenos perfiles de seguridad, y son igual de seguras que otras vacunas comúnmente administradas^{80,81,82}.

El efecto adverso más común es dolor en la zona de la inyección, tumefacción y/o eritema. Otros efectos adversos sistémicos incluyen fiebre, náuseas y mareos, dolores de cabeza, mialgia y síncope. Se han observado efectos adversos graves donde ha sido necesaria hospitalización o que han derivado en invalidez u otras condiciones médicas graves en 3 de cada 100.000 vacunas administradas. No se ha demostrado relación entre la vacuna del VPH con el Síndrome de Guillain-Barré, enfermedades autoinmunes o ninguna de las muertes acontecidas tras la administración de la vacuna del VPH.

3.1.5. Duración de la protección

Se desconoce la duración exacta de la protección conferida por la vacuna VPH. Los ensayos clínicos realizados en humanos con la vacuna bivalente (Cervarix™) indican que a los 8,4 años de la vacunación los títulos de anticuerpos se mantienen varias veces por encima de los inducidos por la infección natural en más del 98% de los sujetos vacunados, para ambos genotipos⁸³.

3.1.6. Recomendaciones y posología

Ambas vacunas vienen preparadas en una jeringa precargada y deben conservarse en la nevera, entre 2 y 8°C. La administración se realiza por vía intramuscular profunda. El lugar óptimo es el músculo deltoides aunque también puede administrarse en el vasto externo de cuádriceps femoral, pero nunca en el músculo glúteo.

Generalmente, la pauta de administración es de 0, 1 y 6 meses para Cervarix™ y 0, 2 y 6 meses para Gardasil®⁸⁴. Sin embargo los estudios de no inferioridad han demostrado que en sujetos de 9-14 años, los resultados en cuanto a inmunogenicidad y eficacia son similares en la pauta de 2 dosis (0 y 6 meses) frente a la habitual de 3 dosis.

Tal y como recomienda la Asociación Española de Pediatría y otras sociedades científicas, hoy día en España todas las comunidades autónomas incluyen la vacunación frente al VPH en el calendario vacunal infantil. En la Comunidad Autónoma del País Vasco, se administran dos dosis de vacuna Gardasil® (0 y 6 meses) a todas las niñas a los 11-12 años⁸⁵.

Resultados de ensayos clínicos apoyan la administración de las vacunas profilácticas a adolescentes entre los 9-13 años, antes de iniciar la vida sexual. El momento de administración se considera óptimo antes del inicio de las relaciones sexuales puesto que el máximo beneficio de su aplicación se obtiene cuando se administra a mujeres jóvenes que no han sido expuestas a los tipos de VPH específicos de la vacuna⁸⁶. De ahí que el mayor impacto de la vacuna del VPH sobre el cáncer de cérvix sea por medio de una gran participación de jóvenes adolescentes.

3.1.7. Vacunación en los varones

Existe un gran debate sobre la conveniencia o no de la vacunación en los varones. La inmunogenicidad y seguridad de la vacuna en ellos es similar a la observada en las mujeres. Sin embargo, los estudios también indican que incluir a los varones en los programas de vacunación, aún con gran cobertura, no confiere un beneficio significativo comparado con vacunar sólo a mujeres y que por consiguiente, es menos eficiente^{87,88}. Todavía no se dispone de datos suficientes para valorar la eficacia en la prevención de cánceres como los de pene y canal anal, ni de la incidencia de verrugas genitales en los hombres.

En ficha técnica, tan solo está aceptada la utilización de la vacuna Gardasil® en hombres de entre 9 y 26 años⁸⁹.

3.1.8. Vacunación en pacientes con lesiones cervicales premalignas

Se ha estudiado la potencial actividad terapéutica de la vacuna frente a las infecciones o lesiones intraepiteliales prevalentes, pero los datos concluyen que las tasas de remisión de infección o de regresión de la lesión son similares en las pacientes que se vacunan y en las que no lo hacen. Por tanto, la vacunación no parece tener ningún efecto terapéutico⁹⁰.

Sin embargo, sí hay evidencias de que la vacunación frente a VPH en mujeres sometidas a tratamiento de lesiones cervicales de alto grado, disminuye el riesgo de segundas lesiones y de recurrencias⁹¹. Parece que en pacientes que han aclarado la infección por un tipo de VPH incluido en la vacuna, la vacunación puede prevenir su reinfección o reactivación⁹². Los beneficios se fundamentan además en la protección frente a los virus incluidos en la vacuna que no hayan intervenido en la lesión de la paciente, en la protección cruzada frente a otras cepas, y sobre todo en que proporcionan una respuesta inmune más duradera que la infección natural^{93,94,95}.

En pacientes conizadas, una segunda conización puede comprometer su porvenir obstétrico aumentando el riesgo de parto pretérmino y otras complicaciones obstétricas, por lo que en este grupo de pacientes está especialmente indicado aumentar la protección. En la Oncoguía de prevención de cáncer de cuello uterino de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) y las Guías de Práctica Clínica de la Asociación Española de Patología Cervical (AEPCC) recomiendan la vacunación con un nivel de evidencia alto en este subgrupo de pacientes⁹⁶.

3.2. Prevención secundaria: Cribado

El cribado es la estrategia que se ofrece a personas sin síntomas de una enfermedad y que permite identificar aquellas que tienen un riesgo de padecerla. No es una prueba diagnóstica sino un test que clasifica a las personas como “probables” o “improbables” de sufrir la enfermedad. Para que una enfermedad pueda ser sometida a estrategias preventivas de este tipo debe cumplir una serie de características⁹⁷:

- Tener una elevada prevalencia
- Representar un problema serio de salud para la comunidad
- Conocerse su historia natural
- Disponer de una técnica aplicable a grandes masas de población
- Disponer de una red asistencial capaz de dar respuesta a los casos detectados

Tan solo 3 neoplasias reúnen estas características: el cáncer de cérvix, el cáncer de mama y el cáncer colo-rectal.

El objetivo del cribado de cáncer de cérvix es detectar las lesiones premalignas asintomáticas que pueden ser tratadas, para evitar su progresión a carcinoma invasor y su mortalidad asociada.

El cribado poblacional es la mejor estrategia de cribado: tiene una estructura propia e independiente de la medicina asistencial y se realiza de forma periódica y continuada, con citación activa a todas las mujeres inscritas en el censo y con sistemas de rellamada a las pacientes que no acuden a la cita. Se basa en la Asistencia Primaria, y tiene protocolos de derivación a la Atención Especializada para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los casos detectados⁹⁸. El cribado poblacional permite alcanzar una cobertura mayor del 80% de las pacientes, y su aplicación de forma adecuada y sistemática en determinados países ha conseguido reducir en un 70-80% la incidencia y mortalidad por CCU⁹⁹. Tan solo 5 países en la Unión Europea realizan un

cribado poblacional del cáncer de cérvix: Finlandia, Luxemburgo, Holanda, Suecia y Reino Unido.

El resto de los países de la Unión Europea continúan realizando programas de cribado oportunistas. El principal defecto de éste es que no cumple el principio de equidad puesto que no cubre a la mujer que no acude al sistema sanitario, y no llega a alcanzar el 70-80% de la cobertura que se exige a cualquier programa de cribado para conseguir reducir la mortalidad¹⁰⁰. La capacidad del cribado oportunista para reducir la mortalidad del cáncer de cérvix es tan solo del 40%, muy por debajo del cribado poblacional¹⁰¹.

Se estima que más del 60% de las neoplasias de cérvix se diagnostican en mujeres sin cribado previo o con cribado inadecuado. Establecer una política de cribado poblacional debería ser una prioridad, tal como se expone en las *European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Screening*⁹⁶.

Recientemente el Ministerio de Sanidad, Servicios sociales e Igualdad ha encargado al Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, Osteba, la evaluación del impacto de la implantación de un programa de cribado poblacional de CCU siguiendo las recomendaciones europeas¹⁰². Se ha realizado un análisis económico de la implantación de la determinación de VPH como prueba primaria de cribado entre los 35 y los 65 años, al ser una prueba más sensible que la citología convencional para la detección de displasias cervicales severas. Según el informe, el coste estimado de esta nueva estrategia de cribado sería de 1.461.455€ para una población invitada de 117.343 y cribada de 100.000 mujeres entre 25 y 65 años. El coste de un programa oportunista como el actual para la misma población/año se estima en 1.235.000€. Se espera que esta modificación tenga gran repercusión en los laboratorios, ya que verán reducidas las citologías a expensas de un aumento de las pruebas de detección de VPH, por lo que se recomienda una transición gradual con un pilotaje en determinadas regiones.

3.2.1. Citología

Desde hace más de medio siglo se está utilizando la citología exo-endocervical como método de cribado en todo el mundo.

Este test fue inicialmente descrito por Aurel Babes en 1927¹⁰³, que presentó los resultados de un estudio realizado en células exfoliadas del cérvix uterino diagnosticando la presencia de células cancerígenas en gran parte de las muestras. Sin

embargo, Babes realizó más publicaciones al respecto, y fue Papanicolaou quien, en 1939 y mediante una investigación independiente, comprobó que las células cancerígenas pueden ser reconocidas mediante un estudio citológico. Fue entonces cuando introdujo el método en la práctica clínica, obteniendo resultados muy contundentes que publicó en 1941 de la mano del patólogo Herbert Traut. Este método se instauró con gran aceptación en la comunidad científica de Norte América, y de ahí se extendió al resto del mundo¹⁰⁴.

La citología estudia la morfología de las células exfoliadas procedentes de la mucosa exo- y endocervical^{105,106}. Estas células se transfieren a un portaobjetos, donde se fijan con un pulverizador y posteriormente se tiñen y observan al microscopio¹⁰⁷. Las células infectadas por VPH o las células preneoplásicas sufren alteraciones en el núcleo y citoplasma que modifican su aspecto microscópico normal.

Hoy día existe otra forma de toma de la muestra mediante la citología líquida, que aunque es más cara que la citología convencional, permite mejorar la precisión de la citología gracias a un método estandarizado que mejora la calidad de las muestras y permite analizar más muestras en menos tiempo. Además, el material citológico puede permanecer durante semanas en perfecto estado y ser utilizado para realizar estudios adicionales: estudios moleculares para detección del VPH¹⁰⁸ o inmunohistoquímicos para la determinación de p16/Ki67.

El espectro de anomalías del epitelio cervical es amplio, y varía desde lesiones leves con poca alteración celular hasta lesiones que afectan a todo su espesor. Papanicolaou en 1949 introduce el término de “discariosis” en citología y “displasia” en histología para definir dichos cambios. Posteriormente, en 1953, Reegan clasificó las lesiones en tres tipos en función del grado de afectación del epitelio: displasia (que a su vez puede ser leve, moderada o severa), carcinoma in situ y carcinoma invasor. Sin embargo con esta terminología existía gran desacuerdo sobre cuándo una lesión debía ser considerada displasia grave o carcinoma in situ¹⁰⁹.

Más adelante, en 1967, Richart propuso el término Neoplasia Intraepitelial Cervical (CIN, de sus siglas en inglés) con 3 grados progresivos (CIN 1, 2 y 3), incluyéndose en el CIN 3 las anteriormente denominadas displasias graves y el carcinoma in situ^{110,111}. Esta clasificación fue aceptada durante más de 20 años, hasta 1989, cuando el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos (NCI) propuso la implantación del sistema Bethesda, en el que se unificaron criterios y se adoptaron recomendaciones que la experiencia clínica aconsejaba. Esta clasificación fue difundida en 1988^{112,113}, mínimamente modificada en 1991, y actualizada finalmente en 2001¹¹⁴. La novedad de

este sistema fue la clasificación de las anomalías celulares en 2 grados: 1) lesiones de bajo grado englobando las alteraciones producidas por el VPH y el CIN 1; y 2) lesiones de alto grado que incluyen el CIN 2 y CIN 3. Además, incluye el concepto de “atipia escamosa indeterminada o no especificada” tanto de células escamosas como de células glandulares¹¹⁵.

Tabla 4: Cuadro comparativo de las diferentes clasificaciones de las alteraciones epiteliales

Displasia (Reagan 1957)	¿VPH?	Displasia leve	Displasia moderada	Displasia grave	CIS
CIN (Richart, 1967)	VPH	CIN 1	CIN 2	CIN 3	
Bethesda 1989, 2001	SIL BAJO GRADO (L-SIL)		SIL ALTO GRADO (H-SIL)		

El sistema Bethesda es útil en la práctica clínica porque diferencia las lesiones con elevada tasa de regresión (L-SIL o infecciones por VPH) de las que tienen elevada tasa de progresión (H-SIL)¹¹⁶. La tasa de regresión espontánea de L-SIL es del 60-90%, con una tasa de progresión a H-SIL del 5-10%¹¹⁷. El H-SIL a su vez tiene una tasa de progresión a carcinoma invasor del 30% a corto plazo y de hasta un 50% a largo plazo.

El sistema Bethesda clasifica las lesiones cervicales en:

- Negativo para lesiones intraepiteliales o malignidad. Si bien pueden describirse también:
 - Organismos celulares
 - Otros hallazgos no neoplásicos
- Anomalías celulares epiteliales
 - De células escamosas:
 - ASCUS: células escamosas atípicas de significado incierto
 - ASC-H: células escamosas atípicas son poder descartar lesión de alto grado
 - L-SIL: lesión intraepitelial escamosa de bajo grado, comprendiendo las alteraciones leves producidas por el VPH.
 - H-SIL: lesión intraepitelial escamosa de alto grado.
 - Carcinoma epidermoide
 - De células glandulares:
 - Atipia de células glandulares (ACG)
 - Endocervicales

- Endometriales
- Glandulares NOS (“Not Otherwise Specified”)
 - Adenocarcinoma endocervical in situ (AIS)
 - Adenocarcinoma
 - Endocervical
 - Endometrial
 - Extrauterino
 - No especificado (NOS – “Not Otherwise Specified”)
- Otras neoplasias malignas.

3.2.2. Controversias de la citología

A pesar de que la citología ha reducido la morbimortalidad por cáncer de cérvix, su sensibilidad para detectar lesiones varía del 30% al 87%, con un promedio de tan solo el 53%^{118,119,120}, lo que implica que una única determinación citológica no es capaz de detectar muchas de las lesiones epiteliales cervicales. Asimismo, posee una baja especificidad, con un elevado número de lesiones de bajo grado que requieren estudio y seguimiento, con los gastos sanitarios que ello conlleva. Además, su interpretación es subjetiva, y no detecta bien las lesiones glandulares precursoras, lo que hace que desde su implementación no solo no haya disminuido la incidencia del adenocarcinoma de cérvix sino que esté en aumento.

Todas estas limitaciones de la citología han promovido la búsqueda de otros sistemas de cribado más eficaces. Habiéndose demostrado ampliamente la estrecha relación causal entre la infección por VPH y el carcinoma cervical, es lógico pensar en la utilización de pruebas de detección del VPH como la alternativa al cribado con citología. Para ello, se han realizado numerosos estudios para validar el test de ADN-VPH frente a la citología.

En 2014 un grupo de expertos realizó una amplia revisión bibliográfica de la evidencia al respecto, para valorar la eficacia y seguridad de la detección del VPH frente al cribado con citología y determinar si el cribado mediante VPH puede considerarse una alternativa a los métodos convencionales con citología. En este mismo estudio se intentó también responder a otras cuestiones tales como el manejo de las mujeres con determinación de VPH positiva o la edad de inicio del screening¹²¹. Concluye que el screening mediante determinación de VPH con una periodicidad de 3 años supone un importante avance puesto que ofrece un mayor valor predictivo negativo de CIN 3 que la citología sola. En los casos positivos a VPH, propone realizar el genotipado de la muestra para remitir a colposcopia las pacientes positivas a los genotipos 16 o 18. En

las pacientes positivas a VPH AR distinto a 16 a 18 sugiere realizar una citología réflex, y remitir a colposcopia aquellas pacientes con citología alterada. Si la citología es normal, se realizaría un control a los 12 meses.

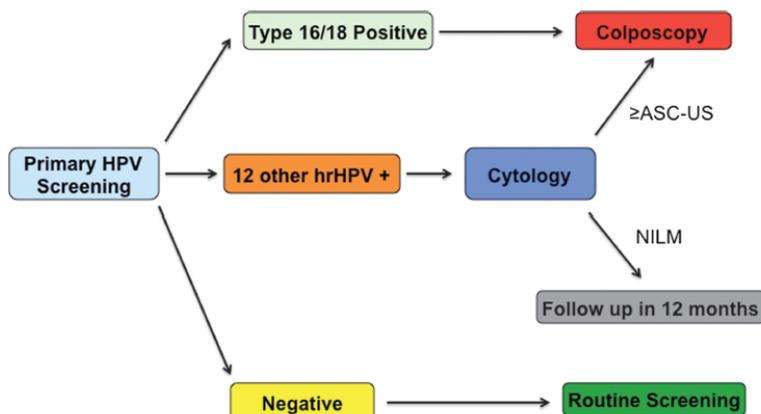


Figura 8: Recomendaciones del cribado primario con determinación de HPV. HPV: Virus del papiloma humano. hrHPV: Virus del papiloma humano de alto riesgo. ASC-US: Atipia celular de células escamosas de significado incierto. NILM: negativo para lesión intraepitelial o malignidad.

Este método de screening con HPV y selección de las pacientes con citología es más sensible en todos los grupos de edad que el screening únicamente con citología. Además en mujeres mayores de 35 es más específico, y disminuye la demanda de colposcopias, de citologías y de VPH de seguimiento^{122,123}.

Estas mismas recomendaciones han sido publicadas en España en abril de 2016 en el Documento de Consenso sobre el programa de cribado de cáncer de cérvix del Sistema Nacional de Salud (SNS). En dicho documento se mantiene la recomendación de realizar una citología entre los 25 y los 34 años, pero a partir de los 35 propone el cribado con determinación de VPH AR. Si éste resulta negativo, se repite la prueba VPH AR cada 5 años, mientras que si es positivo realizaremos un genotipado de la muestra o una citología: las pacientes con VPH 16 o 18 o con cualquier alteración citológica deben ser remitidas a colposcopia. Si el VPH AR es otro distinto al 16 o 18 o la citología es negativa, se realiza un control con VPH AR y citología al año (co-test).

3.2.3. Detección del VPH

La identificación del VPH ha sido hasta hace poco una prueba complementaria y/o alternativa al estudio citológico, indicada especialmente en los resultados dudosos de

la citología (ASCUS). Además se ha utilizado para el seguimiento post-tratamiento de las lesiones intraepiteliales cervicales.

Sin embargo, con las nuevas evidencias disponibles, parece que el test de VPH y la posterior selección de los casos positivos con citología es más sensible para detectar las lesiones precursoras (CIN 2-3) que la citología convencional sola^{124,125}. El riesgo de padecer lesiones de alto grado es más elevado en mujeres con VPH 16 o 18 que con el resto de VPH de AR¹²⁶, por lo que se recomienda derivar directamente a colposcopia a las pacientes positivas a VPH 16 o 18, aun cuando la citología es negativa¹²⁷.

Se ha comprobado también que la determinación del VPH es más efectiva que la citología a la hora de diagnosticar los adenocarcinomas de cérvix¹²⁸. Además, la detección del VPH tiene un elevado valor predictivo negativo, por lo que puede permitir alargar los periodos entre exploraciones¹²⁹, con la consiguiente reducción en el número de consultas a lo largo de la vida de las pacientes.

La principal desventaja de la prueba de VPH es su especificidad subóptima¹³⁰, que resulta en un mayor número de mujeres remitidas para una evaluación más detallada, lo que podría ser una limitación en entornos donde la colposcopia no está disponible¹³¹.

Métodos de detección e identificación del VPH

Existen diferentes métodos para detección del VPH basados en la detección del ADN vírico¹³²:

- 1) Hibridación de ácidos nucleicos
- 2) Hibridación + amplificación de señal: captura de híbridos
- 3) Amplificación de ácidos nucleicos:
 - a. Basados en la PCR convencional + sistema de identificación de VPH
 - b. Basados en la PCR en tiempo real
- 4) Detección de ARNm de E6 y E7

1) Hibridación de ácidos nucleicos: el método de hibridación in situ por fluorescencia (FISH) detecta secuencias específicas de ADN o ARN dentro de las células o tejidos¹³³, colocando una secuencia conocida (sonda) directamente sobre el espécimen. El ADN nuclear de la muestra es previamente desnaturalizado por calor y el tejido es tratado con una enzima que permite el acceso de la sonda al ADN¹³⁴. La sonda viene ligada a

una sustancia fluorescente, que puede ser observada mediante microscopio de fluorescencia.

Esta técnica permite la detección y localización de secuencias específicas de ácidos nucleicos dentro de las células o tejidos, con un alto grado de sensibilidad y especificidad.

La desventaja de este método es que es poco sensible, es laborioso y requiere grandes cantidades de ADN para que sea detectado.

2) Captura de híbridos: se trata de una técnica no radiactiva basada también en la hibridación del ADN del HPV a sondas de ARN. Los híbridos ADN-ARN son detectados mediante un anticuerpo específico y un sistema de quimioluminiscencia de alta sensibilidad. Sus principales ventajas son: la simplicidad, la rapidez, el bajo coste, la necesidad de poco volumen de muestra y la alta correlación clínica. Sin embargo, tiene una sensibilidad menor que las pruebas de PCR¹³⁵ y algunos tipos virales pueden presentar reactividad cruzada, lo que reduce su especificidad.

El sistema comercial *Digene HPV HC2 DNA Test* (Quiagen)[®] se basa en esta técnica. Utiliza 13 sondas para VPH AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) y 5 para VPH BR (6, 11, 42, 43, 44)¹³⁶. Su principal desventaja es que las sondas están agrupadas, por lo que no permite determinar el genotipo específico presente en la muestra ni distinguir las infecciones múltiples de las simples.

Este método fue el primero aprobado por la FDA (Food and Drug Administration, EEUU) y ha sido ampliamente utilizado en programas de cribado y en los estudios de investigación de las vacunas frente al VPH¹³⁷.

3) Sistemas basados en la amplificación de la secuencia de ADN mediante la técnica de PCR (Reacción de Polimerasa en Cadena): la técnica de PCR permite obtener, in vitro, un gran número de copias de un fragmento determinado de ADN partiendo de una muestra pequeña.

La PCR es el método más ampliamente utilizado debido a su elevada sensibilidad, ya que permite detectar entre 10-400 copias de ADN-VPH según los estudios. Hay que tener en cuenta que su elevada sensibilidad puede ser contraproducente en el caso del

diagnóstico de la presencia de VPH al detectar infecciones transitorias sin significación clínica.

3.1) PCR convencional asociado a un sistema de identificación de VPH

Se basa en la utilización de oligonucleótidos consenso o “primers”, que son secuencias de ADN complementarias a los extremos del fragmento a amplificar (generalmente un fragmento constante del gen L1 de la cápside viral en todos los VPH) y que actúan como cebadores de la reacción. Una vez obtenidas las múltiples copias del ADN a estudiar, se analizan mediante una técnica complementaria que permita identificar el genotipo vírico específico¹³⁸:

- Secuenciación de ADN: el análisis de la secuencia es el método *Gold Standard* para la identificación del tipo de VPH permitiendo la identificación de todos los tipos descritos, posibles mutaciones existentes y tipos no caracterizados o reportados recientemente. Es relativamente laboriosa y costosa, por lo que requiere personal experimentado en el procedimiento.

- Análisis de fragmentos de restricción (RFLP): Es un método basado en el tratamiento del producto de la amplificación con un conjunto de endonucleasas de restricción y en la identificación de patrones de restricción específicos. Es un método que permite discriminar entre un amplio espectro de tipos víricos, pero tiene baja sensibilidad.

- Métodos basados en la hibridación genómica: Consiste en la unión del producto de amplificación marcado químicamente a sondas de ADN específicas de los diferentes genotipos víricos. Permite detectar infecciones múltiples en un solo ensayo y es metodológicamente sencillo. Como desventaja, presenta hibridación cruzada entre tipos virales muy similares. Algunos de los sistemas más utilizados se explican brevemente a continuación:

El *InnoLIPA® HPV Genotyping extra* de Fujirebio Europe detecta 28 tipos de HPV: los tipos de alto riesgo 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 y los de bajo riesgo 6, 11, 40, 43, 44, 54, 70, 69, 71, 74.

Genomica dispone del sistema comercial *CLART® HPV4*, capaz de detectar de forma individual 35 genotipos de VPH.

Linear Array Genotyping test de Roche Molecular Diagnostics detecta 37 tipos de AR y BR (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 (MM9), 81, 82 (MM4), 83 (MM7), 84 (MM8), IS39, y

CP6108)¹³⁹. Esta misma casa comercial posee el método *AMPLICOR® Human Papillomavirus Test* para 13 genotipos de VPH AR: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68.

3.2) PCR a tiempo real

La PCR a tiempo real es una variante de la PCR convencional que permite cuantificar el producto amplificado utilizando sondas marcadas con fluoróforos que emiten fluorescencia. A mayor cantidad de muestra (ADN viral), antes se detecta la señal de inmunofluorescencia que ésta emite.

En abril del 2011 el test de Roche Diagnostics *Cobas-HPV test* fue aprobado por la FDA para la detección de VPH de alto riesgo. Este test detecta 14 tipos de VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) permitiendo diferenciar los genotipos 16 y 18 del resto de los VPH AR. Sus principales ventajas son: mayor especificidad que el test HC2^{136,140}, sencillez de realización al ser una prueba totalmente automatizada y rapidez de obtención de resultados, capacidad de análisis de un gran número de muestras y falta de reactividad cruzada con genotipos no carcinogénicos¹⁴¹. Además permite realizar el análisis en muestras de citología líquida. Actualmente es el único test validado por la FDA para ser utilizado como de primera línea en el cribado del cáncer de cérvix en mujeres mayores de 25 años¹⁴².

Otro test que utiliza la PCR a tiempo real es de la casa Abbott, *RealTime High Risk HPV*, que presenta las mismas características que el anterior.

4) Detección de ARNm de las proteínas E6 y E7: este método se diferencia de los anteriores en que no sólo detecta el ADN viral sino que brinda información sobre las infecciones en las que hay una elevada expresión de los genes E6 y E7, esto es, las infecciones productivas en las que hay mayor probabilidad de progresión a cáncer. Por ello, permiten determinar no sólo la presencia del virus, sino además su potencial oncogénico.

De acuerdo a las investigaciones realizadas hasta el momento, la detección del ARN mensajero (ARNm) de los oncogenes E6 y E7 es un biomarcador con gran futuro¹⁴³:

Estos métodos son menos sensibles que los test de detección de ADN pero son más específicos^{144,145}, por lo que podrían ser de utilidad en pacientes positivas a VPH para reducir el número de colposcopias a realizar.

Existen diferentes tests disponibles para la detección de oncogenes E6/E7: *PreTect HPV-Proofer*[®] de NorChip (Noruega), *NucliSens EasyQ*[®] de BioMérieux (Francia) y *APTIMA*[®] de Hologic (EEUU). Los dos primeros detectan el ARNm de los oncogenes E6 y E7 de los genotipos 16, 18, 31, 33 y 45. El último es capaz de detectar los oncogenes de 14 genotipos de VPH (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). Algunos estudios sin embargo demuestran que la detección de RNA E6/E7 es menos sensible que la detección del ADN, por lo que puede infradiagnosticar displasias en estadios iniciales. Por el momento las guías de recomendaciones actuales no incluyen este test como test primario de cribado de cáncer de cérvix¹⁴⁶.

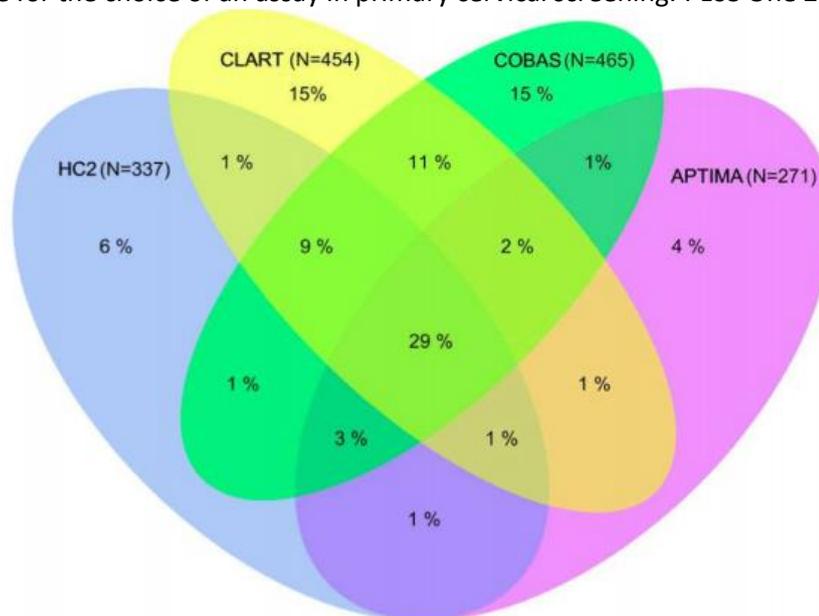
Concordancia y discrepancias de los tests

Existen muchos tests disponibles para la detección de VPH, pero se han observado discrepancias entre ellos: aunque todos los métodos presentan una proporción de muestras positivas parecidas, los diferentes métodos pueden detectar como positivas para el VPH a diferentes mujeres¹⁴⁷. En el estudio de Rebolj en 2014 se analizaron 5064 muestras con cuatro métodos diferentes: HC2, Cobas, CLART y APTIMA. El 33,2% fue positivo en al menos uno de los tests y entre ellas, el 41% resultó positiva en los cuatro. La concordancia fue menor en las pacientes de 30 años o más (30% frente al 49% en menores de 30 años), en la detección de VPH como primera prueba de cribado (29% frente al 38% en las muestras de seguimiento) y en mujeres con citología normal (22% frente al 68% en mujeres con alteraciones citológicas).

La elección del método es por tanto un factor determinante a la hora de establecer la prueba de VPH como método inicial de cribado, y también en el seguimiento de las pacientes con citología normal.

Figura 9: Comparación en las muestras para detección de VPH de pacientes entre 30-65 años. Discordancia entre los métodos HC2, Cobas, CLART y APTIMA.

Fuente: Rebolj M y cols. Disagreement between human papillomavirus assays: an unexpected challenge for the choice of an assay in primary cervical screening. PLoS One 2014;9(1):e86835.



Secuenciación masiva del ADN

Como hemos visto, los métodos utilizados para detectar los genotipos del VPH presentan discrepancias entre ellos. Esto nos lleva a buscar nuevas técnicas que mejoren la detección de genotipos, subtipos, actividad transcripcional del virus... Parece que la secuenciación masiva o Next-Generation Sequencing puede ofrecer ventajas frente al resto de métodos, puesto que permite¹⁴⁸:

- Detectar las mutaciones/deleciones útiles para clasificar a los genotipos del VPH en diferentes linajes
- Detectar nuevos genotipos del VPH no descritos hasta la fecha.
- Cuantificar la cantidad relativa de cada genotipo viral en las infecciones múltiples.

3.3. El cribado hoy en día en España

Actualmente en España no existe una política común de cribado del cáncer de cérvix, sino que se siguen estrategias diferentes en cada comunidad autónoma. La mayoría de los cribados son oportunistas. Las recomendaciones generales para el cribado de cáncer de cérvix de la SEGO y de la AEPC son las siguientes:

Figura 10: Recomendaciones de Cribado. AEPCC guía: Prevención del cáncer de cuello de útero. Publicaciones AEPCC, Noviembre 2015.

Población diana y estrategia de cribado		Calidad de la evidencia	Recomendación
Mujeres que han iniciado su actividad sexual y con edad comprendida entre los 25 y 65 años de edad		Moderada	Fuerte a favor
El cribado, independientemente de la prueba utilizada, debería garantizar una propuesta de base poblacional con mecanismos de evaluación de cobertura		Moderada	Fuerte a favor
Edad	Prueba de cribado		
Antes de los 25 años	• Ninguna prueba de cribado	Moderada	Fuerte a favor
Entre 25 y 30 años	• Citología cervical cada 3 años	Alta	Fuerte a favor
Entre 30 y 65 años	• Prueba VPH cada 5 años. (opción preferente)	Alta	Fuerte a favor
	• Prueba VPH y citología (co-test) cada 5 años. (opción aceptable)	Baja	Débil a favor
	• Citología cada 3 años. (opción aceptable)	Moderada	Débil a favor
A partir de los 65 años	• Finalizar cribado Cribado previo adecuado y negativo (10 años) y no CIN o CCU (20 años)	Moderada	Fuerte a favor
Histerectomía (No CIN ni CCU previos)	• Ninguna prueba de cribado	Alta	Fuerte a favor
Antecedentes de lesión \geq a HSIL/CIN2	• Cribado al menos 20 años	Moderada	Fuerte a favor
Inmunodeprimidas	• Citología a partir de los 21 años	Baja	Fuerte a favor
	• Co-test a partir de los 30 años	Baja	Fuerte a favor
Obtención de muestras de cribado			
Citología en medio líquido			Preferente
Citología, extensión en portaobjetos			Aceptable
Pruebas moleculares, otros medios			Aceptable
Actuación ante una prueba de cribado anormal			
Prueba VPH	• Citología "réflex" si medio líquido	Aceptable	
Citología	• Prueba VPH o Colposcopia (Protocolo específico)	Aceptable	

VPH: virus del papiloma humano; CIN: neoplasia intraepitelial cervical; HSIL: lesión escamosa intraepitelial de alto grado; CCU: cáncer de cuello de útero)

```

graph TD
    A["< 25 años"] --> B["No cribado"]
    C["25-30 años"] --> D["Citología cada 3 años"]
    E["30-65 años"] --> F["Citología cada 3 años*"]
    E --> G["Prueba VPH cada 5 años"]
    E --> H["Co-test cada 5 años**"]
    I["> 65 años"] --> J["Finalizar cribado  
• 3 citologías negativas  
• 2 pruebas VPH o co-test negativos  
• No antecedentes de CIN en 20 años previos"]
  
```

* Aunque la citología cervical exclusiva en el cribado primario continua vigente, siempre que se cumplen los controles de edad perceptivos, la transición a cribado con prueba de VPH deberá ser un objetivo alcanzable en el plazo de 3-5 años para todos los ámbitos del cribado primario del cáncer de cuello uterino. Esta recomendación se justifica en base a la ganancia en calidad y validez del cribado.

** Globalmente, el cotest no añade mejor rendimiento y eficacia a la prueba de VPH AR como método único y conlleva un mayor gasto de recursos. La elección del cotest debe tener una finalidad transitoria mientras se incorpora e implementa la tecnología para la detección del VPH.

3.4. El cribado en el País Vasco

Actualmente en el Sistema Sanitario Público Vasco (Osakidetza) el cribado de cáncer de cuello uterino continúa realizándose mediante citología trienal.

En marzo 2016 se creó un grupo de trabajo para organizar el cribado de cáncer de cérvix de acuerdo a las recomendaciones de las distintas organizaciones: Recomendaciones Europeas, Documento de consenso sobre el programa de cribado de cáncer de cérvix en el SNS elaborado por el Grupo de Trabajo del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, Red de Programas de Cribado de Cáncer, Guía de Cribado elaborada conjuntamente por varias sociedades científicas (SEGO, AEPCC, SEAP y SEC) y documento de evaluación del impacto económico realizado por Osteba.

Las recomendaciones de este grupo de trabajo están aún pendientes de publicación pero ya se han comenzado a aplicar en Gipuzkoa y Araba y están pendientes de realizarse en Bizkaia. En la OSI Bilbao-Basurto dicho programa sustituirá al programa vigente en la actualidad desde Julio 2013.

La mayor parte de la ejecución de este programa recae sobre los centros de salud, y fundamentalmente sobre las matronas.

Incorpora tres novedades:

- la detección del VPH AR cada 5 años como prueba primaria en mujeres de 35 años o más, en vez de la citología cada 3 años.
- la generalización del medio líquido para la recogida de las muestras en toda la red.
- la centralización de todas las muestras del País Vasco en un nuevo laboratorio ubicado en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Donostia.

Todas las peticiones estarán informatizadas, lo que permitirá que todas las muestras de cribado lleguen al laboratorio con una identificación electrónica ligada a la historia clínica correspondiente y conocer la situación del cribado en cada paciente en concreto. Aunque continuará siendo un programa oportunista, estará reforzado por medidas de información y de recuerdo a las pacientes que no han participado, para lograr una mayor cobertura. Con ello es previsible un aumento de demanda de colposcopias y conizaciones en los próximos años.

En las pacientes vacunadas las recomendaciones por el momento no han variado respecto al resto de la población, si bien a medida que avance el conocimiento científico es probable que se realicen cambios en las recomendaciones teniendo en cuenta esta condición.

4. Diagnóstico y tratamiento del CIN y del CCU

4.1. Colposcopia

Las citologías y la determinación del VPH permiten realizar un cribado de las pacientes con alta probabilidad de lesiones epiteliales cervicales, pero no permiten realizar un diagnóstico. Es la colposcopia quien desempeña un papel fundamental en el diagnóstico y la orientación terapéutica de las lesiones premalignas o inicialmente invasivas de cérvix, vagina y vulva, en el contexto de la prevención del cáncer del tracto genital inferior de la mujer.

La colposcopia fue introducida por Hinselmann en 1925¹⁴⁹ y desde entonces ha variado muy poco en su equipamiento básico: una potente iluminación centrada en el campo de exploración y una lupa binocular, con un aumento que oscila entre 10 y 40 veces. La mayoría de los colposcopios tienen un filtro verde que puede intercalarse al paso de la luz para facilitar el estudio de la vascularización del cérvix. Los sistemas más modernos disponen de una cámara que permite realizar la exploración visualizándola en una pantalla.

Tras la exposición del cuello con un espéculo, deben estudiarse los vasos con ayuda del filtro verde, antes de la aplicación del ácido acético que es un agente vasoconstrictor. Posteriormente se impregna el cuello uterino con una solución de ácido acético, que tiene una acción mucolítica y resalta las características del epitelio atípico. A continuación se aplica una solución de Lugol o test de Schiller, que permite también identificar características del epitelio inapreciables a simple vista. Terminada la exploración se realizan las biopsias necesarias con pinza de sacabocados, siempre dirigiendo la toma con la visión colposcópica. El colposcopista experimentado es así capaz de precisar la localización de las lesiones y sus límites, definir la situación de la zona de transformación del cuello, dirigir las biopsias y planificar un tratamiento efectivo lo más conservador posible.

Las anomalías en la citología de cribado y la presencia de VPH constituyen las principales indicaciones de la colposcopia. Es una técnica muy sensible para la detección de lesiones cervicales precursoras pero es poco específica, puesto que las

imágenes colposcópicas anormales no siempre corresponden a lesiones intraepiteliales. Sin embargo esta mayor sensibilidad a expensas de menor especificidad es aceptable, puesto que identificar todas las lesiones que pueden ser neoplásicas es más importante que no diagnosticarlas. Su porcentaje de falsos negativos es inferior al 10%, donde la exploración colposcópica podría hacer pasar por alto una lesión invasiva o microinvasiva¹⁵⁰. Sin embargo los nuevos equipos con cámaras de mayor calidad e imágenes más precisas, hacen que esta situación resulte cada vez menos frecuente.

Los hallazgos colposcópicos se describen de acuerdo la terminología revisada y aprobada por todos los miembros del comité de la Federación Internacional de Patología Cervical y Colposcopia (IFCPC) en el Congreso mundial que tuvo lugar en Río de Janeiro en 2011¹⁵¹ (Tabla 5).

Tabla 5: Nueva clasificación de la colposcopia del cérvix propuesta por la IFCPC, Rio 2011.

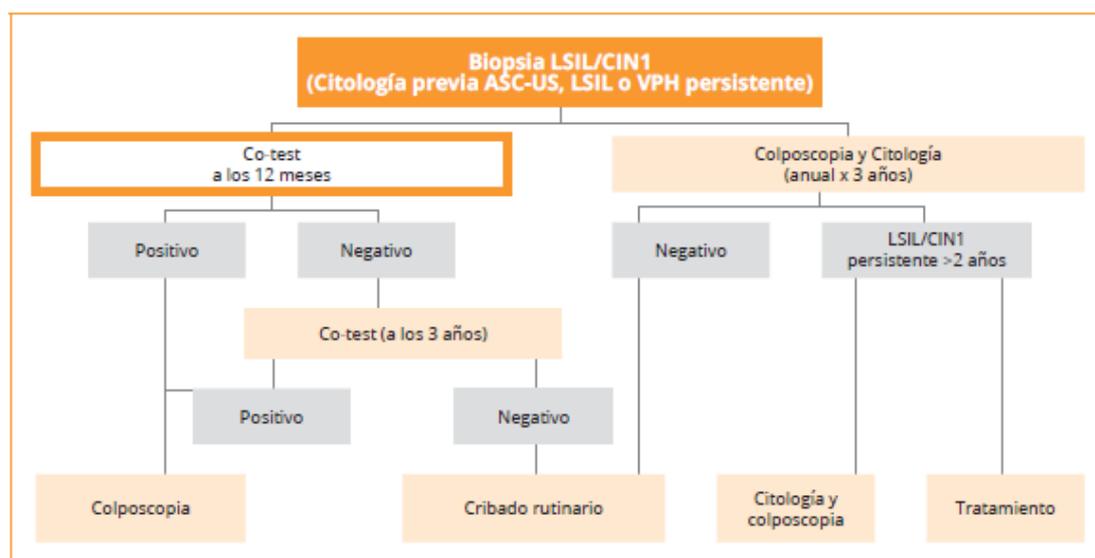
Sección	Patrón
Valoración general	Adecuada o inadecuada (p.ej: debido a sangrado, inflamación, cicatrización...) Visibilidad de la unión escamocolumnar: completamente visible, parcialmente visible, no visible Zona de transformación tipo 1, tipo 2, tipo 3
Hallazgos colposcópicos normales	Epitelio escamoso original: maduro, atrófico Epitelio columnar: ectopia Epitelio metaplásico escamoso, quistes de Naboth, orificios glandulares Deciduosis en el embarazo
Hallazgos colposcópicos anormales	Localización de la lesión: dentro o fuera de la zona de transformación y localización horaria Tamaño de la lesión: número de cuadrantes del cérvix que ocupa y porcentaje del cérvix Cambios grado 1 (menores): mosaico o punteado fino, epitelio acetoblanco fino, bordes irregulares y geográficos Cambios grado 2 (mayores): borde abrupto o sobreelevado, reborde interior, epitelio acetoblanco denso, mosaico y punteado gruesos, aparición rápida de imagen, orificios glandulares con halo grueso No específicos: epitelio columnar (adenosis), leucoplasia (queratosis, hiperqueratosis), erosión
Sospecha de invasión	Vasos atípicos Otros signos: vasos frágiles, superficie irregular, lesión exofítica, necrosis, ulceración, tumor
Hallazgos misceláneos	Zona de transformación congénita, condiloma, pólipos (endo- o ectocervicales), quistes, inflamación, estenosis, hallazgos postratamiento, endometriosis, erosión (p. ej: traumática)

4.2. Tratamiento de las lesiones intraepiteliales cervicales

Las CIN son lesiones asintomáticas, por lo que su tratamiento sólo está justificado para evitar su evolución hacia un cáncer.

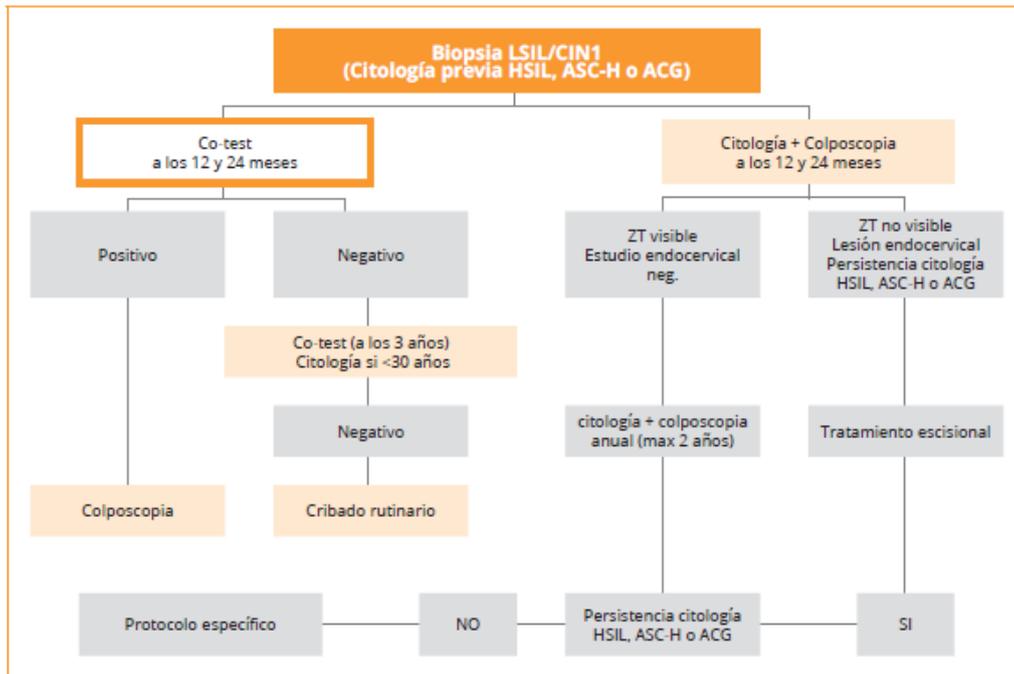
A la hora de establecer la actitud terapéutica, el resultado citológico inicial es un dato muy importante a tener en cuenta. Según las últimas recomendaciones de la SEGO en su Oncoguía para la Prevención del Cáncer de Cuello Uterino de 2014, ante un resultado histológico de CIN 1 tras una alteración citológica leve o una citología normal con VPH AR positivo, la actitud a seguir es la realización de controles periódicos con citología y determinación de VPH, debido la alta probabilidad de regresión espontánea de la lesión (Figura 11). El tratamiento se reservaría para casos persistentes durante 2 o más años, aunque también se permite continuar realizando seguimiento mediante co-test anual.

Figura 11: Algoritmo a seguir frente a CIN 1 precedido de alteraciones citológicas leves.



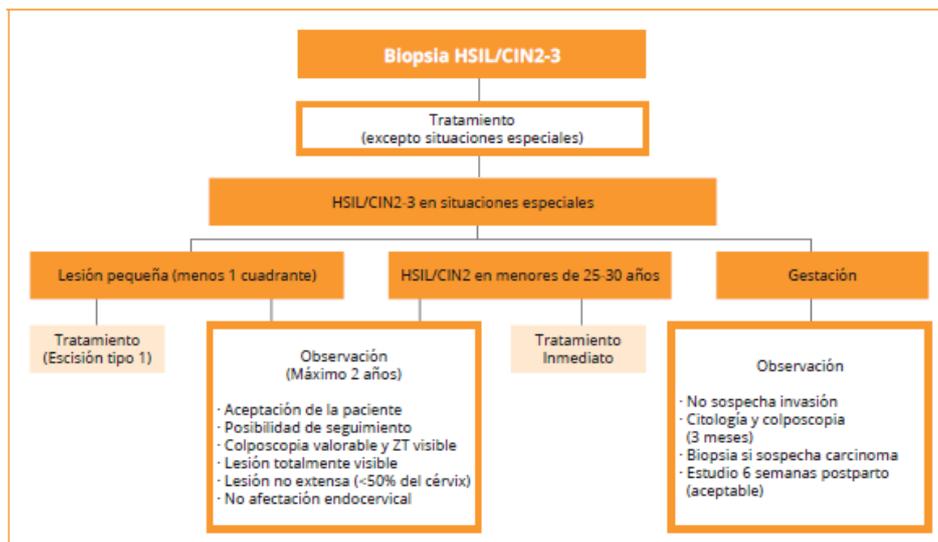
Ante un resultado histológico de CIN 1 tras una alteración citológica grave, las últimas recomendaciones también proponen la realización de controles durante un máximo de 2 años, siempre que la colposcopia sea satisfactoria y en ausencia de lesión endocervical, si bien el tratamiento de la lesión también está aceptado (Figura 12).

Figura 12: Algoritmo a seguir frente a CIN 1 precedido de alteraciones citológicas graves



Sin embargo, en las lesiones histológicas de alto grado (CIN 2-3) la actitud a seguir es el tratamiento de las pacientes, puesto que estas lesiones tienen un potencial de progresión mayor. La actitud expectante con controles seriados estrictos se reserva en estos casos para situaciones especiales con pacientes jóvenes o lesiones pequeñas (Figura 13).

Figura 13: Algoritmo a seguir frente a una biopsia CIN 2-3



Se distinguen dos categorías de métodos terapéuticos: los métodos destructivos y los métodos escisionales. Estos tratamientos se realizan generalmente mediante control colposcópico directo, adaptándose a las características de la lesión y a la morfología cervical, destruyendo o resecaando tanto la lesión como la zona de transformación al completo. Debe realizarse por tanto un tratamiento completo, intentando siempre conservar el máximo epitelio y estroma sanos para preservar la función del cuello (fecundación, mantenimiento del embarazo y parto a término) y para evitar los problemas funcionales.

4.2.1. Métodos destructivos

La gran desventaja de estos métodos es la ausencia de pieza quirúrgica y la imposibilidad de realizar un estudio histológico, por lo que no es posible establecer con exactitud la gravedad de la lesión ni si se ha eliminado de forma completa y, más particularmente, si existe algún foco microinvasivo o invasivo oculto no identificado previamente. No hay que olvidar que el 0,5-8% de los cánceres se descubren en el estudio de las piezas de resección^{152,153}. Para limitar este riesgo, el tratamiento destructivo sólo debe llevarse a cabo en ausencia de signos de gravedad colposcópica, para lesiones leves de pequeño tamaño totalmente visibles y en caso de colposcopia satisfactoria.

Electrocoagulación: Se basa en la fulguración o la coagulación de los tejidos por el paso de una corriente de alta frecuencia, realizando una destrucción amplia bien en superficie o bien en profundidad mediante el uso de un terminal de punta que se puede introducir hasta 7 mm, pero sin precisión ni control. Se trata de un método poco costoso. Como desventajas, presenta en ocasiones dificultad para la cicatrización y retracciones tisulares.

Congelación celular por crioterapia: se realiza una crionecrosis de los tejidos con la aplicación de una crisonda durante unos 3 minutos en dos fases separadas por un intervalo de 5 minutos, para optimizar la técnica. Es una técnica muy sencilla y que no requiere anestesia, y en la actualidad es el tratamiento más utilizado en los países en vías de desarrollo¹⁵⁴. Además, presenta un bajo riesgo de hemorragia intraoperatoria. Sus principales inconvenientes son la ausencia de control de la profundidad de la destrucción y la dificultad de aplicación de las criosondas en algunas situaciones clínicas.

Vaporización con láser: La destrucción tisular se obtiene mediante un haz luminoso monocromático infrarrojo, unidireccional y de alta densidad de energía, que provoca una vaporización tisular debida a la ebullición de las moléculas de agua en las células. La baja propagación de la energía limita las lesiones térmicas a 1-5 mm y favorece la precisión del procedimiento y la calidad de la cicatrización. Esta precisión permite utilizarla también para tratar las lesiones vaginales. El coste del material y del mantenimiento es el principal inconveniente del tratamiento con láser^{155,156}.

4.2.2. Métodos escisionales

Los métodos de resección tienen la ventaja de proporcionar una pieza quirúrgica cuyo estudio anatomopatológico permite confirmar el carácter completo del tratamiento y evita pasar por alto los cánceres invasivos o microinvasivos subestimados en el estudio colposcópico inicial.

Conización con bisturí frío, bisturí eléctrico con punta fina o con láser: consiste en extirpar un “cono” del cuello que puede realizarse con un bisturí frío de hoja acodada o con láser.

- La *conización con bisturí frío* ha sido durante muchos años el tratamiento de referencia de las lesiones intraepiteliales¹⁵⁷. Tiene la ventaja de obtención de lechos de resección sin artefactos que permiten un análisis histológico de calidad, sin artefactos térmicos. Su principal desventaja es la hemorragia^{158,159}.

- La *conización con bisturí eléctrico* se realiza con la punta fina, seccionando y realizando hemostasia a la vez, lo que evita el uso de suturas sobre el cuello. Se reserva para las resecciones profundas con zona de transformación tipo 3.

- La *conización con láser* permite una sección muy precisa adaptada al tamaño y a la topografía de la lesión, con una difusión térmica menor de 0,5 mm de profundidad. Sin embargo provoca lesiones térmicas periféricas (artefactos) que dificultan el análisis anatomopatológico de los márgenes de resección de forma mucho más frecuente que en la resección con asa de diatermia¹⁶⁰. Se puede realizar bajo anestesia local y el efecto del haz láser suele permitir una hemostasia suficiente, acortando la intervención.

Resección con asa de diatermia: Las conizaciones con asa de diatermia han sustituido casi por completo a las que se realizan con bisturí frío o con láser, debido al bajo coste

y a la sencillez de la técnica¹⁶¹. En la literatura anglosajona se emplea el acrónimo LLETZ (*Large Loop Excision of the Transformation Zone* o escisión con asa grande de la zona de transformación). En la mayoría de los casos se puede realizar bajo anestesia local en la consulta de forma ambulatoria.

La resección se realiza en modo corte, en un solo movimiento, a velocidad constante e idealmente en sentido lateral¹⁶². Los sistemas disponibles actualmente realizan la sección con pocas alteraciones térmicas de los bordes, lo que facilita la lectura histológica. Una vez realizada la resección, si es necesario se efectúa la hemostasia mediante cauterización con un electrodo de bola, procurando no cauterizar el conducto endocervical.

La resección de un fragmento del cérvix disminuye la longitud cervical y puede asociarse con complicaciones obstétricas: aumento del riesgo de parto prematuro y/o recién nacidos de bajo peso. Nuestro grupo realizó un estudio multicéntrico para determinar si las pacientes con una conización con asa de diatermia (LLETZ) tenían mayor probabilidad de parto prematuro en los embarazos siguientes. Se concluyó que una sola conización no aumenta el riesgo de parto pretérmino, comparado con pacientes que habían tenido un parto y en años posteriores se realizaba esta intervención. Sin embargo las pacientes a las que se ha realizado una conización y pacientes con alteraciones por VPH, tienen significativamente mayor riesgo de parto prematuro que la población general¹⁶³. Estos datos han sido confirmados en un meta-análisis posterior donde se concluyó que el riesgo de parto pretérmino en pacientes conizadas era similar a las pacientes no conizadas con alteraciones por VPH¹⁶⁴.

Histerectomía: no debe utilizarse nunca como tratamiento de primera elección puesto que conlleva un riesgo de tratamiento incompleto en caso de lesiones microinvasivas o invasivas que se han pasado por alto en el estudio preoperatorio y no garantiza ni la ausencia de recidivas vaginales ni la aparición de un cáncer de vagina, cuyo diagnóstico puede resultar más difícil, sobre todo a nivel de los extremos de la zona de sección vaginal^{165,166}. Este procedimiento puede proponerse como tratamiento de segunda línea en las lesiones ginecológicas asociadas o cuando el tratamiento del cuello ya no es posible por conizaciones previas.

Tabla 6: Resumen de las ventajas e inconvenientes de los distintos tratamientos de las lesiones intraepiteliales del cuello uterino

Fuente: Carcopino X y cols. Tratamiento de las neoplasias intraepiteliales del cuello uterino: láser, crioterapia, conización, resección con asa de diatermia. Enciclopedia Médico Quirúrgica, Elsevier Masson 2012.

Cuadro 1.

Resumen de las ventajas e inconvenientes de los distintos tratamientos de las lesiones intraepiteliales del cuello uterino.

	Tratamiento destructivo			Tratamiento ablativo	
	Vaporización con láser	Crioterapia	Conización quirúrgica	Conización con láser	Resección con asa
Realización con control colposcópico directo	Sí	No	No	Sí	Sí
Anestesia	Ninguna	Ninguna	General	Local o general	Local
Eficacia	Equivalente	Equivalente	Equivalente	Equivalente	Equivalente
Sencillez	Equipamiento adecuado	Tratamiento más barato y más sencillo	Quirófano	Equipamiento adecuado Quirófano	Sencilla y rápida Quirófano
Volumen destruido o reseado	Adecuado Posibilidad de un procedimiento «a medida»	Aleatorio	Por lo general, considerable	Por lo general, considerable	Adecuado Posibilidad de un procedimiento «a medida»
Análisis histológico para un diagnóstico de certeza	No Riesgo de pasar por alto una lesión microinfiltrante Mínimo	No Riesgo de pasar por alto una lesión microinfiltrante Mínimo	Sí	Sí	Sí
Dolor intraoperatorio	Infrecuentes	Infrecuentes	-	Más intenso	Mínimo
Hemorragia intra- y postoperatoria	No	No	Infrecuentes, pero posibles hasta 4 semanas tras la intervención	Infrecuentes, pero posibles hasta 4 semanas tras la intervención	Infrecuentes, pero posibles hasta 4 semanas tras la intervención
Morbilidad obstétrica	No	No	Sí Parto prematuro Bajo peso al nacer (<2.500 g) Parto por cesárea	No	Sí Parto prematuro Bajo peso al nacer (<2.500 g) Rotura prematura de membranas
Morbilidad neonatal	No	No	Sí Mortalidad perinatal Prematuridad grave (<34 SA) y extrema (<30 SA) Bajo peso al nacer (<2.000 g) Posible	Sí Bajo peso al nacer (<2.000 y <1.500 g)	No
Riesgo de colposcopia insatisfactoria	No	No	Posible	Posible	Posible

4.2.3. Resultados terapéuticos

El tratamiento de las lesiones presenta unas tasas de éxito superiores al 90%, con independencia del método utilizado^{167,168}. La resección con asa de diatermia, que constituye el método terapéutico más usado en la actualidad, permite obtener tasas de curación del 80-95%, según los autores, con una duración media del seguimiento de 10-20 años¹⁶⁹. El factor que mayormente influye en la tasa de éxito es el carácter completo o no de la resección. Por ello es muy importante la realización del tratamiento bajo control colposcópico directo, reseccando toda la lesión y la zona de transformación. Se ha observado que cuando existe lesión residual el riesgo relativo de presentar una lesión de alto grado es de 6,09 (IC 95%: 3,87-9,6), es decir, del 18 % frente al 3% que se observa cuando los márgenes no están afectados¹⁷⁰.

La frecuencia de la afectación de los márgenes de resección varía según varios estudios entre el 9 y el 42% (Tabla 7), pero el diagnóstico de márgenes afectados no equivale al de lesiones residuales (Tabla 8). Hasta en el 62-91% de los casos con márgenes afectados hay una ausencia de lesión residual, probablemente por los efectos tisulares inducidos por el asa eléctrica o el rayo láser, o por el proceso de cicatrización que puede modificar la historia natural de una pequeña lesión residual. Además, la coagulación que suele efectuarse de forma hemostática en la base y los bordes del lecho escisional puede destruir una posible lesión residual en los márgenes.

Tabla 7: Tasa de márgenes de resección afectados y de lesión residual después del tratamiento de las neoplasias intraepiteliales por conización mediante asa de diatermia.

Fuente: Carcopino X y cols. Tratamiento de las neoplasias intraepiteliales del cuello uterino: láser, crioterapia, conización, resección con asa de diatermia. EMC Ginecología – Obstetricia, 2012.

Autores	Número de pacientes (n)	Duración media del seguimiento (meses)	Tasa de márgenes de resección afectados (%)	Tasa de lesión residual (%)
Houfflin Debarge ¹⁷¹	205	15	36	15
Johnson ¹⁷²	682	30	32	17
Skinner ¹⁷³	456	24	39	13
Alonso ¹⁷⁴	201	20	33	20
Mints ¹⁷⁵	148	6	9	10
Lu ¹⁷⁶	449	12	30	14
Verguts ¹⁷⁷	72	24	19	10
Manchanda ¹⁷⁸	92	72	33	13
Das ¹⁷⁹	89	24	26	5
Woo ¹⁸⁰	967	46	42	17

Tabla 8: Tasa de lesiones residuales tras una conización mediante asa de diatermia en función de la afectación de los márgenes.

Autores	Número de pacientes <i>n</i>	Tasa de lesiones residuales (%)	
		<i>Márgenes afectados</i>	<i>Márgenes sanos</i>
Houfflin Debarge	205	27	5
Johnson	682	9	4
Skinner	456	21	6
Alonso	201	36	12
Mints	148	38	7
Lu	449	35	5
Verguts	72	14	7
Tyler	270	54	5
Manchanda	92	32	8
Das	89	20	0
Woo	967	26	12

Al contrario, las lesiones residuales tras una supuesta resección completa se observan en el 0,4-12%. Esto puede explicarse por la dificultad de la interpretación histológica de los márgenes por los efectos tisulares producidos por el asa eléctrica o el láser, por la fragmentación excesiva de la pieza o el análisis de un número insuficiente de bloques¹⁸¹.

5. *Chlamydia trachomatis*

5.1. Microbiología

La *Chlamydia trachomatis* (CT) es un coco gramnegativo aerobio. Es esférico e inmóvil y no dispone de los mecanismos moleculares necesarios para generar energía, por lo que es un parásito intracelular obligado.

Se han identificado 20 serotipos de CT, que causan diferentes patologías en el ser humano¹⁸²:

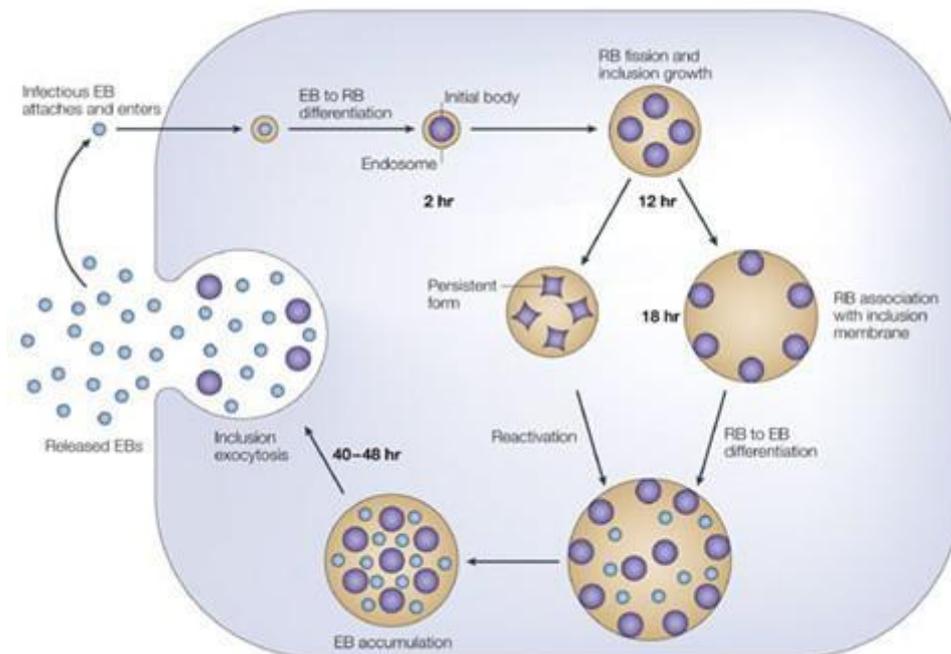
- A, B, Ba y C: causantes del tracoma ocular.
- D, E, F, G, H I, J, K: producen infecciones perinatales y enfermedades de transmisión sexual.
- L1, L2 y L3: se asocian al linfogranuloma venéreo o enfermedad de Nicholas-Favre y a la proctitis hemorrágica

La CT puede presentarse en dos formas:

- Los cuerpos elementales (CE): son estructuras redondeadas pequeñas (entre 200 y 400 nm), capaces de sobrevivir en medio externo aunque son metabólicamente inactivos. Tienen capacidad infectiva ya que presentan antígenos que inducen la fagocitosis por parte de las células huésped¹⁸³.
- Los cuerpos reticulados (CR): tienen una morfología bacilar y son el resultado de la diferenciación de los CE al ser fagocitados, por lo que son intracelulares. No son infecciosos pero tienen actividad metabólica y son capaces de replicarse¹⁸⁴.

Figura 14: Ciclo replicativo de la *Chlamydia trachomatis*.

La *Chlamydia trachomatis* penetra en la célula en su forma infecciosa o CE. En el interior de la célula se reorganiza en un cuerpo más grande (CR) y se divide varias veces. Finalmente se diferencia de nuevo en múltiples CE que se liberan al lisarse la célula. EB: cuerpo elemental. RB: cuerpo reticulado.



5.2. Epidemiología

La CT es un patógeno exclusivamente humano, y constituye la infección bacteriana de transmisión sexual más frecuente en el mundo. Afecta sobre todo a mujeres jóvenes, siendo el grupo de entre 18 y 24 años el de mayor incidencia¹⁸⁵.

Es difícil estimar la prevalencia de CT en el mundo por diferentes motivos: la falta de métodos de control y registros de prevalencia de la enfermedad, el elevado coste de los métodos diagnósticos precisos y su escasa disponibilidad en muchos laboratorios de países en vías de desarrollo, donde la incidencia es precisamente más elevada.

En 2008, la OMS estimó que en pacientes con edades comprendidas entre 15 y 49 años, la prevalencia global de *Chlamydia trachomatis* es de 100 millones de casos y la incidencia es de 105,7 millones de casos, lo que representa un incremento del 4,1% respecto al estudio realizado previamente, en 2005^{186,187}.

La prevalencia varía entre 2 y 17% en función de la población estudiada¹⁸⁸. En un estudio observacional en China con 3500 pacientes en el año 2003 se estimó una prevalencia de CT del 2,1%¹⁸⁹. Otro estudio en Holanda en 2005 encontró una tasa similar de prevalencia en mujeres de entre 15 y 29 años: la tasa de CT detectada en orina fue de 2,6% en mujeres y 2,0% en hombres¹⁹⁰. En Reino Unido, la prevalencia de CT en pacientes de 16 a 24 años en el año 2010 fue de 3,2%¹⁹¹. En Australia, Vajdic y cols en 2005 estimaron una prevalencia del 4,6%¹⁹².

En 2007, en España se estimó una prevalencia global de CT del 4,5% en mujeres menores de 25 años (95% IC 3,4-5,8) y de 2,6% en mujeres de 25-44 años (95% IC 2,1-3,1)¹⁹³.

Factores de riesgo de infección

Los factores de riesgo de infección por CT son generalmente compartidos con el resto de enfermedades de transmisión sexual:

- Edad menor de 25 años, y especialmente menor de 20 años. Se asocia generalmente al comportamiento sexual de este subgrupo de pacientes¹⁹⁴.
- Nuevo compañero sexual o más de un compañero sexual en los últimos 3 meses¹⁹⁵.
- Historia previa de infección por CT u otras ITS.
- No utilización de métodos de barrera.
- Nivel sociocultural bajo¹⁹⁶.
- Infección genital concomitante (vaginosis bacteriana, coinfección con VPH)¹⁹⁷.

5.3. Clínica

La infección por CT es asintomática hasta en el 70-75% de pacientes, mientras que en el tercio restante las manifestaciones clínicas suelen ser poco específicas: leucorrea, dolor pélvico u abdominal, dispareunia, sangrado y/o disuria (síndrome uretral con leucocituria estéril).

La manifestación clínica más frecuente de la infección por CT en la mujer es la cervicitis, con secreción mucopurulenta, ectopia cervical, tendencia de la mucosa a sangrar ante mínimos traumatismos y coitorragia. Otras manifestaciones clínicas incluyen prurito genital, uretritis, proctitis o endometritis.

Cuando la bacteria asciende al tracto genital superior puede producir salpingitis, salpingooforitis o enfermedad inflamatoria pélvica (EIP). La infección genital alta puede derivar en estenosis tubárica, que a su vez aumenta el riesgo de infertilidad, esterilidad y embarazo ectópico.

En mujeres embarazadas, la CT se ha asociado con mayor riesgo de aborto, parto pretérmino, bajo peso al nacer, rotura prematura de membranas y morbi-mortalidad perinatal (infección ocular o neumonía neonatal)¹⁹⁸.

En un estudio realizado en mujeres en Amsterdam, el aclaramiento espontáneo de la infección por CT tras un año fue del 44,7%¹⁹⁹. Sin embargo, la duración de la infección en ausencia de tratamiento no está aún establecida. Se estima que la mayoría permanece al menos 60 días²⁰⁰, si bien hay estudios a largo plazo que indican que sin tratamiento puede persistir durante meses o incluso años^{201,202,203}. Esta persistencia de la CT puede producir lesiones tisulares crónicas y alterar la inmunidad del huésped para aclarar otras ITS^{204,205}.

5.4. Screening

Para reducir la transmisión y prevenir las complicaciones a largo plazo de la infección por CT, varios países han instaurado programas de detección en pacientes asintomáticas. En Europa, 6 países ofrecen cribado oportunista en pacientes con factores de riesgo identificados: Dinamarca, Estonia, Islandia, Letonia, Noruega y Suecia. Tan solo 2 países europeos disponen de un cribado oportunista organizado: Reino Unido y Holanda²⁰⁶. El programa del Reino Unido ofrece un cribado de CT anual o tras cambio de pareja sexual a todas las mujeres sexualmente activas menores de 25 años²⁰⁷, y en Holanda se remite una carta por correo postal a las mujeres entre 16 y 29

años para participar. En los EEUU existe también la recomendación de realizar un cribado anual de infección por CT en todas las mujeres menores de 25 años²⁰⁸.

En España no disponemos de ningún sistema organizado de cribado de CT. Además, el retraso del inicio del cribado de cáncer de cérvix hasta los 25 años parece que puede influir negativamente en el número de pacientes a las que se les realizan cultivos para el diagnóstico de ITS. Así lo demuestra un estudio realizado en EEUU en 2015, que concluye que antes de la actualización de las guías de cribado de cáncer de cérvix se analizaban muchas más muestras para despistaje de ITS en pacientes entre 15 y 24 años²⁰⁹, precisamente las edades de mayor incidencia de las mismas. Esto sugiere que si bien muchas veces se ha vinculado el cribado de ITS al cribado del cáncer de cérvix, para alcanzar una cobertura adecuada serían necesarios programas independientes: por un lado el del cáncer de cérvix a partir de los 25 años y por otro el despistaje de ITS en pacientes a partir del inicio de las relaciones sexuales.

El screening puede realizarse de varias formas: con muestras de orina o mediante tomas vaginales tomadas por la propia paciente o por el personal sanitario. Los resultados del estudio de Schachter de 2005 concluyen que las autotomas vaginales tienen mayor sensibilidad para la detección de la *Chlamydia trachomatis* que las muestras de orina, por lo que propone la auto-toma vaginal como mejor método de screening²¹⁰.

Sin embargo, la efectividad del screening está en entredicho dado que no se ha conseguido disminuir la incidencia de la infección. De hecho, la tasa de infección por CT está en aumento en muchos países, independientemente de que exista un programa de screening.

5.5. Diagnóstico

La CT puede ser detectada por diferentes técnicas^{211,212,213}. Las que se emplean con mayor frecuencia son las siguientes:

5.5.1. Métodos de detección directa

Tinciones de Giemsa: tiñen el glucógeno de los cuerpos de inclusión de la CT. Es una técnica poco específica.

Técnicas de inmunofluorescencia: con Ac monoclonales dirigidos contra proteínas de la membrana de la CT²¹⁴. Presenta una sensibilidad del 80-90% y una especificidad del 98-99%²¹⁵.

5.5.2. Métodos de detección indirecta

Cultivo: es la técnica considerada *Gold Standard* para el diagnóstico de la infección por CT. Su sensibilidad es del 70-85% y tiene una especificidad cercana al 100%. Las *Chlamydia trachomatis* presentes en la muestra infectan las células hospedadoras (las células más utilizadas son las de McCoy, fibroblastos de ratón) y crecen para formar inclusiones citoplasmáticas que pueden visualizarse con fluorescencia tras 48-72 horas de incubación.

Detección de antígenos-ELISA: se detectan antígenos lipopolisacáridos específicos por medio de un detector espectrofotométrico²¹⁶. Esta técnica presenta una especificidad de hasta el 99%²¹⁵.

Detección de anticuerpos: el diagnóstico de infección por CT mediante serología es limitado. La enfermedad puede tener un largo periodo de incubación y no reflejarse en la serología. Además, una vez creados los Ac pueden persistir durante largos periodos de tiempo, por lo que la detección en suero sólo indica una exposición anterior al microorganismo, sin poder diagnosticarse una enfermedad aguda.

Diagnóstico molecular: con tests basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estas técnicas han revolucionado el diagnóstico de enfermedades de transmisión sexual y hoy día son ampliamente utilizadas. Presentan una elevada especificidad y sensibilidad^{217,218}, incluso con muestras con un número bajo de copias de ADN de *Chlamydia trachomatis*.

5.6. Tratamiento

El particular ciclo replicativo de la *Chlamydia trachomatis* le confiere particularidades a la hora de establecer el tratamiento²¹⁹. Las partículas infecciosas de la CT, los cuerpos elementales, son resistentes a los antibióticos. Sin embargo, los cuerpos reticulares, sí son sensibles a la acción de los mismos. Al ser intracelulares, se deben utilizar antibióticos que penetren de forma óptima en las células. Además, el antibiótico debe mantenerse en concentraciones adecuadas durante las 36-48 horas que dura el ciclo replicativo de la bacteria, por lo que debe utilizarse uno de elevada vida media o en pautas largas.

En general, la CT es sensible a las tetraciclinas y a los macrólidos²²⁰, por lo que las pautas recomendadas de primera línea son la doxiciclina (100 mg, 2 veces al día, durante 7 días) y la azitromicina (1 g en dosis única). Parece que la pauta larga de doxiciclina es ligeramente más efectiva, aunque no se ha establecido la relevancia clínica de este hallazgo^{221,222}. La gran ventaja de la dosis única de azitromicina es que asegura el cumplimiento y se puede administrar en el momento del diagnóstico, en la propia consulta y bajo vigilancia del facultativo prescriptor. Además, la azitromicina tiene una penetración intracelular excelente, posee una vida media de entre 5 y 7 días y puede utilizarse durante el embarazo. Como desventajas, es algo más costosa que la doxiciclina.

Los efectos adversos presentados son similares en ambos tratamientos y ocurren en aproximadamente 1/4 de los pacientes²²³, siendo los trastornos gastrointestinales los más frecuentes.

Las terapias alternativas incluyen: ofloxacino (300 mg, 2 veces al día, durante 7 días) y levofloxacino (500 mg al día durante 7 días), con tasas de eficacia similares aunque significativamente más caras. Al ser fluorquinolonas, no pueden ser utilizadas en el embarazo ni en menores de 18 años. La eritromicina y las penicilinas son significativamente inferiores a las pautas de primera línea²²⁴, por lo que solo estarían indicadas en pacientes embarazadas que no toleran la azitromicina. Las sulfonamidas y las cefalosporinas no deben ser utilizadas.

6. Relación entre *Chlamydia trachomatis* y VPH

Como hemos mencionado anteriormente, las infecciones de transmisión sexual (ITS) como el *Ureaplasma urealyticum*²²⁵ o el virus herpes simple²²⁶, podrían jugar un papel en el desarrollo del CIN y el CCU^{227,228}. Pero el germen de transmisión sexual más estudiado y que más influencia parece tener como cofactor en la carcinogénesis cervical es la *Chlamydia trachomatis*. En Europa, la prevalencia de CT en pacientes asintomáticas varía significativamente entre diferentes países, entre 1,7 y 17%²²⁹. Numerosos estudios han hablado sobre su rol potencial como cofactor del VPH, aumentando el riesgo de contraer VPH o favoreciendo la persistencia del mismo. Si esta asociación entre el VPH y la *Chlamydia trachomatis* es cierta, la infección por *Chlamydia trachomatis* tendría entonces una asociación indirecta con el desarrollo del cáncer de cuello uterino. Dado que la infección por *Chlamydia trachomatis* es la ITS bacteriana más frecuente y que la mayoría de las infecciones cursan de manera

asintomática, esta asociación adquiere gran importancia a la hora de establecer estrategias para prevenir el CCU.

Tanto la infección por CT como la infección por VPH se transmiten vía sexual y por tanto muchos factores relacionados con la adquisición de ambas infecciones son compartidos: edad joven, mayor número de parejas sexuales, la falta de utilización de método anticonceptivo de barrera... No es coincidencia por tanto que exista una mayor prevalencia de CT en pacientes infectadas por VPH²³⁰. Los diferentes estudios arrojan unas tasas de coinfección de entre el 10,3%²³¹ y el 47% de las pacientes²³².

Si bien algunos estudios defienden que la mayor prevalencia de CT en pacientes con VPH se explica simplemente por compartir el modo de transmisión vía sexual^{233,234}, hay otros estudios como el de Verhoeven²³⁵ que demuestran que la asociación entre el VPH y la CT no se puede justificar sólo por el comportamiento sexual. Comparó los hábitos y marcadores de riesgo (recogidos mediante un cuestionario detallado) de 22 mujeres CT positivas con los de 44 mujeres sin infección por CT (controles), con gran concordancia entre ambos grupos. La prevalencia de HPV resultó ser un 160% mayor en pacientes con CT, ajustando los resultados a los factores de riesgo más importantes para la adquisición de VPH (edad, edad con la primera relación sexual, uso de preservativo, número de parejas sexuales en el último año, nivel socioeconómico, historia previa de ITS...). Si bien se trata de una muestra pequeña, concluye que la asociación entre la CT y el VPH parece estar relacionada con una potenciación mutua más que simplemente al hecho de que comparten la vía de transmisión.

La importancia de la relación entre ambos gérmenes radica no sólo en la mayor prevalencia de CT en las pacientes VPH positivas, sino sobre todo en la influencia que ésta puede ejercer en la progresión de las lesiones causadas por VPH. Son numerosos los estudios epidemiológicos que relacionan la CT con el CCU y observan que la CT puede estar involucrada en la carcinogénesis cervical, como los realizados por Antilla²³⁶, Koskela²³⁷, Golijow²³⁸, Wallin²³⁹, Smith²⁴⁰, Valadan²⁴¹, Wohlmeister²⁴² y Smith²⁰⁴. En todos ellos, la infección por CT presenta un riesgo significativamente mayor de CIN o CCU escamoso. En contrapartida, también hay varios estudios publicados que no han encontrado esta relación entre la infección por CT y el CIN o el CCU^{243,244,245,246}. Por tanto, la relación entre HPV y CT continúa siendo controvertida²⁴⁷, y son necesarios más estudios para poder llegar a conclusiones más determinantes.

El mecanismo por el cual la CT interactúa con el VPH en las células epiteliales del cérvix no se conoce con exactitud ni ha sido todavía demostrado, pero varios estudios

sugieren que la *Chlamydia trachomatis* influye mediante diferentes mecanismos moleculares en la carcinogénesis cervical:

- Induciendo metaplasia de las células cilíndricas endocervicales^{203,248}. Es bien sabido que el HPV tiene especial tropismo por estas células metaplásicas de la unión escamocolumnar²⁴⁹ y es ahí donde suele iniciarse la neoplasia cervical²⁵⁰.
- Produciendo microabrasiones²⁵¹ y alterando las uniones entre las células epiteliales, dañando la barrera mucosa y facilitando así la entrada del VPH.
- Produciendo inflamación crónica del tejido cervical, con segregación mediadores inflamatorios²⁵² que pueden dañar las proteínas reparadoras del ADN o generar genotoxicidad directa, produciendo inestabilidad cromosómica^{253,254}.
- Inhibiendo la capacidad apoptótica de las células infectadas^{255,256}, favoreciendo su resistencia a la acción de las células Natural Killer CD8.
- Favoreciendo la replicación del VPH o la fragmentación de su ADN, lo que facilitaría la integración del ADN viral en las células epiteliales²⁵⁷.
- Modulando la inmunidad cervical, lo que puede favorecer la persistencia del HPV^{258,259}.

Además, la *Chlamydia trachomatis* suele cursar de manera asintomática y puede persistir durante meses en el tracto genital. Por ello, es muy importante el cribado de esta bacteria y de otras ITS en pacientes asintomáticas y aún más interesante el cribado en pacientes portadoras del VPH o con lesiones producidas por el mismo.

El diagnóstico de la infección por *Chlamydia trachomatis* en todas las pacientes con lesiones por VPH permitiría instaurar un tratamiento adecuado. Este tratamiento evitaría la patología del tracto genital como cervicitis, uretritis, salpingitis y cuadros de EIP; además de sus consecuencias en el ámbito reproductivo como causa de esterilidad. Además, evitaría los efectos en la transformación maligna de las células cervicales infectadas por VPH por los mecanismos anteriormente descritos. La disminución de la prevalencia de CT podría reducir la incidencia de infección persistente por HPV y en consecuencia la prevalencia de lesiones displásicas cervicales e incluso del CCU.

2. OBJETIVOS

1. Objetivo principal

Determinar la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en pacientes con virus del papiloma humano en el tracto genital inferior.

2. Objetivos secundarios

Conocer la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en los diferentes grupos de edad y en relación a otros factores como tabaco, método anticonceptivo y paridad.

Determinar la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en relación a los distintos genotipos de VPH (16, 18 y otros VPH de alto riesgo) y otras infecciones del tracto genital inferior como *Gardnerella vaginalis*, cándidas y *Estreptococo grupo B*.

Establecer la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en las diferentes alteraciones citológicas y en la patología intraepitelial cervical confirmada histológicamente.

Determinar la influencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en el aclaramiento del VPH y en la evolución de las lesiones intraepiteliales cervicales.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Determinación del grupo de estudio

El presente trabajo es un estudio retrospectivo basado en la revisión de 1229 historias de pacientes que acudieron a la Unidad de Patología Cervical del Hospital Universitario Basurto (OSI Bilbao Basurto), perteneciente al Servicio de Ginecología y Obstetricia, durante los años 2013 y 2014.

De las 1229 pacientes, 439 eran pacientes controladas por el Servicio por antecedentes de patología cervical (persistencia de VPH, alteraciones citológicas o histológicas persistentes, historia personal de conización...). En este periodo se les realizó una colposcopia de control, pero no se incluyen en nuestro análisis al ser pacientes ya conocidas y estudiadas en años anteriores.

Las 790 pacientes restantes fueron pacientes que acudían por primera vez a nuestra unidad, remitidas por su ginecólogo o matrona del ambulatorio para la realización de colposcopia por las siguientes indicaciones:

- Coitorragia
- Citología inflamatoria con VPH AR positivo
- Citología normal con VPH AR positivo (generalmente persistencia de uno o más VPH AR en 2 determinaciones separadas en el plazo de un año)
- Presencia de VPH 16 ó 18
- Alteración citológica:
 - SIL-NE o ASCUS
 - SIL BG
 - SIL AG
 - ASC-H
 - AGUS o ACG
- Sospecha de carcinoma de cérvix (por la citología o en la exploración)

A todas las pacientes, además de una colposcopia se les realizó un estudio completo de infecciones de transmisión sexual (ITS) que consistió en:

- Toma de cultivos vaginales y endocervicales (para bacterias, hongos, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*).

- Extracción de serologías (Lúes, VHB, VHC y VIH).

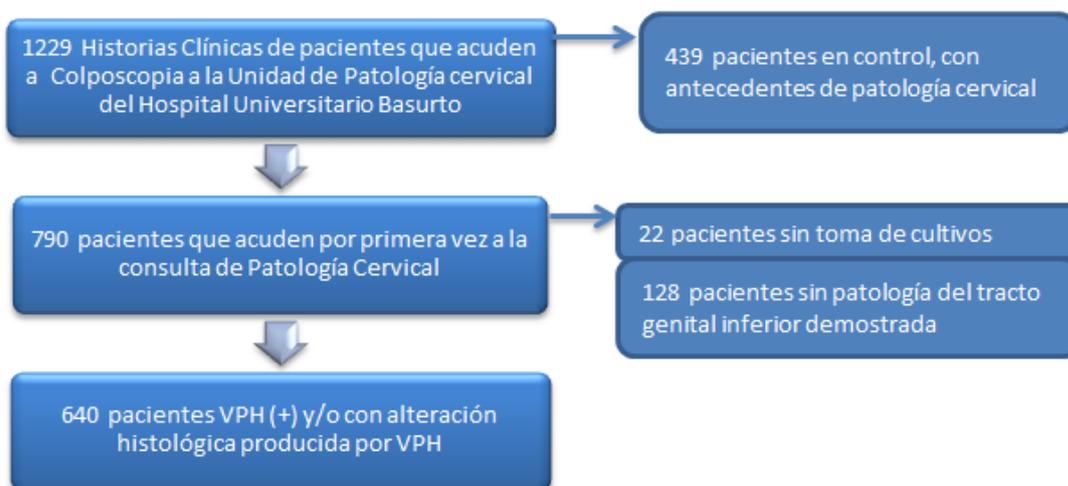
En 22 pacientes no se tomaron cultivos (por estudio ya realizado o ITS reciente, por negativa de la paciente, en los casos de diagnóstico de carcinoma de cérvix...) o hubo algún error en su envío a laboratorio. Estas pacientes también fueron excluidas del estudio, reduciéndose la muestra a 768 pacientes.

Además se excluyeron otras 128 pacientes en las que, a pesar de haber sido remitidas a colposcopia, no se demostró la presencia de VPH AR en el tracto genital inferior (pacientes con cultivo de VPH negativo y/o pacientes con alteraciones citológicas sin confirmación histológica, con biopsias negativas).

Se incluyen por tanto en nuestro estudio las pacientes que acuden por primera vez a la Unidad de Patología Cervical del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Basurto para realización de colposcopia, en las que se analizó la presencia de ITS concomitantes mediante cultivos y serologías y en las que se demostró la infección por VPH AR en el tracto genital inferior. Consideramos que el VPH AR está presente en las pacientes con una determinación de VPH AR positiva o en las pacientes con alteración histológica confirmada mediante biopsia colposcópica aunque no tengan una determinación de VPH o ésta sea negativa, dado que se considera que el VPH es un agente necesario para las lesiones intraepiteliales cervicales.

De esta forma se determina el grupo de estudio: pacientes con VPH AR (+) y/o con alteración histológica confirmada (CIN1+), comprendiendo un total de 640 pacientes (Figura 15).

Figura 15: Determinación del grupo de estudio



2. Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el CEIC del Hospital Universitario Basurto en abril de 2015. La información obtenida en la revisión de las historias clínicas fue protegida según indica la ley 41/2002, reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

3. Estudio de las pacientes

3.1. Anamnesis

Al inicio de la consulta, se realizó una anamnesis detallada recabando la siguiente información:

- Edad
- Antecedentes familiares de interés
- Antecedentes médico-quirúrgicos personales
- Hábitos tóxicos
- Antecedentes gineco-obstétricos: edad de la menarquia, tipo menstrual, fecha de última regla, método anticonceptivo, paridad y antecedente de vacunación frente a VPH.
- Clínica

3.2. Exploración

3.2.1. Diagnóstico microbiológico

Con la paciente en posición ginecológica y con la ayuda de un espéculo estéril de 24 mm de diámetro, se realizó una exploración del tracto genital inferior y se tomaron muestras para cultivos bajo visión directa. Las muestras fueron remitidas directamente al Servicio de Microbiología para su procesamiento, o en su defecto conservadas en la nevera entre 4-6º C hasta su envío.

La toma vaginal se realizó de la zona con mayor exudado o del fondo del saco vaginal posterior. Se utilizó la torunda o hisopo Citoswab® con medio de transporte Amies gel, para el diagnóstico bacteriológico, de hongos y de *Trichomonas vaginalis*. En el Servicio de Microbiología se realizó visualización en fresco, tinción de Gram y siembra en

diferentes medios de cultivo: Agar sangre, Agar chocolate, Agar chocolate GC-LECT, Agar Sabouraud y cultivo en medio líquido de Roiron.

La toma del exudado endocervical se realizó con dos torundas: un hisopo Citoswab® para estudio bacteriológico y otro en medio UTM (Copan) para el diagnóstico de virus, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*. A la muestra para estudio bacteriológico se le realizó tinción de Gram y siembra en Agar chocolate GC-LECT.

El diagnóstico por PCR a tiempo real de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* se realizó en la plataforma de BDMAX (Becton Dickinson). La extracción de ADN se obtuvo con el kit ExkDNA1BDMAX y la PCR fue hecha con sondas y primers *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* Real Time PCR (Diagenode) que detectan una región específica del plásmido críptico.

El cultivo de *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* se realizó inoculando varias gotas del medio UTM en agar Mycoplasma/Ureaplasma (Oxoid) con visualización de colonias típicas con microscopio invertido tras 48 horas de incubación en una atmósfera con 5% de CO₂.

3.2.2. Colposcopia

Tras la toma de cultivos se procedió a la realización de la colposcopia.

Se utilizó un colposcopio Olympus OCS 500 de 32 aumentos con una fuente de luz de xenon. Una cámara Stryker 1488 HD acoplada al colposcopio nos permitió visualizar las imágenes colposcópicas en una pantalla y realizar captura de imágenes que se incorporaron a la historia clínica a través del programa Medical Explorer.

Para resaltar las características del epitelio cervical y determinar la presencia de alteraciones (normal, cambios grado 1 o cambios grado 2) se empleó una torunda de algodón embebida en ácido acético al 5% y otra en solución de lugol al 5%. Según los hallazgos se realizó la toma de entre 1 y 3 biopsias de exocérnix con pinza sacabocados y en los casos indicados, se realizó también una toma endocervical mediante un legrado con cánula de Novak.

Las muestras fueron almacenadas de forma independiente en botes pre-dispensados con formaldehído tamponado al 10% (Histogen 40 de Serosep Laboratory Diagnostics) y remitidas para estudio al Servicio de Anatomía Patológica.

Las muestras fueron conservadas en formol durante al menos 24 horas, y posteriormente se incluyeron en cassettes identificados con el número de biopsia. Se procesaron con un aparato automático para endurecer el tejido. A continuación, la biopsia se incluyó en un bloque sólido de parafina, se realizaron cortes de 3 micras en el microtomo y el material fue recogido en un porta identificado con el número de biopsia. Por último, las muestras fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina y estudiadas al microscopio óptico. El diagnóstico se realizó siguiendo la terminología LAST (del inglés *Lower Anogenital Squamous Terminology*), que agrupa las lesiones en:

- SIL BG. Bajo este término se incluyen las lesiones CIN 1.
- SIL AG. Bajo este término se incluyen las lesiones CIN 2 y CIN 3.
- Carcinoma de cérvix (escamoso o adenocarcinoma)

En el presente trabajo y de aquí en adelante utilizaremos la nomenclatura SIL para referirnos a los resultados citológicos, y la nomenclatura CIN para los resultados histológicas, a fin de evitar confusiones entre unas y otras.

3.2.3. Serologías

Para completar un estudio inicial de ITS, se entregó a las pacientes un volante de analítica para serologías (Lúes, Hepatitis B, Hepatitis C y VIH) siempre que no tuvieran historia documentada de infección previa. La analítica fue extraída en el centro de salud correspondiente a cada paciente y el suero se procesó en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Basurto.

En el diagnóstico de lúes se utilizó el algoritmo reverso: para la detección de anticuerpos totales frente a *Treponema pallidum* en suero, se realizó una prueba treponémica automática por quimioluminiscencia en el Immulite 2000 (Siemens). A las muestras que fueron positivas se les realizó el RPR (Rapid Plasma Regain de Becton Dickinson), el FTA-abs (Fluorescent Treponemal Antibody Absortion de Marxd) y un ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) para detectar Inmunoglobulina M (Captia NMT Syphilis IgM EIA de TrinityBiotech).

Para el diagnóstico de Hepatitis B, Hepatitis C y VIH, se realizaron las determinaciones de: anticuerpos totales frente al core del Virus de la Hepatitis B (TcVHB), anticuerpos

totales frente al Virus de la Hepatitis C y anticuerpos totales frente a VIH-1 y VIH-2. Si el TcVHB fue positivo, en el Servicio de Microbiología se añadieron las determinaciones necesarias para discernir si se trataba de una hepatitis B crónica o una infección aguda o pasada. Para ello, se añadió antígeno de superficie del VHB (AgsVHB): si fue negativo (infección pasada) se determinaron los anticuerpos frente a este antígeno (AcsVHB) y si fue positivo (infección crónica) se añadieron el antígeno e y los anticuerpos frente a este antígeno (AgeVHB y AceVHB). En caso de transaminasas elevadas, también se realizó la determinación de IgM frente al core (IgMcVHB). Todas estas determinaciones se realizaron automáticamente por quimioluminiscencia en el ADVIA Centaur (Siemens) y se siguieron las instrucciones del fabricante.

En caso de positividad a alguna de estas ITS, las pacientes fueron derivadas desde el Servicio de ginecología al Servicio de Microbiología y a los servicios especializados en las diferentes infecciones (Servicio de Digestivo en el caso de las hepatitis) para tratamiento específico y seguimiento.

4. Tratamiento de las infecciones genitales

Las pacientes asintomáticas con cultivos positivos a *Gardnerella vaginalis*, candidas, *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* generalmente no recibieron tratamiento ni seguimiento especializado. En el caso de presentar sintomatología, infecciones múltiples u otras situaciones que según el criterio del clínico requerían ser tratadas, los antibióticos administrados fueron los siguientes, en función del germen diagnosticado:

- *Gardnerella vaginalis*: tratamiento tópico con metronidazol gel al 5%, una aplicación al día durante 5 días
- Cándidas: tratamientos antifúngicos tópicos en pauta corta (de 1 a 3 días) asociando crema y/o tratamiento con fluconazol u otros antifúngicos orales en el caso de recidivas frecuentes.
- *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*: Azitromizina 1 g en dosis única o Doxiciclina 100 mg cada 12 horas durante 14 días.

Las pacientes positivas a *Trichomonas vaginalis* fueron tratadas con Tinidazol 2 g o Metronidazol 2 g en dosis única. Las pacientes positivas a *Chlamydia trachomatis* fueron tratadas con Doxiciclina 100 mg cada 12 horas durante 14 días. En ambas infecciones se aconsejó el mismo tratamiento en sus contactos sexuales y todas ellas

fueron remitidas a la consulta de Infecciones de Trasmisión Sexual del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Basurto para completar el estudio y realizar un seguimiento.

5. Consulta de Infecciones de Trasmisión Sexual

En la consulta de Infecciones de Trasmisión Sexual se realizó de nuevo una anamnesis con los antecedentes personales y familiares. Se incluyó también una encuesta detallada sobre hábitos sexuales (Figura 16), con entrevista individual a las pacientes y a sus contactos sexuales (hombres o mujeres), para garantizar la confidencialidad.

En función de los hábitos y prácticas sexuales de la paciente, se completó el estudio con toma de cultivos faríngeos y/o rectales. Si además la paciente presentaba lesiones específicas, se tomaron cultivos de dichas zonas. A los contactos sexuales de las pacientes que acudieron a la consulta de ITS se les realizó toma de cultivos uretrales, faríngeos y serologías.

Además, en esta consulta se comprobó que las pacientes estaban recibiendo o habían recibido el tratamiento adecuado para la infección detectada, y se instauraron tratamientos específicos si algún nuevo cultivo tenía resultado positivo.

Un mes después de finalizar los tratamientos administrados, se citó de nuevo a la paciente para realizar un test de erradicación, comprobando la negativización de los cultivos. Para el cierre del episodio, la paciente acudió a una última consulta tres meses después, en la que de nuevo se realizaron todos los cultivos y las serologías.

Figura 16: Encuesta realizada en la consulta de ITS del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Basurto



Osakidetza



SERVICIO DE MICROBIOLOGIA
STG Laborategia – Laboratorio de ETS
Avenida Montevideo 18 – 48013 BILBAO
Teléfono y Fax 94 400 6017

Pegue aquí la etiqueta correspondiente al episodio o escriba el nº de episodio

MOTIVO DE CONSULTA (Sólo marcar 1)

<input type="checkbox"/> Control asintomático / voluntario	<input type="checkbox"/> Episodio sintomático	<input type="checkbox"/> Control promiscuidad	<input type="checkbox"/> Test de curación / erradicación
<input type="checkbox"/> Contacto ITS	<input type="checkbox"/> Sospecha contacto ITS / Rel. sexual de riesgo	<input type="checkbox"/> Protocolo de ITS por resultado (+) en una prueba	<input type="checkbox"/> Recidiva ITS
<input type="checkbox"/> Prueba aislada VIH	<input type="checkbox"/> Cribado poblacional ITS	<input type="checkbox"/> Control prenatal / embarazo	<input type="checkbox"/> Planificación familiar
<input type="checkbox"/> Control cierre de episodio	<input type="checkbox"/> Desconocido	<input type="checkbox"/> Otros	<input type="checkbox"/>

Otros motivos de consulta:

ETS PREVIAS

<input type="checkbox"/> Ningún episodio previo	<input type="checkbox"/> Supuración (sin especificar)	<input type="checkbox"/> <i>N. gonorrhoeae</i>	<input type="checkbox"/> <i>C. trachomatis</i>
<input type="checkbox"/> <i>Trichomonas vaginalis</i>	<input type="checkbox"/> <i>M. hominis</i> / <i>U. urealyticum</i>	<input type="checkbox"/> Infección por Strep. grupo B	<input type="checkbox"/> Vulvovaginitis Candida spp.
<input type="checkbox"/> Infección por VHS	<input type="checkbox"/> Úlcera genital (sin especificar)	<input type="checkbox"/> Hepatitis A	<input type="checkbox"/> Hepatitis B
<input type="checkbox"/> Hepatitis C	<input type="checkbox"/> Hepatitis D	<input type="checkbox"/> Condilomas / Infección HPV	<input type="checkbox"/> Vaginosis
<input type="checkbox"/> Sífilis (duración MENOR 2 a)	<input type="checkbox"/> Sífilis (duración MAYOR 2 a)	<input type="checkbox"/> Infección VIH	<input type="checkbox"/> Enf. Inflamatoria Pélvica
<input type="checkbox"/> Sama	<input type="checkbox"/> Pediculosis	<input type="checkbox"/> Epididimitis / Orquitis	<input type="checkbox"/>

DATOS ADICIONALES EPISODIO ACTUAL

<input type="checkbox"/> Prostitución actual o en el último año	<input type="checkbox"/> Automedicación	<input type="checkbox"/> Tto. antimicrobiano previo	<input type="checkbox"/> Otros
---	---	---	--------------------------------

Datos adicionales del episodio actual:

SÍNTOMAS EPISODIO ACTUAL

<input type="checkbox"/> Asintomático	<input type="checkbox"/> Leucorrea	<input type="checkbox"/> Prurito	<input type="checkbox"/> Mal olor
<input type="checkbox"/> Supuración	<input type="checkbox"/> Dolor pélvico	<input type="checkbox"/> Dispareunia	<input type="checkbox"/> Balanitis
<input type="checkbox"/> Disuria	<input type="checkbox"/> Polaquiuria	<input type="checkbox"/> Tenesmo	<input type="checkbox"/> Lesión
<input type="checkbox"/> Verruga	<input type="checkbox"/> Edema	<input type="checkbox"/> Inflamación	<input type="checkbox"/> Dolor abdominal
<input type="checkbox"/> Artritis	<input type="checkbox"/> Artralgia	<input type="checkbox"/> Alopecia	<input type="checkbox"/> Bultoma / Ganglio
<input type="checkbox"/> Conjuntivitis	<input type="checkbox"/> Erupción / Rash cutáneo	<input type="checkbox"/> Faringitis	<input type="checkbox"/> Fiebre
<input type="checkbox"/> Metrorragia	<input type="checkbox"/> Prostatitis	<input type="checkbox"/> No consta	<input type="checkbox"/> Otros

Otros síntomas:

EXPLORACIÓN ACTUAL

<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Flujo anormal	<input type="checkbox"/> Vulvitis	<input type="checkbox"/> Vaginitis
<input type="checkbox"/> Supuración	<input type="checkbox"/> Balanitis	<input type="checkbox"/> Postitis	<input type="checkbox"/> Abrasionas
<input type="checkbox"/> Vesícula	<input type="checkbox"/> Úlcera	<input type="checkbox"/> Chancro	<input type="checkbox"/> Cenicitis
<input type="checkbox"/> Friabilidad cervical	<input type="checkbox"/> Ectopia	<input type="checkbox"/> Dolor movilización	<input type="checkbox"/> Molestia znejos
<input type="checkbox"/> Enf. inflamatoria Pélvica	<input type="checkbox"/> Verruga	<input type="checkbox"/> Condiloma acuminado	<input type="checkbox"/> Linfadenopatía
<input type="checkbox"/> Artritis	<input type="checkbox"/> Alopecia	<input type="checkbox"/> Bartolinitis	<input type="checkbox"/> Dolor próstata
<input type="checkbox"/> Condiloma lata	<input type="checkbox"/> Displasia de cervix	<input type="checkbox"/> Epididimitis	<input type="checkbox"/> Erosión
<input type="checkbox"/> Faringitis	<input type="checkbox"/> Forúnculo	<input type="checkbox"/> Meatitis	<input type="checkbox"/> Hipertrófia de próstata
<input type="checkbox"/> Lesión de rascado en piel	<input type="checkbox"/> Proctitis	<input type="checkbox"/> Prostatitis	<input type="checkbox"/> Parche mucoso
<input type="checkbox"/> Rash palmo – plantar	<input type="checkbox"/> Rash cutáneo	<input type="checkbox"/> No consta	<input type="checkbox"/> Otros

Otros hallazgos en la exploración:

HABITOS SEXUALES

Hábitos sexuales

- Genital Oral Anal No consta / No contesta

Preferencias sexuales

- Heterosexual Bisexual Homosexual No consta / No contesta

Parejas en los 12 últimos meses

- 0 parejas 1 pareja De 2 a 5 parejas De 6 a 10 parejas
- De 11 a 20 parejas Más de 20 parejas Nunca ha tenido rel. Sexuales No consta / No contesta

Anticoncepción

- Píldora DIU Ligadura Vasectomía
- Anillo vaginal Preservativo No realiza Otros

Uso preservativo genital (vaginal / anal)

- Habitualmente Ocasionalmente Nunca No consta / No contesta

Uso preservativo oral

- Habitualmente Ocasionalmente Nunca No consta / No contesta

Situación previa VIH

- VIH previo positivo VIH diagnosticado en este episodio VIH negativo Situación previa desconocida

Perfil de riesgo

- Ejercicio prostitución Contacto sexual con prostitución Rel. sexuales con pareja estable Rel. sexuales con pareja esporádica
- Rel. sexuales con pareja estable VIH Rel. sexuales con contacto VIH (+) Transusión previa ADVP activo
- Ex-ADVP/ADVP (últimos 12m) Rel. sexuales con pareja estable ADVP Rel. sexuales con contacto ADVP Otro perfil no incluido

Mecanismo probable de transmisión

- Rel. heterosexuales no protegidas Rel. bisexuales no protegidas Rel. homosexuales no protegidas No consta
- Vaginal Anal Oral

Última menstruación en mujeres

- Menos de 7 días Entre 7 y 14 días Mayor de 14 días Menopausia

Última rel. sexual: / Última rel. sexual diferente: / N° de parejas estable: N° de parejas en los últimos 12 meses:

N° embarazos: Edad último hij: N° abortos: Naturales: Provocados:

PETICIONES REALIZADAS EN EL EPISODIO ACTUAL

- Uretral Vulvar Vaginal Endocervical
- Rectal Faringeo Glándula Úlcera (1ª muestra)
- Úlcera (2ª muestra) Úlcera (3ª muestra) Lesión (1ª muestra) Lesión (2ª muestra)
- Lesión (3ª muestra) Chancro Semen Orina
- Orina tras masaje prostático Aspirado ganglionar Biopsia rectal Biopsia (otras localizaciones)
- Escamas dérmicas Serología lues Serología Hepatitis B Serología Hepatitis C
- Serología VIH Serología C. trachomatis Serología Hepatitis A Serología Hepatitis D
- Bioquímica Hematimetría Carga viral Poblaciones linfoides
- Tipado HPV Visualización parásitos Otras serologías Otros cultivos
- Otras peticiones

OTRAS PETICIONES DEL EPISODIO ACTUAL

DIAGNÓSTICO DEL EPISODIO ACTUAL

- Normal Uretritis sin filier en el varón Infección por *N. gonorrhoeae* Infección por *N. gonorrhoeae* (R)
- Infección por *C. trachomatis* Infección por *T. vaginalis* Infección por *M. genitalium* Uretritis por *U. urealyticum*
- Infección por Strept. grupo B Vulvovaginitis Candida spp. Candidiasis de repetición Vaginitis
- Infección por VHS (primer episodio) Infección por VHS (recidiva) Condilomas / Infección HPV (primer episodio) Condilomas / Infección HPV (recidiva)
- Hepatitis A (aguda) Hepatitis B (aguda) Hepatitis B (crónica) Hepatitis C
- Hepatitis D Infección VIH Sífilis primaria Sífilis secundaria
- Sífilis terciaria Sífilis latente precoz Sífilis latente tardía Sífilis indeterminada
- Enf. Inflammatoria Pélvica Cervicitis mucopurulenta Linfogranuloma venéreo Chancroide
- Donovanosis Pediculosis (Ladillas) Sama No evidencia ITS

TRATAMIENTO DEL EPISODIO ACTUAL

- Ceftriaxona 250 mg i.m. Ceftriaxona 500 mg. i.m. Cefixima 400 mg (monodosis) Azitromicina 1 gr. (monodosis)
- Doxiciclina 100 mg /12 h/7 días Doxiciclina 100 mg /12h/10días Doxiciclina 100 mg /12h/14días Doxiciclina 100 mg /12h/21días
- Tetraciclina 100 mg /12 h/7 días Tetraciclina 100 mg /12h/10días Tetraciclina 100 mg /12h/14días Tetraciclina 100 mg /12h/21días
- Eritromicina 500 mg /6 h/7 días Eritromicina 500 mg /6 h/10días Eritromicina 500 mg /6 h/14días Eritromicina 500 mg /6 h/21días
- Benzotazol 2.4 M UI Benzotazol 2.4 M UI (2 semanas) Benzotazol 2.4 M UI (3 semanas) Ampicilina 3.5 & 1 gr. probenecid
- Amoxicilina 500 mg/8 h/ 7 días Amoxicilina 500 mg/8 h/ 10 días Amoxicilina 500 mg/8 h/ 10 días Tetraciclina pomada ocular 0.5
- Aciclovir 200 mg/5 h/7-10 días Aciclovir 400 mg/8 h/7-10 días Valaciclovir 1 gr/12 h/7-10 días Famciclovir 250 mg/8 h/7-10 días
- Aciclovir 400 mg/12 h/6 meses Valaciclovir 500 mg/24 h/6 meses Valaciclovir 1 gr/24 h/6 meses Famciclovir 250 mg/8 h/6 meses
- Ácido bicloroacético Podofilox Imiquimod (Aldara®) Crioterapia
- Crotamiton Clotrimazol Fluconazol 150 mg (monodosis) Fluconazol (terapia continuada)
- Miconazol Itraconazol Terconazol Tioconazol
- Voriconazol 200 mg/24 h/14 días Ácido bórico 600 mg (comp. veg.) Clindamicina 300 mg/12 h/7 días Clindamicina crema al 2%
- Metronidazol 2 gr. /1 día Metronidazol 500 mg/12 h/7 días Tinidazol (monodosis) Lindañe
- Permetrina Sulfisoxazol 500mg/6 h/ 10 días Ciprofloxacino 500 mg (monodosis) Ofloxacino 400 mg (monodosis)
- Ofloxacino 400 mg/12 h/7 días Otros

OTROS TRATAMIENTOS PAUTADOS EN EL EPISODIO ACTUAL

6. Tratamiento de lesiones intraepiteliales cervicales

La actitud a seguir en cada paciente se determinó en función del resultado anatomopatológico de las biopsias realizadas en la colposcopia.

411 pacientes presentaron un CIN 1, en las que se propuso una actitud expectante con un control con exploración y toma de citología y VPH a los 12 meses. Hubo 19 casos de discordancia cito-histológica (citología con alteración grave, sin confirmarse en las biopsias o con biopsias CIN 1) en los que se realizó una conización por discordancia. El seguimiento de estas pacientes fue el mismo que en las pacientes conizadas por lesiones de alto grado.

Las pacientes con CIN 2-3 fueron tratadas con una conización con asa de diatermia. Realizamos 136 conizaciones extirpando la totalidad de la lesión en 124 ocasiones. Hubo 12 casos de afectación de márgenes endocervicales, por lo que se realizó una segunda conización. Una vez obtenida una pieza con márgenes endocervicales libres de lesión de alto grado realizamos un control a los 6 meses. Si los márgenes afectados fueron los exocervicales no realizamos una nueva conización, pero adelantamos el control a los 4 meses. Hubo 5 pacientes con lesión de alto grado vaginal y cérvix sin alteraciones o con lesión leve. Estas pacientes no fueron sometidas a conización sino que se realizó una exéresis de la lesión vaginal en quirófano bajo anestesia general o locorregional.

Este control a los 4 ó 6 meses de las pacientes tratadas (postconización) también consistió en una exploración con toma de citología y determinación de VPH.

Tuvimos 8 casos con diagnóstico de cáncer de cérvix que fueron derivados a la Unidad de Oncología Ginecológica de nuestro servicio para seguimiento y tratamiento específico. Las 8 fueron sometidas a histerectomía, con o sin tratamientos complementarios según el estadio de la neoplasia.

Por último, otras 3 pacientes fueron sometidas a histerectomía: 2 casos por otra causa ginecológica benigna y 1 caso por CIN 3 en el que no se podía descartar invasión. La anatomía patológica confirmó que se trataba de un CIN 3.

6.1. Conización con asa de diatermia

La conización se realizó de forma ambulatoria en consulta, inyectando 10 ml de anestésico local de bupivacaína hidrocloreuro al 0,5% + epinefrina en el cérvix bajo visión directa. Utilizamos espéculos de cerámica para la preparación del campo y el aislamiento de la vagina. Realizamos la conización o LLETZ con un asa de diatermia Utahloop® de 20 mm de diámetro, de Utah Medical Products. La escisión se ajustó a la extensión y profundidad de la lesión en cada paciente, extirpando toda la zona de transformación y parte del canal endocervical. En los casos con afectación endocervical o con una zona de transformación tipo 3 o no valorable, se realizó además una ampliación endocervical, más en profundidad (conización en sombrero de copa).

En 3 casos, la conización se realizó en quirófano bajo anestesia general o locorregional, por diferentes motivos: dificultad de preparar el campo por un introito o vagina estrechos, mala tolerancia de la paciente o cérvix acortado por conizaciones anteriores con imposibilidad para realizar el procedimiento en consulta.

La pieza de la conización fue remitida al laboratorio de Anatomía Patológica en botes pre-dispensados con formaldehído tamponado al 10% (Histogen 40 de Serosep Laboratory Diagnostics), donde fue conservada durante al menos 24 horas. Para la valoración de los márgenes de resección, los bordes fueron teñidos con tinta china y se realizaron secciones referenciadas según zona horaria que se incluyeron a su vez en bloques referenciados. Estos bloques se incluyeron en parafina y se realizaron secciones de 3 micras que se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. El informe anatomopatológico también fue descrito acorde a la terminología LAST.

7. Seguimiento de las lesiones intraepiteliales cervicales

Como ya hemos citado anteriormente, en el caso de las pacientes con CIN 1 o sin lesión histológica se mantuvo generalmente una actitud expectante y se realizó un control a los 12 meses de la colposcopia, aunque en algunos casos se demoró hasta los 18 meses.

En el caso de pacientes conizadas, el control se realizó entre los 4 y los 6 meses (en función de la afectación o no de los márgenes), retrasándose hasta los 10-12 meses en algunos casos.

En todos los casos, el control consistió en una exploración, una citología exo-endocervical y una determinación del VPH. En algunos casos además se realizó también un legrado endocervical con cánula de Novak.

La citología se realizó de manera convencional con extensión en porta y fue informada acorde a la nomenclatura del sistema de clasificación Bethesda. La toma del VPH se realizó del exudado exo-endocervical con un hisopo en medio UTM (Copan) idéntico al descrito en el apartado “3.2.1 Diagnóstico microbiológico” del capítulo “Material y métodos”. Las muestras se genotipificaron mediante el kit Linear Array HPV Genotyping test de Roche Diagnostics. Este test es capaz de detectar 37 genotipos de VPH, entre ellos 13 de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68), con una sensibilidad del 96% y una especificidad del 99%. Incluye cuatro procesos: extracción de ADN de las muestras, amplificación por PCR de VPH y β -globina, hibridación y detección, que se llevaron a cabo y fueron interpretados según las instrucciones proporcionadas por el fabricante.

Si la citología fue normal y el VPH negativo la paciente continuó realizando controles seriados con co-test, siguiendo las recomendaciones actuales de la SEGO y de la AEPC. Si por el contrario existía alguna alteración citológica o se evidenciaba la presencia de VPH AR la paciente fue remitida de nuevo a colposcopia, con o sin toma de biopsias según los hallazgos.

7.1. Evolución del VPH y de las lesiones cervicales

En función de los resultados de este co-test \pm la colposcopia en los casos indicados, clasificamos la evolución en 4 grandes grupos.

En el primer grupo incluimos las pacientes con citología normal y VPH negativo. Consideramos que la paciente ha aclarado el virus y si tenía lesión, ésta ha regresado.

En el segundo grupo incluimos las pacientes VPH AR (+) con citología y colposcopia normales (\pm histología normal). Consideramos que si la colposcopia es normal y no justifica la toma de biopsias, el cérvix no presenta a priori ninguna alteración histológica. En este grupo se incluyen por tanto las pacientes con persistencia de VPH, pero con regresión o curación de las lesiones, en función de la lesión inicial.

El tercer grupo incluye las pacientes que han sido remitidas a colposcopia por alteración citológica \geq ASCUS, independientemente del resultado del VPH AR (si bien la

gran mayoría fueron VPH AR positivas), y que en la colposcopia se ha confirmado una lesión histológica de bajo grado (CIN 1). Consideramos que estas pacientes tienen una persistencia del VPH con una persistencia de la lesión histológica o incluso progresión (si la anatomía patológica inicial era normal).

El último grupo incluye las pacientes remitidas a colposcopia por alteración citológica \geq ASCUS, independientemente del resultado del VPH AR (la gran mayoría también fueron VPH AR positivas), y que en la colposcopia se ha confirmado una lesión histológica de alto grado (CIN 2+). Al igual que en el caso anterior, consideramos que estas pacientes tienen una persistencia del VPH con una persistencia de la lesión histológica o progresión de la misma (si la anatomía patológica inicial era normal o CIN 1). Las características de los diferentes grupos se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9: Evolución del VPH y de las lesiones intraepiteliales cervicales

Citología	VPH AR	Colposcopia +/- AP	Evolución VPH	Evolución AP cervical
Normal	(-)	No se realiza	Aclaramiento VPH	Regresión o curación
Normal	(+)	Normal	Persistencia VPH	Regresión o curación
\geqASCUS	(-) ó (+)	CIN 1	Persistencia VPH	Persistencia o progresión
\geqASCUS	(-) ó (+)	CIN 2-3	Persistencia VPH	Persistencia o progresión

8. Análisis de los resultados

Para el análisis de los resultados se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17 (*Statistical Package for the Social Sciences*, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA).

Para el análisis descriptivo de las variables cuantitativas se utilizaron la media y la desviación estándar. Para las variables cualitativas se utilizaron frecuencias y porcentajes. Para la comparación de las variables cuantitativas utilizamos la prueba de la T de Student o prueba de Wilcoxon, según las variables sigan una distribución normal o no. La comparación de porcentajes se realizó mediante la prueba de la Chi-cuadrado o test exacto de Fisher. Para estudiar los factores asociados a la infección se utilizó el modelo de regresión logística, considerando como variable dependiente el

hecho de tener o no una infección por *Chlamydia trachomatis*, y como posibles variables independientes, aquellas que en los análisis univariantes mostraron un $p < 0.15$. Los datos se presentarán mediante el *Odds ratio* junto con el intervalo de confianza del 95%. Se considerarán valores significativos aquellos que muestren un $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

1. Prevalencia de infección por CT en pacientes con VPH

1.1. Prevalencia global

De las 640 pacientes incluidas en nuestro estudio, 41 presentaron cultivos positivos frente a CT. Por tanto, la prevalencia global de infección por *Chlamydia trachomatis* en pacientes con VPH en el tracto genital inferior es del 6,4%.

1.2. Prevalencia según rangos de edad

La franja etaria de mayor prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* fue entre 20 y 29 años, con una tasa de infección del 11,3%. Entre los 30 y 54 años la prevalencia fue del 4,2% y en mayores de 55 del 4,9%. No se encontró ningún caso de infección por CT en las pacientes menores de 20 años. Las diferencias entre los distintos grupos son estadísticamente significativas ($p=0,01$). Estos datos pueden observarse en la Tabla 10.

Tabla 10: Prevalencia de infección por CT por edades

	Total		CT (+)		Valor p
	n		n	%	
<20 años	3		0	0%	0,01
20-29 años	195		22	11,3%	
30-54 años	401		17	4,2%	
>55 años	41		2	4,9%	
Total	640		41	6,4%	

Distinguiendo únicamente 2 grupos (entre 20-29 años y ≥ 30 años), la prevalencia de CT en las pacientes entre 20 y 29 años es del 11,3% frente al 4,3% en las pacientes de 30 años o más, con un valor $p=0,001$ (Tabla 11).

Tabla 11: Prevalencia de infección por CT en pacientes menores y mayores de 30 años

	Total		CT (+)		Valor p
	n		n	%	
20-29 años	195		22	11,3%	0,001
≥ 30 años	442		19	4,3%	
Total	637		41	6,4%	

2. Relación entre la infección por CT con otros factores

2.1. Tabaco

Disponemos información sobre los hábitos tabáquicos de 598 pacientes, que se distribuyen de la siguiente manera:

- 355 pacientes no fumadoras (59,4%)
- 243 pacientes fumadoras:
 - 87 pacientes fuman < 10 cigarrillos al día (14,5%)
 - 156 pacientes fuman ≥10 cigarrillos al día (26,1%)

La prevalencia de CT según el hábito tabáquico puede observarse en la Tabla 10.

Tabla 12: Prevalencia de infección por CT según el hábito tabáquico

	Total	CT (+)		Valor p
	n	n	%	
No fumadoras	355	22	6,2%	0,61
Fumadoras	243	19	7,8%	
< 10 cig/día	87	8	9,2%	
≥ 10 cig/día	156	11	7,1%	
Total	598	41	6,9%	

La prevalencia de CT en pacientes no fumadoras es del 6,2%. En las pacientes fumadoras (sin distinguir por número de cigarrillos) la prevalencia es ligeramente superior, del 7,8%, pero estas diferencias no son estadísticamente significativas.

2.2. Método anticonceptivo

En 56 pacientes no está recogido el método anticonceptivo utilizado habitualmente, por lo que disponemos de los datos de 584 pacientes.

Los métodos anticonceptivos se distribuyen de la siguiente manera:

- 163 pacientes no utilizan métodos de barrera. Incluyen:
 - pacientes que no utilizan ningún método anticonceptivo
 - pacientes menopáusicas
 - pacientes con anticoncepción definitiva como ligadura de trompas o cuya pareja ha realizado la vasectomía.
- 267 pacientes usuarias de preservativo o método de barrera.

- 127 pacientes utilizan anticoncepción hormonal (ACH). Se incluyen las pacientes usuarias de píldora oral combinada, píldora de sólo gestágenos, anillo vaginal, anticoncepción con parches o implante subcutáneo de etonogestrel.
- 27 pacientes usuarias de DIU (15 con DIU de Cobre y 12 con DIU de levonorgestrel).

Para el análisis no se tuvieron en cuenta las pacientes usuarias de DIU, al tratarse de 2 dispositivos con mecanismos de acción diferentes que no pueden incluirse en los grupos anteriormente citados.

Comparando los 3 principales grupos (no barrera, barrera y ACH) aparece mayor prevalencia de infección por CT en las pacientes usuarias de ACH con un 11%, frente al 3,7% de las pacientes que no utilizan barrera y el 6,7% de las que utilizan barrera. Las diferencias resultan estadísticamente significativas ($p=0,04$).

Tabla 13: Prevalencia de infección por CT con los distintos métodos anticonceptivos

	Total	CT (+)		Valor p
	n	n	%	
No barrera	163	6	3,7%	0,04
Barrera	267	18	6,7%	
Anticoncepción hormonal	127	14	11%	
Total	557	38	6,8%	

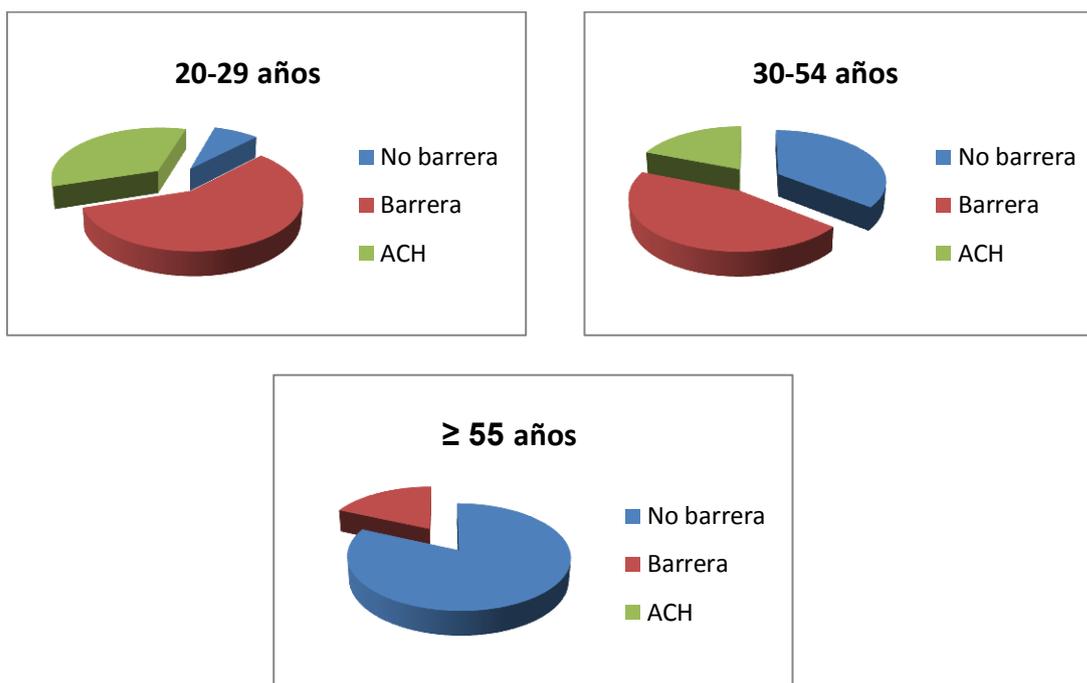
Distribución del método anticonceptivo por edad

Sin embargo, observamos que el método anticonceptivo utilizado está íntimamente ligado a la edad de la paciente. En la Tabla 14 y la Figura 17 podemos observar los diferentes métodos utilizados en cada rango de edad.

Tabla 14: Método anticonceptivo utilizado en función de la edad

Método	No barrera	Barrera	ACH	Valor p
20-29 años	7,8%	57,8%	34,4%	<0,001
30-54 años	35,7%	45,3%	19%	
≥55 años	81,8%	18,2%	0%	

Figura 17: Utilización de diferentes métodos anticonceptivos en función de la edad



Comparamos las medias de edad de las pacientes que utilizan los diferentes métodos anticonceptivos mediante un análisis de la varianza con la prueba post-hoc de Scheffé. En la tabla 15 pueden observarse las diferencias en las medias de edad de las pacientes usuarias de los diferentes métodos gracias a los superíndices. Por ejemplo, se observan diferencias estadísticamente significativas en la media de edad de las pacientes que utilizan barrera (33,5 años) frente a las que no utilizan barrera (43,6 años) y las que utilizan ACH (30,4 años). La edad es un por tanto factor determinante a la hora de la elección del método anticonceptivo.

Tabla 15: Edades de las usuarias de los diferentes métodos anticonceptivos

	n	Media de edad	IC 95%	Valor p
No barrera ^a	163	43,6 ^{b,c}	42,0 - 45,3	<0,001
Barrera ^b	267	33,5 ^{a,c}	32,4 - 34,6	
ACH ^c	127	30,4 ^{a,b,d}	29,3 - 31,5	
DIU cobre ^d	15	38,1 ^c	34,1 - 42,1	
DIU de levonorgestrel ^e	12	38,3	32,9 - 43,7	

Para calcular la influencia de la edad en la prevalencia de CT ajustado por el método anticonceptivo como factor de confusión realizamos un análisis de regresión logística, cuyos resultados pueden observarse en la Tabla 16. Las diferencias observadas en la prevalencia de CT son debidas a la edad y no al método anticonceptivo.

Tabla 16: Influencia de la edad en la prevalencia de CT ajustada por el método anticonceptivo

Variable	Beta	OR	IC 95%	Valor p
20-29 años		Ref		
30-54 años	-1,06	0,34	0,17 - 0,69	<0,01
≥ 55 años	-0,72	0,48	0,10 - 2,19	0,34
Constante	-2,62	0,07		<0,01

Al comparar únicamente 2 grupos de edad (20-29 años y ≥ 30 años), observamos que el OR de infección por *Chlamydia trachomatis* en pacientes de 30 años o más es de 0,6 (95% IC 0,43-0,84) en relación a pacientes de entre 20 y 29 años (Tabla 17). La edad de 30 años o más es un factor protector frente a la infección por *Chlamydia trachomatis*.

Tabla 17: Influencia de la edad en la prevalencia de CT ajustada por el método anticonceptivo con la edad dicotomizada

Variable	Beta	OR	IC 95%	Valor p
20-29 años		Ref		
≥ 30 años	-0,51	0,60	0,43 - 0,84	0,003
Constante	-1,51	0,22		<0,01

2.3. Otras infecciones del tracto genital inferior

2.3.1. Coinfección por *Chlamydia trachomatis* con cada genotipo de VPH

De las 640 pacientes incluidas en el estudio, 357 acudieron a la colposcopia con una determinación de VPH AR positiva. Los genotipos encontrados se distribuyeron de la siguiente manera:

- 72 con infección por VPH 16 (20,2%)
- 14 con infección por VPH 18 (3,9%)
- 121 con infección única por VPH AR (33,9%)
- 76 con infecciones múltiples por VPH AR (21,3%)

- 4 con coinfección por VPH 16 y VPH 18 (1,1%)
- 12 con coinfección por VPH 18 y VPH AR (3,4%)
- 50 con coinfección por VPH 16 y VPH AR (14,0%)
- 8 con coinfección por VPH 16, VPH 18 y VPH AR (2,2%)

La infección más frecuente fue la de VPH AR no 16 ni 18, seguida del VPH 16, y de la coinfección entre ambas.

Infecciones univirales o multivirales

De las 357 pacientes con cultivo VPH AR positivo, 23 casos presentaron infección concomitante por *Chlamydia trachomatis*. Analizamos la distribución de la infección por *Chlamydia trachomatis* en función de si la infección por VPH es única o múltiple. Consideramos infección univiral a la presencia de un solo virus VPH (cualquier genotipo) y a infección multiviral la combinación de 2 o más genotipos de VPH.

De estos 23 casos de coinfección, 13 presentaron infección por un solo genotipo de VPH (56,5%) y 10 presentaron infección por múltiples genotipos de VPH AR (43,5%), sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,88$). Los resultados se reflejan en la Tabla 18.

Tabla 18: Prevalencia global de infecciones uni o multivirales y en pacientes CT positivas

Infección por VPH	Total		CT (+)		Valor p
	n	%	n	%	
Univiral	207	58%	13	56,3%	0,88
Multiviral	150	42%	10	43,5%	
Total	357	100%	23	100%	

Calculamos además la prevalencia de CT en las infecciones uni o multivirales (Tabla 19) y observamos que es similar tanto en pacientes con infección única por VPH (6,3%) como en pacientes con infecciones por 2 o más genotipos de VPH (6,7%).

Tabla 19: Prevalencia de infección por CT en las infecciones uni o multivirales

Infección por VPH	Total		CT (+)		Valor p
	n	%	n	%	
Univiral	207	58%	13	6,3%	0,88
Multiviral	150	42%	10	6,7%	
Total	357	100%	23	6,4%	

Distribución en relación a la oncogenicidad viral

Realizamos también un análisis para determinar la prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en función de la oncogenicidad de cada genotipo de VPH. Así, se establecieron varios grupos de infección por VPH, independientemente de si la infección era única o múltiple:

- Pacientes con VPH 16
- Pacientes con VPH 18
- Pacientes con infección por VPH AR

Las pacientes portadoras de varios serotipos de VPH fueron incluidas en dos o en los tres grupos, en función de serotipo presente. Por ello, el número total de casos asciende a 439.

Observamos que en las pacientes CT positivas, la infección más frecuente es la del VPH AR (75%), seguida del VPH 16 (21,5%) y por último la infección por VPH 18 (3,5%), aunque estas diferencias no alcanzan la significación estadística.

Tabla 20: Distribución de los diferentes genotipos de VPH en relación con la infección por CT

Infección por VPH	Total		CT (+)		Valor p
	n	%	n	%	
VPH 16	134	30,5%	6	21,5%	0,26
VPH 18	38	8,6%	1	3,5%	
VPH AR no 16 ni 18	267	60,8%	21	75,0%	
Total	439	100%	28	100%	

2.3.2. Coinfecciones por otros gérmenes

Los gérmenes diagnosticados en los cultivos vaginales fueron: *Gardnerella vaginalis*, *Cándida* y *Streptococo agalactiae* (SGB). En los cultivos endocervicales, se observaron 2 casos de infección por *Trichomonas vaginalis*, 5 casos de infección por *Ureaplasma urealyticum* y 7 casos de infecciones polimicrobianas, pero en ninguno de ellos se detectó infección concomitante por CT. No hubo ningún caso de infección por *Neisseria gonorrhoeae*.

De los 41 casos de infección por *Chlamydia trachomatis*, en 24 casos (58,5%) la CT es el único germen aislado. En los 17 restantes (41,5%) se observa otra infección en los

cultivos vaginales o endocervicales. El germen más frecuente en estos casos de coinfección es la *Gardnerella vaginalis* (70,6%) mientras que la infección por candidas es menos frecuente (23,5%). La infección concomitante por SGB es poco frecuente, con un 5,9% de prevalencia. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes con y sin infección por CT.

Tabla 21: Prevalencia de coinfecciones vaginales en pacientes CT positivas y CT negativas

	CT (-)		CT (+)		Valor p
	n	%	n	%	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	82	60,7%	12	70,6%	0,71
Cándida	45	33,3%	4	23,5%	
SGB	8	5,9%	1	5,9%	
Total	135	100%	17	100%	

Si analizamos la prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en las pacientes con cultivos vaginales positivos a Gardnerella, Cándida o SGB, observamos que la *Chlamydia trachomatis* está presente en 11,2% de los casos. En la gran mayoría de las ocasiones (88,8%) no coexiste infección por CT.

Tabla 22: Prevalencia de infección por CT en pacientes con otras infecciones vaginales

	CT (-)		CT (+)		Total		Valor p
	n	%	n	%	n	%	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	82	87,2%	12	12,8%	94	100%	0,71
Cándida	45	91,8%	4	8,2%	49	100%	
SGB	8	88,9%	1	11,1%	9	100%	
Total	135	88,8%	17	11,2%	152	100%	

2.4. Paridad

La media de hijos por paciente es de 0,86 en el grupo de pacientes sanas (desviación típica de 1,25) y de 0,85 en el grupo de pacientes infectadas por CT (desviación típica de 1,23). No se observan diferencias en los 2 grupos (p=0,97).

Tabla 23: Paridad en las mujeres CT positivas y las CT negativas

<i>Chlamydia trachomatis</i>	n	Nº hijos (media)	Desviación típica	Valor p
Negativa	565	0,86	1,26	0,97
Positiva	40	0,85	1,23	
Total	605			

3. Relación entre la infección por CT y las alteraciones citológicas

Para la realización del análisis, agrupamos las indicaciones de colposcopia en 2 grandes grupos:

- 1) Alteración citológica leve, donde se incluyen:
 - Citología normal o inflamatoria, o coitorragia con VPH AR (+), generalmente persistente durante 2 años consecutivos.
 - ASCUS o SIL NE con VPH AR (+)
 - SIL BG
 - Condiloma
- 2) Alteración citológica severa, que incluye:
 - SIL AG
 - ASC H
 - ACG
 - Sospecha de AIS o de carcinoma invasor (mediante la citología o por la observación macroscópica de una lesión sospechosa cervical).

La gran mayoría de las colposcopias fueron indicadas por una alteración citológica leve (80,3%). Se observó una prevalencia de CT de 7,2% en las pacientes remitidas por una alteración citológica leve y una prevalencia de CT de 3,2% en las pacientes remitidas por una alteración citológica grave o sospecha de carcinoma de cérvix. A pesar de que la diferencia en la prevalencia de las alteraciones citológicas leves es más del doble, estas diferencias no resultan estadísticamente significativas.

Tabla 24: Prevalencia de infección por CT en las diferentes alteraciones citológicas

Indicación de colposcopia	Total		CT (+)		Valor p
	n		n	%	
Alteración citológica leve	514		29	7,2%	0,1
Alteración citológica grave	126		4	3,2%	
Total	640		41	6,4%	

4. Relación entre la infección por CT y la histología cervical

De las 640 pacientes, se descartaron 5 al no disponer de una muestra válida para el estudio anatomopatológico, por inadecuada gestión de la muestra o material perdido durante el procesamiento. Una de las pacientes descartadas era positiva a CT, por lo que el número total de pacientes con CT en este grupo de análisis es de 40.

El resultado anatomopatológico se clasificó en varios grupos:

- AP normal: incluye las muestras sin displasia cervical y las pacientes en las que no se tomó biopsia por no observarse ninguna alteración en la exploración colposcópica (con una colposcopia valorable, sin lesiones exocervicales ni vaginales visibles y ZT tipo 1 totalmente visible)
- CIN 1: pacientes con alteración histológica que afecta al tercio inferior del epitelio.
- CIN 2+: pacientes con displasia celular en la mitad o más del espesor del epitelio.

En 20 pacientes se tomaron muestras de vagina para estudio. Observamos discordancia entre histología cervical y la vaginal en 8 casos: 4 casos de histología cervical normal con VAIN 3, 1 caso de CIN 1 con VAIN 3, 3 casos de histología cervical normal con VAIN 1. En estas situaciones de discordancia, la biopsia que consideramos para establecer el diagnóstico anatomopatológico fue la más severa, y fue incluida en los grupos CIN 1 o CIN 2+ según el caso.

Hubo 8 casos de cáncer de cérvix, que fueron incluidos en el grupo CIN 2+. Ninguno de ellos presentó infección por CT.

Como se puede observar en la Tabla 25, la prevalencia de CT es similar en todos los grupos histológicos: 7,1% en el caso de la AP normal, 6,2% en el caso del CIN 1 y 5,7% en el caso del CIN 2+, sin existir diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p=0,86$).

Tabla 25: Prevalencia de infección por CT en función de la histología cervical

	Total	CT (+)		Valor p
	n	n	%	
AP normal	169	12	7,1%	0,86
CIN 1	308	19	6,2%	
CIN 2+	158	9	5,7%	
Total	635	40	6,3%	

5. Evolución de la infección y las lesiones

Analizamos la evolución de las pacientes en el control realizado a los 6-12 meses, en función de los resultados anatomopatológicos y el tratamiento propuesto a cada paciente. El objetivo es definir los porcentajes de aclaramiento de VPH, y las tasas de curación-regresión o progresión de las lesiones intraepiteliales.

5.1. Tratamientos recibidos

De las 640 pacientes que conforman el estudio inicial, disponemos los datos de la evolución de 515 pacientes, entre las cuales hay 30 casos positivos a CT. 125 pacientes son excluidas por los siguientes motivos:

- 3 pacientes con histología inicial no valorable.
- 25 pacientes que en el control presentan citología normal pero no se determina VPH (pacientes jóvenes menores de 25 años, o los 8 casos de CCU en los que el control se realiza con citología y pruebas de imagen específicas, sin determinarse el VPH)
- 79 pacientes que no acuden al co-test de control. De éstas:
 - 64 pacientes presentaban una alteración histológica leve y se les había propuesto una actitud expectante.
 - 15 pacientes a quienes se realizó una conización con exéresis completa de la lesión
- 18 pacientes en las que el control realizado fue incompleto por otros motivos:
 - 8 pacientes con indicación de colposcopia por un co-test alterado en el control, pero no acuden al procedimiento.
 - 10 pacientes en las que no ha dado tiempo a realizar la colposcopia en el momento del análisis de los datos.

Cabe destacar de estos datos que en total hubo 87 pacientes que no acudieron a realizar el control completo, lo que supone un 13,6% de pérdidas en el seguimiento.

En el seguimiento, analizamos la presencia o no de VPH y/o alteraciones histológicas a los 6 ó 12 meses tras la colposcopia inicial. Este control se realiza en todos los casos mediante un co-test \pm colposcopia \pm biopsias según los hallazgos. En función de los resultados, clasificamos a las pacientes en 4 grandes grupos:

- 1) Co-test negativo
- 2) Citología normal con VPH AR (+), que incluye realización de una colposcopia sin alteraciones o con biopsias con resultado anatomopatológico normal
- 3) CIN 1
- 4) CIN 2-3

No incluimos ningún caso de cáncer de cérvix en los grupos de evolución puesto que no observamos ningún caso de progresión a CCU a los 6-12 meses.

5.2. Seguimiento

5.2.1. Evolución de la infección por VPH

Para calcular el aclaramiento viral consideramos como negativas las pacientes con co-test negativo en el control. El resto de los grupos presentan una persistencia del VPH mediante PCR o tienen una lesión intraepitelial confirmada histológicamente, por lo que las consideramos positivas a VPH.

En el control realizado a los 12 meses tras una AP normal el aclaramiento del VPH fue del 63,3%. En las pacientes con CIN 1, el aclaramiento del VPH fue del 52,6%, y en las pacientes con CIN 3 del 59,2%. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativas. Estos resultados pueden observarse en la Tabla 26.

Tabla 26: Aclaramiento del VPH a los 6-12 meses tras el diagnóstico

	Aclaramiento VPH		Persistencia VPH		Valor p
	n	%	n	%	
AP normal	88	63,3%	51	36,7%	0,23
CIN 1	132	52,6%	119	47,4%	
CIN 2-3	74	59,2%	51	40,8%	
Total	294	57,1%	221	42,9%	

5.2.2. Evolución del CIN

La evolución de las lesiones intraepiteliales cervicales se describe en la Tabla 27.

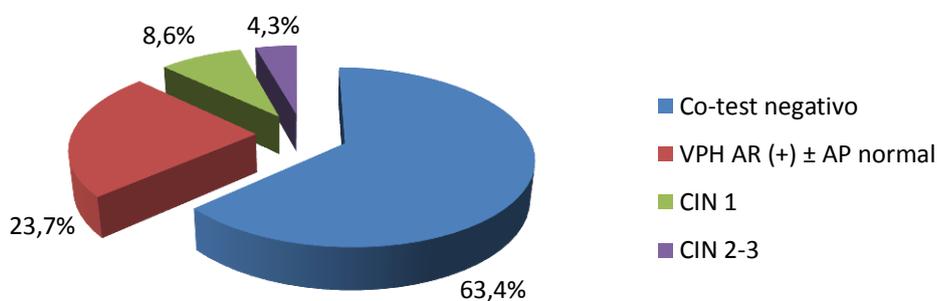
Tabla 27: Evolución de las lesiones intraepiteliales cervicales a los 6-12 meses

	Cotest negativo		AP normal con VPH AR (+)		CIN 1		CIN 2-3		Valor p
	n	%	n	%	n	%	n	%	
AP normal	88	63,4%	33	23,7%	12	8,6%	6	4,3%	0,23
CIN 1	132	52,6%	69	27,5%	40	15,9%	10	4,0%	
CIN 2-3	74	59,2%	34	27,2%	11	8,8%	6	4,8%	
Total	294		136		63		22		

a) Evolución de las pacientes con AP normal

El 63,4% de las pacientes aclararon el VPH en el control anual. Un 23,7% adicional presentó el VPH positivo pero no se diagnosticaron lesiones intraepiteliales. En el 8,6% se diagnosticó un CIN 1 y en un 4,3% se diagnosticó un CIN 3 (Figura 18).

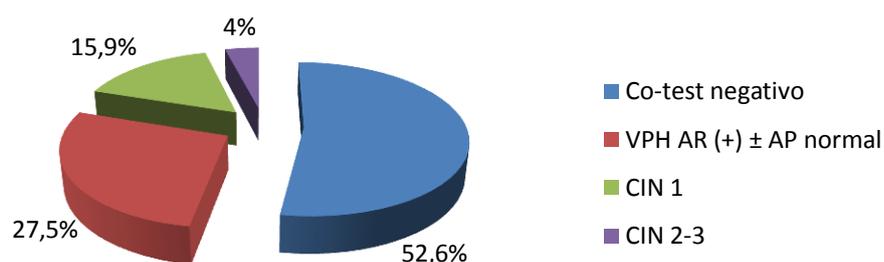
Figura 18: Evolución de las pacientes con histología inicial normal al de 12 meses



b) Evolución del CIN 1

El 52,6% de los CIN 1 presentaron un co-test negativo a los 12 meses y en un 27,5% adicional, si bien persistía el VPH, la colposcopia ± biopsias fueron normales. En un 15,9% persistió una lesión de bajo grado y tan solo el 4% de los CIN 1 progresó hacia lesiones de alto grado (Figura 19).

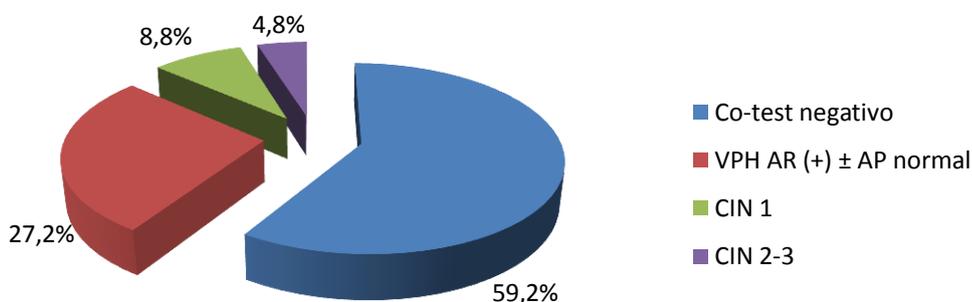
Figura 19: Evolución de las pacientes con histología inicial CIN 1



c) Evolución del CIN 2+

El 59,2% de los CIN 2+ presentaron un co-test negativo a los 6 meses tras la conización y en un 27,2% adicional no se apreciaron lesiones intraepiteliales cervicales aunque el VPH persistía positivo. En un 8,8% persistió una lesión de bajo grado y en un 4,8% una lesión alto grado (Figura 20).

Figura 20: Evolución de las pacientes con histología inicial CIN 2-3



5.2.3. Influencia de la *Chlamydia trachomatis* en la evolución

Teniendo en cuenta los casos positivos a *Chlamydia trachomatis* en la evolución del VPH y de las lesiones intraepiteliales, observamos que existen diferencias entre las pacientes con la infección y las pacientes sanas.

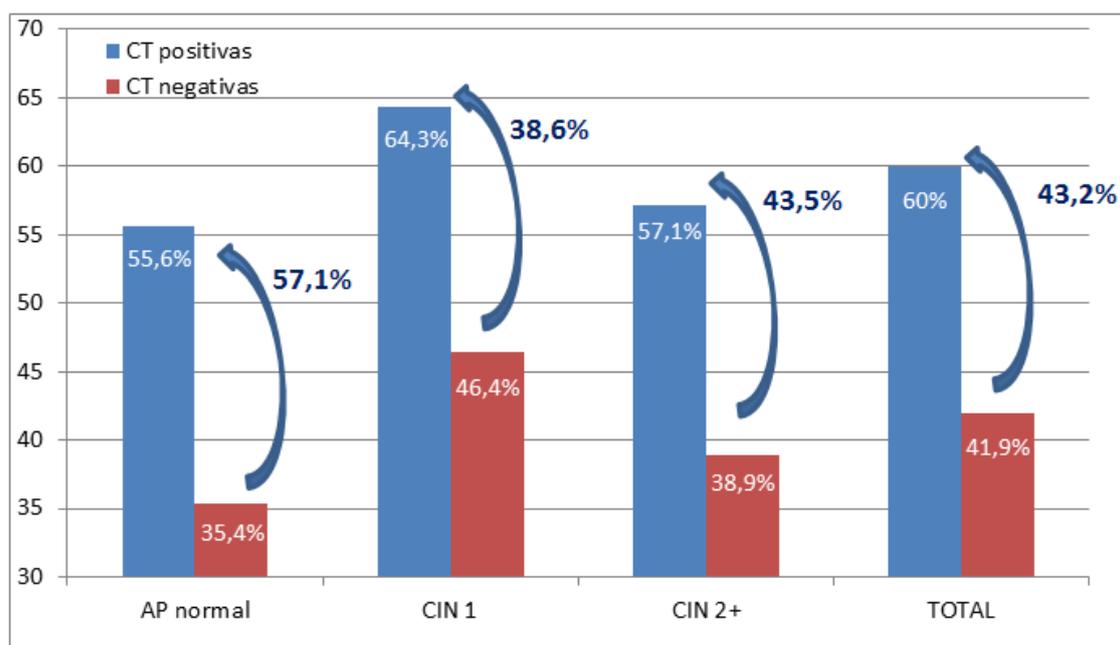
a) Persistencia del VPH

En la Tabla 28 se detalla la tasa de persistencia del VPH en las pacientes CT positivas y en las CT negativas. El incremento en el porcentaje de persistencia en ambos casos viene representado en la Figura 21.

Tabla 28: Persistencia del VPH y de las lesiones intraepiteliales cervicales en las pacientes CT positivas y negativas

	Persistencia VPH en CT positivas			Persistencia VPH en CT negativas			Diferencia	Incremento de la persistencia
	n	Total CT (+)	%	n	Total CT (-)	%		
AP normal	5	9	55,6%	46	130	35,4%	20,2	57,1%
CIN 1	9	14	64,3%	110	237	46,4%	17,9	38,6%
CIN 2-3	4	7	57,1%	47	118	39,8%	17,3	43,5%
Total	18	30	60,0%	203	485	41,9%	18,1	43,2%

Figura 21: Incremento de la persistencia del VPH en las pacientes CT positivas frente a las pacientes CT negativas



b) Evolución de las lesiones intraepiteliales

La influencia de la CT en la evolución de las lesiones intraepiteliales viene detallada en la Tabla 29.

Tabla 29: Influencia de la CT en la evolución de las lesiones intraepiteliales cervicales

Evolución	Co-test negativo		AP normal con VPH (+)		CIN 1		CIN 2-3		Total	Valor p
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Histología										
AP normal										0,57
CT (+)	4	44,4%	3	33,3%	1	11,1%	1	11,1%	9	
CT (-)	84	64,6%	30	23,1%	11	8,5%	5	3,8%	130	
CIN 1										<0,01
CT (+)	5	35,7%	2	14,3%	7	50,0%	0	0,0%	14	
CT (-)	127	53,6%	67	28,3%	33	13,9%	10	4,2%	237	
CIN 2-3										0,57
CT (+)	3	42,9%	2	28,6%	1	14,3%	1	14,3%	7	
CT (-)	71	60,2%	32	27,1%	10	8,5%	5	4,2%	118	
TOTAL										
CT (+)	12	40,0%	7	23,3%	9	30,0%	2	6,6%	30	
CT (-)	282	58,1%	129	26,6%	54	11,1%	20	4,1%	485	

c) Evolución de las pacientes con AP normal

Las pacientes con AP normal e infección por CT tienen un aclaramiento menor del VPH en el control anual frente a las CT negativas: 44,4% frente a 64,6% respectivamente. Además, las CT positivas presentan una mayor progresión a lesiones de bajo grado y de alto grado (11,1% en ambos casos), comparado con las CT negativas (8,5% progresan a bajo grado y 3,8% progresan a alto grado). Estas diferencias no resultan estadísticamente significativas.

d) Evolución del CIN 1

Las pacientes con CIN 1 positivas a *Chlamydia trachomatis* también presentan una menor tasa de aclaramiento del VPH que las CT negativas: 53,6% frente a 35,7%.

Respecto a la evolución del CIN 1, las pacientes CT positivas presentan peor evolución que las CT negativas. En las CT negativas el 81,9% de las lesiones regresan (co-test negativo y VPH AR con colposcopia ± AP normal), mientras que en las CT positivas tan solo lo hace el 50,0%. En el 50,0% restante de las pacientes CT positivas con un CIN 1,

en el control al año persiste la lesión de bajo grado, frente al 13,9% de las CT negativas. Las diferencias son estadísticamente significativas, con una $p < 0,01$.

No se observó ningún caso de progresión a CIN 3 en las pacientes con CIN 1 e infección por CT, frente a 10 casos del grupo sin infección por CT (lo que supone un 4,2% de progresión).

e) Evolución del CIN 2+

En el caso del CIN 2+, la evolución es similar a los grupos anteriores. El aclaramiento del VPH en el grupo de CT positivas es menor (42,9%) que en el grupo CT negativas (60,2%).

La persistencia de CIN 1 es más frecuente en el grupo de CT positivas (14,3% frente a un 8,5% de las CT negativas). También el CIN 2-3 persiste más en las pacientes con CT (14,3% frente al 4,2% de las CT negativas).

6. Otros datos

6.1. Vacunación previa frente a VPH

De las 640 pacientes incluidas en el estudio, tan sólo 15 (2,3%) habían recibido la vacunación frente al VPH (Gardasil® o Cervarix™).

6.2. Serologías

Se extrajeron serologías a 601 de las 640 pacientes, siendo la mayoría negativas. Se diagnosticaron 3 casos de Lúes, 1 caso de Hepatitis B crónica, 2 casos de Hepatitis B pasada y 1 caso de Hepatitis C. No se diagnosticó ningún caso de VIH.

5. DISCUSIÓN

1. Prevalencia de infección por CT en pacientes con VPH

1.1. Prevalencia global

Los resultados de nuestro estudio muestran que en pacientes con VPH en el tracto genital inferior, la prevalencia global de infección por *Chlamydia trachomatis* es del 6,4%.

El Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Basurto ha realizado un estudio en el mismo área de influencia (Comarca Bilbao, hoy denominada OSI Bilbao-Basurto) que consistió en la recogida de muestras de orina para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* a pacientes asintomáticas con edades comprendidas entre 18 y 39 años. Se recogieron 2899 muestras, de las cuales un 1,8% resultaron ser positivas a CT²⁶⁰. Observamos por tanto que la prevalencia de CT en nuestras pacientes es 3,5 veces mayor que la observada en la población general de nuestra misma área de influencia.

No es de extrañar que la prevalencia de CT sea mayor en las pacientes con infección por VPH ya que comparten el mismo mecanismo de transmisión. Así lo recogen diversos estudios realizados para establecer la relación entre ambas infecciones. Según las investigaciones de Lehman y cols²³¹ en 1999 en 144 mujeres, la tasa de infección por CT en pacientes positivas a VPH fue de 10,3% frente al 1,7% de las pacientes VPH negativas ($p < 0,05$). Silva y cols²⁶¹ en 2013 tomaron citologías y cultivos para VPH y CT a 425 mujeres y encontraron que 14% de coinfección entre ambos gérmenes, mientras que entre las pacientes con VPH negativo sólo un 6% presentaba infección por CT (OR 2, IC 95 % 1,03-6,27, $p < 0,04$). Otros autores presentan datos más dispares. En el estudio de Finan²³² en 2002, el 47% de las pacientes VPH positivas presentaban también infección por CT, comparado con el 14% de las pacientes VPH negativas.

En el estudio de Panatto de 2015, la prevalencia de coinfección entre CT y VPH en una población de mujeres italianas entre 16 y 26 años sin patología cervical es de 2,7% (95% IC 1,6-4,3)²⁶². Comparado con las mujeres VPH negativas, las pacientes VPH positivas tienen riesgo significativamente mayor de estar infectadas por CT (OR 4,2; 95% IC 2,01-8,71), Concluye también que ambas infecciones (CT y VPH) son más frecuentes en mujeres menores de 18 años que en mujeres más añosas.

En 2016, el estudio de Jianhua²⁶³ concluye que existe una asociación estadísticamente significativa entre la positividad a VPH y la presencia de CT (OR 3,30; 95% IC 2,29-4,76).

Entre las pacientes VPH positivas coinfectadas con CT, el 91% (71 de 78 casos) eran pacientes infectadas por VPH AR.

Otro estudio muy reciente es el de Quinónez-Calvache²⁶⁴, publicado en 2016, presenta una tasa de coinfección de VPH y CT del 28%. La mayoría de las mujeres con CT eran portadoras de varios serotipos de HPV (77,4% de infecciones multivirales vs 22,6% de infecciones univirales) y a su vez la infección por múltiples tipos de HPV presentó mayor riesgo de infección por CT (HR 2,85; 95% IC 1,22-6,63; p=0,015).

1.2. Prevalencia por grupos de edad

Desglosando por grupos de edad, nuestro estudio muestra que la prevalencia de CT en pacientes infectadas por VPH es mayor sobre todo en pacientes de entre 20 y 29 años, en quienes alcanza el 11,3%. Si bien este porcentaje disminuye en las pacientes mayores de 30 años (4,3%), continúa siendo más del doble que el de la población asintomática de la misma área de influencia. En nuestro estudio no se detectó ningún caso de infección por CT en las pacientes menores de 20 años, pero tan solo se incluyeron 3 pacientes, por lo que no nos permite valorar la prevalencia en este grupo de edad.

Nuestros hallazgos concuerdan con la literatura publicada hasta el momento, que asegura que la edad es un factor de riesgo identificado de contraer infección por *Chlamydia trachomatis*. Así lo afirman las Guías Americanas de Infecciones de Transmisión Sexual (*Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines*, CDC)²⁶⁵ que establecen la edad menor de 25 años como un claro factor de riesgo de infección por CT. El estudio de Melo²⁶⁶ de 2016, con muestras de HPV y CT de 151 jóvenes universitarias menores de 25 años arroja unas tasas de infección por HPV del 21,8%, de infección por CT del 11,2% y de coinfección de ambas del 4,6%. Lo mismo concluye el estudio de Mitchell²⁶⁷ que encuentra un mayor riesgo de infección por CT en pacientes de 25 años (OR 2,58; 95% IC 1,91-3,50) y en pacientes con hábitos sexuales de riesgo (en hombres OR 4,06; 95% IC 2,43-6,80 y en mujeres OR 1,85; 95% IC 1,30-2,62).

Los programas de screening de infección por *Chlamydia trachomatis* en pacientes asintomáticas han demostrado reducir las tasas de enfermedad inflamatoria pélvica en las mujeres^{268,269}, lo que evita las múltiples complicaciones y secuelas reproductivas que la CT puede producir. En España no está establecido ningún programa de detección precoz de *Chlamydia trachomatis*, pero en otros países europeos y en EEUU se ofrece un cribado oportunista en pacientes menores de 25 años y en pacientes mayores con factores de riesgo^{270,271}.

Dada la elevada prevalencia de infección por CT observada en nuestro estudio en todos los rangos de edad, sí parece recomendable realizar un cribado de ITS incluyendo *Chlamydia trachomatis* y otros microorganismos al menos en las pacientes con infección por VPH documentada, ya sean remitidas a colposcopia o no. El cribado cobra aún mayor interés en las pacientes menores de 30 años, donde la prevalencia alcanza el 11,3%.

En el caso de pacientes menores de 20 años, nuestro estudio no permite valorar esta indicación, al incluir únicamente 3 pacientes. Este número escaso de pacientes menores de 20 años que acuden a las consultas de colposcopia se debe a las nuevas recomendaciones de cribado de cáncer de cérvix que han retrasado el inicio de las citologías hasta los 25 años. A la hora de realizar un despistaje de ITS, esto representa una gran desventaja respecto a las antiguas recomendaciones de iniciar el cribado citológico a partir de los 3 años del inicio de las relaciones sexuales, puesto que en muchos casos el cribado del cáncer de cérvix resulta de utilidad para el despistaje de otras ITS, sobre todo si la paciente refiere alguna sintomatología. Actualmente rara vez se realiza un estudio de ITS en pacientes asintomáticas en los rangos de edad de mayor prevalencia de CT (jóvenes menores de 25 años).

En EEUU las sociedades científicas proponen mantener los 21 años como edad de inicio del cribado de cáncer de cuello uterino²⁷². La recomendación más reciente es la del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos²⁷³. Este inicio más temprano en el cribado de cáncer cervical, permitiría detectar infecciones asintomáticas coexistentes pero con el mismo patrón de riesgo, como la CT. De todas formas, tanto si el inicio del cribado de cáncer de cuello es a los 21 años como si es a los 25 años, el cribado de ITS debería realizarse de forma independiente, comenzando a partir del inicio de las relaciones sexuales.

2. Relación entre la infección por CT con otros factores

2.1. Tabaco

Según nuestros datos, la prevalencia de infección por CT en pacientes no fumadoras es de 6,2%, similar a la de pacientes fumadoras, que sin distinguir por nº de cigarrillos es de 7,5%.

Hay pocos estudios que relacionen el tabaco con la infección por CT aunque algunos sí que han establecido una relación directa entre ambos factores, uno realizado en Francia con 200 hombres con sintomatología de uretritis²⁷⁴ y otro en 423 pacientes

jóvenes y adultos jóvenes de Cataluña²⁷⁵. Otros estudios también encontraron una mayor prevalencia de CT en pacientes fumadoras^{276,277}. Hay evidencia de que el tabaco produce múltiples trastornos en todo el organismo, entre ellos la alteración de la inmunidad local a nivel del aparato genitourinario, favoreciendo la infección y persistencia del VPH y probablemente de otros agentes infecciosos como la CT o la *Neisseria gonorrhoeae*. Además de esta posible relación directa entre el tabaco y la CT, la mayor prevalencia de CT en los jóvenes con hábito tabáquico podría explicarse porque adoptan con más frecuencia comportamientos de riesgo que los jóvenes no fumadores, comportamientos entre los cuales se encuentran las relaciones sexuales de riesgo de contagio de ITS²⁷⁸.

Sin embargo nuestro estudio no permite establecer relación entre ambos factores. Con nuestros datos, el hábito tabáquico no parece aumentar el riesgo de infección por CT.

2.2. Método anticonceptivo

Como hemos descrito anteriormente, los factores de riesgo demostrados para contraer CT son: edad joven, múltiples parejas sexuales, bajo nivel socioeconómico y no utilización de métodos de barrera¹⁹⁰.

Sorprendentemente, en nuestro estudio la prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en las pacientes que no utilizan barrera es la más baja entre todos los diferentes métodos anticonceptivos, siendo de tan solo un 3,8%. Esto se debe a que el grupo que no utiliza barrera es muy heterogéneo, ya que incluye pacientes postmenopáusicas y pacientes que no utilizan barrera porque están embarazadas, buscando embarazo o se protegen del embarazo mediante un método anticonceptivo definitivo (ligadura de trompas o vasectomía en la pareja). Todas estas situaciones suelen ir vinculadas con tener una pareja estable y con una menor promiscuidad sexual, factores protectores del contagio de ITS. De hecho, la edad media de las pacientes que no utilizan barrera es alta (43,6 años), una edad en la que en general hay un bajo riesgo de infección por CT. Por tanto, a pesar de la baja prevalencia de CT en este grupo, no podemos concluir que el no utilizar barrera sea un factor protector.

Respecto al resto de métodos, las pacientes usuarias de ACH son las que presentan la mayor tasa de prevalencia de infección por CT, que asciende al 11%. Las pacientes que utilizan barrera presentan una prevalencia de CT del 6,7%.

Observamos que el método anticonceptivo utilizado por cada paciente está íntimamente ligado a su edad. Así, entre los 20-29 años el método más utilizado es el preservativo (57,8%), seguido de la anticoncepción hormonal (34,4%), mientras que tan solo un 7,8% asegura no utilizar ninguno de los anteriores. Entre los 30 y los 54 años, el preservativo es también el método más utilizado (45,3%), hay menos pacientes que utilizan anticoncepción hormonal (19,0%) y un mayor número de pacientes (35,7%) no utiliza ninguno de los anteriores. En las pacientes mayores de 55 años, la gran mayoría (81,8%) no utiliza ningún método anticonceptivo y tan solo el 18,2% utiliza preservativo. Ninguna paciente de este rango de edad utiliza anticoncepción hormonal.

Para valorar si la prevalencia de infección por CT está relacionada con el método anticonceptivo o con la edad, realizamos un análisis de regresión logística que nos confirma que el verdadero factor de riesgo de infección por CT es la edad y no encuentra relación entre el método anticonceptivo utilizado y la infección por *Chlamydia trachomatis*. Este análisis nos permite concluir que la edad (30 años o más) es un factor protector de infección por *Chlamydia trachomatis* con un OR de 0,6 (95% IC 0,43-0,84) en relación a pacientes de entre 20 y 29 años.

2.3. Otras infecciones del tracto genital inferior

2.3.1. Coinfección por *Chlamydia trachomatis* con cada genotipo de VPH

De las 640 pacientes incluidas en el estudio, 357 acudieron a la colposcopia con una toma del VPH. El resto acudió por otras indicaciones (alteraciones citológicas leves o severas pero sin determinación del VPH). Aunque para la realización del estudio hemos considerado que en estas pacientes también existe infección por VPH, desconocemos el genotipo y si se trata de infecciones únicas o múltiples, por lo que las pacientes que no presentan determinación inicial del VPH han sido excluidas de este análisis.

Incluimos por tanto 357 pacientes con determinación y genotipado de VPH (distinguiendo VPH 16, VPH 18 y otros VPH AR) que acuden a colposcopia.

Observamos que la gran mayoría de las pacientes presentaron infección por VPH AR no 16 ni 18: el 55,2% presentan una infección por uno o varios VPH AR, porcentaje que asciende a 74,8% si incluimos también las que además presentan infección concomitante por VPH 16 y/o 18.

El estudio CLEOPATRE publicado en 2014 analizó 3.261 mujeres asintomáticas³⁶ para determinar la distribución y la prevalencia de los diferentes genotipos de HPV en España, y encontró una tasa de infección por VPH AR del 12,2% (95% IC 11,1-13,4). El VPH más común fue el 16 (2,9% de todas las pacientes incluidas en el estudio), seguido del 52 (1,8%), del 51 (1,6%), del 31 (1,3%), y del 66 (1,2%). Si bien el VPH 16 es el más común, si agrupamos los demás VPH AR serían considerados los más frecuentes, tal y como ocurre en nuestro estudio.

Además las pacientes incluidas en nuestro estudio no son pacientes de la población general sino que son pacientes ya remitidas a colposcopia, cuya indicación en un elevado porcentaje de los casos es la positividad persistente a cualquier VPH AR, aunque presenten citología normal o con cambios inflamatorios. No es de extrañar por tanto que los VPH AR sean los virus más detectados en nuestro grupo de estudio.

En nuestro estudio, la prevalencia de VPH 16 es más baja de la esperada, probablemente porque las pacientes con alteración citológica de alto grado (126 pacientes) no precisaron una determinación de VPH previo a la realización de la colposcopia, al no estar contemplado en nuestros protocolos. Son estas pacientes con lesiones intraepiteliales severas quienes tienen mayor probabilidad de presentar positividad frente a VPH 16, que ha demostrado ser el más prevalente en la población general y el más oncogénico.

Infecciones univirales o multivirales

El estudio CLEOPATRE encontró una tasa de infecciones múltiples por VPH del 25 %, entre todas las pacientes infectadas por VPH. El estudio de Quinónez-Calvache nombrado anteriormente²⁶⁴ concluye que la mayoría de las mujeres con CT presentaba infecciones multivirales por VPH (77,42%). En 2016, Seraceni y cols²⁷⁹ encontraron una prevalencia similar de infecciones múltiples por VPH en mujeres menores de 25 años con infección por CT, del 78%.

En nuestro estudio, 150 de las 357 pacientes con VPH AR remitidas a colposcopia presentaron infección por múltiples genotipos virales, por lo que la prevalencia general de infecciones múltiples es del 42%. En las pacientes CT positivas, la tasa de infecciones múltiples es similar (43,5%). Observamos por tanto que en las pacientes CT positivas la tasa de infecciones únicas por VPH es mayor (56,5%), aunque las diferencias no resultan estadísticamente significativas ($p=0,88$). Estos datos no

concuerdan con los estudios anteriormente descritos que encuentran una mayor asociación de la CT con las infecciones múltiples, lo que probablemente sea debido a nuestro bajo número de casos de infección por CT en este grupo de análisis (n=23).

Tampoco encontramos diferencias en la prevalencia de CT en el grupo de infección univiral que en el de infección multiviral, siendo la prevalencia de CT del 6,3% en las pacientes con infecciones univirales y del 6,7% en las infecciones múltiples.

Distribución en relación a la oncogenicidad viral

Por último, hemos realizado un estudio de la distribución de la infección por CT en función de la oncogenicidad de cada genotipo VPH, distinguiendo el VPH 16, el VPH 18 y el resto de VPH AR.

En la muestra global, los VPH AR fueron los más diagnosticados, en un 60,8% de los casos, seguidos del VPH 16 con un 30,5% y el VPH 18 con el 8,6%. En las pacientes CT positivas la distribución en relación al genotipo de VPH siguió un patrón similar: 75% de los casos presentaban coinfección por VPH AR, el 21,5% presentaban VPH 16 y el 3,5% coinfección por VPH 18, aunque sin alcanzar estas diferencias la significación estadística.

Existen muy pocos estudios que analicen la distribución de los diferentes genotipos de VPH en relación a la infección por CT. En 2012 se publicó uno en Brasil donde encontraron una asociación estadísticamente significativa entre la CT y la infección por VPH 16 ($p=0.01$; OR = 5.31; 95 % IC 1.59–17.67)²⁸⁰. Con 43 casos de infección por CT, 22 presentaban VPH 16 (51%), 13 presentaban infección por VPH 18 (30%) y 8 presentaban infección por otros VPH AR (19%). Sin embargo es necesario realizar más investigaciones al respecto para poder determinar con seguridad si la prevalencia de CT está relacionada con algún genotipo en concreto de VPH. Los resultados de nuestro estudio tampoco permiten establecer esta relación. La mayor frecuencia de VPH de AR se explica de nuevo por el diseño del estudio y la inclusión de pacientes que acuden a colposcopia, entre las que la indicación por VPH AR positiva es muy frecuente.

2.3.2. Coinfecciones por otros gérmenes

Según nuestros resultados el 41,5% de las pacientes infectadas por *Chlamydia trachomatis* presenta otra infección concomitante por *Gardnerella vaginalis*, *Candida*

albicans o *Streptococo grupo B*. Debido a esta alta tasa de coinfección consideramos aconsejable la realización de cultivos completos a todas las pacientes. El germen más frecuentemente hallado, en un 70,6% de los casos, es la *Gardnerella vaginalis*, en un porcentaje algo mayor que en las pacientes CT negativas (60,7%). Le sigue la infección por *Candida albicans* con un 33,3% de los casos y el SGB con un 5,9%.

En general, la vaginosis bacteriana causada por *Gardnerella vaginalis* y otros microorganismos y las infecciones por hongos como *Candida albicans* son infecciones asintomáticas que se resuelven espontáneamente. El tratamiento estaría indicado en el caso de presentar sintomatología o en pacientes asintomáticas que van a ser sometidas a cirugía^{281,282}. Sin embargo algunos estudios han observado que el tratamiento de las vaginosis bacteriana puede disminuir el riesgo de transmisión de VIH²⁸³ o de contraer otras ITS como *Chlamydia trachomatis*²⁸⁴.

En nuestro estudio, la mayoría de las pacientes CT negativas con presencia de algún otro germen en el tracto genital inferior estaban asintomáticas, por lo que no recibieron ningún tratamiento. Sin embargo, las pacientes CT positivas que presentaron alguna coinfección sí recibieron tratamiento, tanto para la CT como para los otros gérmenes diagnosticado. Además fueron remitidas a la consulta de ITS donde se completaron los estudios y se realizó el control de erradicación de los gérmenes detectados, tal y como se ha descrito en el apartado correspondiente del capítulo "Material y métodos".

En nuestro trabajo no hemos encontrado ninguna paciente con infección por CT y con coinfección por *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis* ni *Ureaplasma urealyticum*. En algunas poblaciones de alto riesgo se han llegado a encontrar tasas de coinfección por CT y *Neisseria gonorrhoeae* de hasta el 50%, aunque es evidente que en la población general la frecuencia es mucho menor²⁸⁵.

2.4. Paridad

En nuestro estudio no se observan diferencias entre la prevalencia de infección por CT y la paridad. No encontramos diferencias entre la media de hijos de las pacientes con CT y las pacientes sin la infección, por lo que, según nuestros datos, la paridad no influye en el riesgo de contraer CT.

Según la literatura existente hasta el momento, la paridad no es un factor de riesgo identificado para contraer infección por CT. Un estudio sobre factores de riesgo de

infección por CT realizado en Estados Unidos en 1990 sí encontró un mayor riesgo de CT en pacientes con uno o ningún hijo en relación a las pacientes con 2 o más hijos (RR 4,2, 95% IC 1,7-13,7), pero no encontró relación en relación al número de embarazos²⁸⁶. Sin embargo, por lo general, los estudios de prevalencia de CT no incluyen la paridad como marcador de riesgo o como variable que pueda influir en las tasas de infección, por lo que no existen datos concluyentes al respecto.

3. Relación entre la infección por CT y las alteraciones citológicas

La prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en las pacientes remitidas por alteraciones citológicas leves es del 7,2%, más del doble que la prevalencia en las pacientes remitidas por alteración citológica grave, que es del 3,2%. Sin embargo esta diferencia no alcanza la significación estadística, probablemente debido al bajo número de casos de infección por *Chlamydia trachomatis* (n=41).

La mayor prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en pacientes con alteraciones citológicas leves podría explicarse por el mecanismo de transmisión y la historia natural de ambos gérmenes. Ambos son contraídos durante las relaciones sexuales, y ambos pueden permanecer de forma asintomática en el tracto genital. Cuando el VPH persiste, a corto plazo produce lesiones intraepiteliales de bajo grado (que se reflejan en la citología como las alteraciones leves anteriormente descritas). La *Chlamydia trachomatis*, probablemente contraída cerca de la propia infección por VPH, es detectada a la vez que la lesión intraepitelial cervical.

Sin embargo, la infección persistente por VPH a largo plazo pueden producir lesiones intraepiteliales de alto grado. El tiempo que transcurre desde la infección por VPH (y la probable infección concomitante por *Chlamydia trachomatis*) y la aparición de lesiones severas es mayor. En estos casos, la *Chlamydia trachomatis* ya habrá sido probablemente eliminada por la inmunidad del huésped, o habrá producido síntomas que han permitido su diagnóstico y tratamiento para su erradicación. De esta forma podría explicarse la menor prevalencia de CT en las pacientes que acuden a colposcopia por una alteración citológica grave que por una alteración citológica leve.

Además, el pico de incidencia de las alteraciones citológicas leves se produce en pacientes más jóvenes, y por tanto con mayor probabilidad de presentar infección por CT, como queda reflejado en los datos presentados anteriormente.

Teniendo en cuenta que el 80,3% de las pacientes que acuden a nuestra consulta para realización de colposcopia presentan una alteración citológica leve, y que la prevalencia de CT en estos casos es mucho mayor que en la población general, disponemos de una excelente oportunidad para realizar el screening de este microorganismo en pacientes asintomáticas que acuden con alteraciones en el cribado de cáncer de cérvix.

Las investigaciones de Lehman y cols²³¹ en 144 mujeres demuestran que la prevalencia de CT es mayor en mujeres con alteraciones citológicas leves (ASCUS) que en mujeres con citología normal. Lo mismo observaron en EEUU Kanno y cols²⁸⁷, que en 2005 realizaron un estudio con 993 citologías satisfactorias demostrando que las alteraciones citológicas (\geq ASCUS) están relacionadas con la infección por CT (OR 2.04, 95% CI: 1.00-4.15).

En el estudio de Wohlmeister²⁴² de 2016 realizado en Brasil se incluyeron citologías de 169 pacientes. Además de la toma citológica, se recogieron cultivos para la detección VPH y de otras 7 ITS: *Neisseria Gonorrhoeae*, *T. pallidum*, CT, *Trichomona vaginalis*, *Mycoplasma genitalum*, VHS 1 y VHS 2. Se describe una tasa de coinfección de VPH y CT de 2,4%. A diferencia del nuestro, este estudio establece relación entre la infección por CT y la alteración citológica grave ASC-H ($p=0,02$). Sin embargo hay pocos casos de infección por CT ($n=16$), por lo que los datos deben interpretarse con precaución.

4. Relación entre la infección por CT y la histología cervical

Como hemos descrito en el apartado Material y Métodos, el resultado anatomopatológico de las muestras de biopsia tomadas en la colposcopia se clasificó en 3 grupos: AP normal, CIN 1 y CIN 2+. Dentro del grupo de AP normal, se incluyeron las muestras con resultado de benignidad y también todas las pacientes con una colposcopia normal a quienes no se les realizó biopsia.

La exploración colposcópica permite valorar la arquitectura del epitelio y la presencia de imágenes anormales en sus diferentes niveles: alteraciones mínimas (cambios menores o grado 1), severas (cambios mayores o grado 2) o muy graves, sospechosas de carcinoma de cérvix. Estas imágenes se describen según la clasificación internacional de la *International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy* (IFCPC)¹⁵¹.

El diagnóstico de confirmación lo permite la biopsia dirigida, siendo la combinación colposcopia-biopsia la técnica *Gold Standard* para el diagnóstico de las lesiones epiteliales cervicales. Según el metaanálisis de nueve publicaciones realizado por Mitchell y cols en 1998²⁸⁸, la colposcopia-biopsia presenta una elevada sensibilidad para diferenciar el epitelio normal del epitelio con anomalías, una sensibilidad que alcanza el 95% (IC 95%, 87-99). Resultados similares se han publicado en una revisión de treinta y dos estudios que analizan la concordancia entre el resultado de la biopsia dirigida por colposcopia y el resultado definitivo de la pieza de exéresis cervical²⁸⁹. La sensibilidad de la colposcopia-biopsia es mayor si en vez de una biopsia se toman dos ($p < 0,01$).

Con estos datos se confirma que la colposcopia es una técnica muy sensible para la detección de lesiones intraepiteliales cervicales, aunque es poco específica, ya que las imágenes colposcópicas anormales no siempre corresponden con una lesión. Para una óptima precisión en el diagnóstico, es imprescindible una formación específica y continuada en patología del tracto genital inferior²⁹⁰.

En nuestro estudio no observamos diferencias en la prevalencia de CT entre las pacientes con AP normal, CIN 1 o CIN 2+, siendo de 7,1%, 6,2% y 5,7% respectivamente ($p = 0,86$).

Las pacientes CT positivas presentaron una AP normal en el 26,4%, frente al 30% de las pacientes CT negativas; un CIN 1 en el 48,6% y en el 47,5% de los casos respectivamente y un CIN 2+ en el 25% y el 22,5% respectivamente, valores muy similares entre sí.

Varios estudios publicados hasta el momento sí relacionan la infección por CT con las lesiones intraepiteliales cervicales y su severidad. Valadan²⁴¹ demostró en 2010 que la seropositividad frente a CT se asocia con un riesgo incrementado de CIN (OR 7,3; 95% IC 1,5-35,2). Otro estudio llevado a cabo en Argentina por Golijow y cols²³⁸ en 2009 observó que la prevalencia de CT aumenta desde niveles bajos en mujeres con citología normal (11%) hasta un 47% en mujeres con SIL-AG, aunque en los casos de CCU la prevalencia fue menor (20%). Establece por tanto una relación entre la CT y el CIN 3, pero no entre la CT y el CCU.

De los 8 casos de cáncer de cérvix incluidos en nuestro estudio, ninguno fue positivo a CT en el momento del diagnóstico. Sin embargo, y en la misma línea de los estudios descritos anteriormente hay varias publicaciones que aunque tienen resultados muy

disparos, relacionan la CT con el CCU y afirman que la CT es un cofactor en la carcinogénesis cervical.

Uno de los estudios más importantes a este respecto fue llevado a cabo por Antilla en Finlandia en 2001²³⁶: se trata de un estudio de casos y controles que analiza la seropositividad IgG frente a CT en 181 casos de CCU. La prevalencia de Ac frente a CT en los casos y controles fue 27% y 13%, respectivamente. Además, el estudio distingue entre los diferentes serotipos de CT, siendo el serotipo G el que más se asoció al CCU (OR 6,6; 95% IC, 1,6-27,0). Otros serotipos asociados al CCU fueron el serotipo I (OR 3,8; 95% IC 1,3-11,0) y D (OR 2,7; 95% IC 1,3-5,6). Concluyen también que hay una asociación límite con el serotipo B (OR 4,1; 95% IC 1,0-18,0) y que la exposición a múltiples serotipos de forma concomitante incrementa el riesgo de CCU ($P < 0,001$). En otro estudio finlandés, los Ac frente a serotipos G, F y K eran más frecuentes en mujeres que desarrollaban CCU que en los controles²⁹¹.

El anterior estudio de Koskela y cols²³⁷ realizado en el año 2000 en Finlandia, Noruega y Suecia encontró resultados similares: la seropositividad frente a CT se relaciona con el CCU (OR 2,2; 95% IC 1,5-3,3), asociación que continúa siendo significativa tras ajustar por hábitos tabáquicos y/o seropositividad frente a VPH 16 o frente a cualquier otro VPH (OR 1,7; 95% IC 1,1-2,7). La seropositividad frente a CT se asocia a más riesgo de CCU escamoso (OR 2,2; 95% IC 1,3-3,5), pero no se encuentra asociación con el adenocarcinoma de cérvix (OR 0,4; 95% IC 0,1-1,7).

El estudio más contundente que relaciona la CT con el CCU fue publicado por Wallin²³⁹ en 2002. Observó, con 118 pacientes con CCU y 118 controles, que en las mujeres con CCU había una prevalencia de CT del 8%, mientras que no se constató ningún caso de infección en los controles. Por tanto, según estos datos, el riesgo relativo de CCU en pacientes con infección pasada por CT, ajustado por infección concomitante por VPH (ADN positivo) fue de 17.1 (95% IC 2.6-∞).

Smith y cols²⁴⁰ en 2002 estudiaron 455 pacientes con CCU escamoso y 44 con adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso en Brasil y en Filipinas. Encontraron que la seroprevalencia de CT es significativamente mayor en las pacientes con CCU escamoso que en los controles (47,7% vs 22,1%; $P < 0,0001$), pero no en los pacientes con adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso (29,6% vs 22,1%). Además concluyeron que las mujeres seropositivas frente a CT tienen más riesgo de padecer CCU escamoso (combinando ambos países el OR es 2,4; 95% IC 1,1-5,4) y que el riesgo es similar con todos los serotipos de *Chlamydia trachomatis*. En el caso de

adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso no demuestran esta asociación (OR, 0,8; 95% IC 0,3-2,2), igual que el estudio de Koskela del año 2000. Estos hallazgos pueden ser sorprendentes, ya que se conoce que las células glandulares endocervicales son las células diana de la CT (las mujeres con ectopia cervical son más susceptibles de contraer la infección por *Chlamydia trachomatis*), y sin embargo la *Chlamydia trachomatis* no actúa como cofactor en el adenocarcinoma, sino en el carcinoma de células escamosas. Una posible explicación, como describiremos más adelante, es que la CT induce metaplasia de las células endocervicales en células escamosas, y es en estas células metaplásicas donde se desarrollará el CCU.

Más adelante, en 2004, Smith²⁰⁴ llevó a cabo un análisis combinado con los datos de la IARC (*International Agency for Research on Cancer*) recogiendo información de 1139 casos de CCU escamoso invasor y 99 casos de adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso. Entre los casos y controles VPH positivos, el riesgo de CCU escamoso era mayor si la mujer era seropositiva a CT (OR 1,8; 95% IC 1,2-2,7, $p < 0,001$) con una relación directa con el título de anticuerpos. En este estudio tampoco se encuentra relación entre la seropositividad frente a CT y el adenocarcinoma o carcinoma adenoescamoso (OR 1,0; 95% IC 0,53-1,9). El efecto de la CT era similar en los diferentes serotipos (OR 2,17 para serotipo A; OR 2,21 para serotipos B, E y D; OR 1,65 para C, J, H e I; y 1,87 para F, G y K); es decir, ninguno de los serotipos tenía mayor relación con el CCU que los demás.

En contrapartida, también hay varios estudios publicados que no han encontrado esta relación entre la infección por CT y el CIN o el CCU.

En 2014, Tungsrithong²⁴³ realizó un estudio en Tailandia analizando la presencia de Ac frente a CT en muestras sanguíneas 61 pacientes con CCU y en 288 controles, sin encontrar una asociación significativa, si bien la prevalencia de CT en pacientes con CCU fue algo mayor que en la de los controles (18,0% vs 14,6%). Resultados similares se obtuvieron en estudios realizados en Turquía²⁴⁴ en 2013 y en Iran²⁴⁶ en 2012. También en 2012, Da Silva²⁹² encontró una prevalencia un poco mayor de CT en pacientes VPH positivas pero la diferencia tampoco fue estadísticamente significativa. Lehtinen y cols²⁹³ (2011) constataron que las mujeres infectadas por CT tenían 2 veces más riesgo que las no infectadas de desarrollar un CIN 2, en un seguimiento de 3,7 años. Sin embargo, no se observó esta relación con el CIN 3. Safaiean y cols²⁴⁵ (2010) no observaron relación entre la CT y la prevalencia o incidencia de CIN 2+ al restringir el estudio a las pacientes con infección por VPH AR. Según este estudio es improbable que la infección por CT afecte a la persistencia o a la progresión de las lesiones

precancerosas. El estudio de de Paula y cols²⁹⁴ (2007) tampoco encuentra diferencias significativas entre la severidad de las lesiones intraepiteliales y la presencia de CT. Encuentran una tasa de infección por CT en las muestras con alteraciones histológicas similar a la de las pacientes con citologías negativas (9%). Otros autores que no encuentran relación entre el CIN y la *Chlamydia trachomatis* son Castle²⁹⁵ en 2003, Reesink Peters²⁹⁶ en 2001 y Borisov²⁹⁷ en 1995. Todas estas publicaciones sugieren que la CT parece no estar involucrada en el desarrollo de dichas lesiones y por consecuencia en la carcinogénesis cervical.

Por tanto, la relación entre HPV y CT continúa siendo controvertida, y son necesarios más estudios para poder llegar a conclusiones más determinantes²⁴⁷.

No se conoce exactamente cómo interactúan la CT y el VPH en las células epiteliales del cérvix, pero parece que la *Chlamydia trachomatis* influye mediante diferentes mecanismos moleculares en la carcinogénesis cervical.

La CT infecta las células endocervicales, por lo que las mujeres con ectopia son más propensas a sufrir una infección. La CT puede inducir metaplasia de las células cilíndricas que revisten el endocérnix^{298,299,300,301}, y el HPV tiene especial tropismo por infectar estas células metaplásicas de la unión escamocolumnar²⁴⁹. Es precisamente en esta zona de transformación donde suele iniciarse la neoplasia cervical²⁵⁰. Además, la CT incrementa la susceptibilidad frente al VPH al producir microabrasiones y alteración de las uniones entre las células epiteliales, dañando la barrera mucosa y facilitando así la entrada del virus del papiloma.

Mientras que la infección del cérvix por VPH es poco inmunogénica y no produce grandes cambios inflamatorios³⁰², la infección por CT segrega grandes cantidades de citocinas y produce especies reactivas de oxígeno con activación de la cascada inflamatoria y promoción de la angiogénesis²⁵². Todo ello aboca en una inflamación crónica del tejido cervical que puede objetivarse tanto en las células obtenidas mediante citología como en el examen colposcópico y en la muestra histológica^{303,304}. En este proceso inflamatorio se generan metabolitos oxidativos y se liberan radicales libres y óxido nítrico (NO)³⁰⁵. En las lesiones precancerosas y en el cáncer de cérvix hay liberación aumentada de NO^{306,307,308}, y también se ha visto que niveles elevados de NO pueden favorecer la persistencia del VPH AR³⁰⁹. Todos estos mediadores inflamatorios pueden dañar las proteínas reparadoras del ADN o generar genotoxicidad directa, produciendo inestabilidad cromosómica^{310,311}. De esta forma, la

CT también incrementa la susceptibilidad del huésped frente al VPH, y en cierta forma potencia sus efectos e incrementa el riesgo de CCU^{312,313}.

La liberación de las citocinas producidas por la CT también altera la adhesión celular y la diferenciación celular³¹⁴, y hay datos in vitro que sugieren que la CT inhibe la capacidad apoptótica de las células infectadas^{255,256}. Parece que la CT bloquea la liberación del citocromo C mitocondrial y la caspasa 3, lo que hace que las células infectadas sean resistentes a la acción de las células Natural Killer CD8. Además, la inflamación producida por la infección puede favorecer la replicación del VPH o la fragmentación de su ADN, lo que facilitaría la integración del ADN viral en las células epiteliales²⁵⁷.

No se conoce con exactitud el proceso de integración del ADN viral en las células del huésped pero varios estudios sugieren que la inflamación local produce un daño en el ADN celular que facilita dicha integración^{315,316}. La presencia de otras co-infecciones y especialmente la coinfección por CT podrían potenciar este efecto³¹⁷.

Nuestro estudio no confirma la mayor prevalencia de lesiones de alto grado en las pacientes infectadas por CT, pero existen evidencias suficientes para creer que la CT influye mediante todos estos mecanismos en la infección del cérvix por el VPH. Sin embargo, al existir tanta discordancia en las diversas publicaciones hasta el momento, serían necesarios más estudios para llegar a conclusiones más determinantes.

5. Evolución de la infección y las lesiones intraepiteliales

5.1. Aclaramiento del VPH

Según la bibliografía, alrededor del 70% de las infecciones por VPH son eliminadas en el primer año tras su contagio, y se estima que hasta el 90% se resuelven en un periodo de hasta 2 años⁴⁶.

Aunque en nuestro estudio no objetivamos el 70% de aclaramiento descrito en la bibliografía en el control realizado a los 12 meses, vemos que la mayoría de las pacientes que tenían un estudio histológico normal del cérvix o un CIN 1 aclaran la infección (63,3% y 52,6% respectivamente). Lo mismo ocurre en el control realizado a los 6 meses en el caso de las pacientes con CIN 3 tratadas con conización (59,2%).

Observamos que los porcentajes de aclaramiento son similares en todos los grupos histológicos, con una tasa de aclaramiento ligeramente superior en el caso de una histología normal (63,3%), lo que es un reflejo de que la mayoría de las infecciones por VPH son transitorias y de corta duración, y la inmunidad del huésped las elimina en un plazo de 1 ó 2 años.

Se observan tasas similares de aclaramiento en las pacientes con CIN 3 (59,2%). Todas estas pacientes fueron tratadas mediante una conización eliminando toda la zona de transformación, lugar por el que el VPH tiene especial tropismo. Por tanto, el tratamiento con conización favorece la eliminación del VPH.

Sin embargo en el caso de las pacientes con CIN 1 la tasa de aclaramiento es ligeramente menor (52%). Las pacientes con una lesión histológica de bajo grado confirmada ya presentan una infección persistente y no transitoria por VPH. Como en este grupo de pacientes se mantiene una actitud expectante, puede ser más probable que el aclaramiento espontáneo del VPH se demore durante más tiempo.

5.2. Evolución del CIN

Según describe la literatura, entre un 60-80% de los CIN 1 se resuelven espontáneamente sin necesidad de tratamiento, y sólo un 5-10% progresan una lesión de alto grado o CIN 2+.

La tasa lesiones de alto grado observada es diferente en función de la citología precedente al diagnóstico del CIN 1. Así, con una alteración citológica leve o cuando la colposcopia ha sido indicada por presencia de VPH AR, la posibilidad de diagnosticar un CIN 2+ o de desarrollarlo en los 6-24 meses posteriores oscila entre el 4-13%. A corto plazo, no se han descrito carcinomas invasores en las pacientes con CIN 1³¹⁸.

Además hay estudios que han demostrado que no existen diferencias significativas en la tasa de CIN 2+ a corto plazo en pacientes con CIN 1 tratadas con conización y en las no tratadas³¹⁹. Estos resultados y la baja tasa de progresión del CIN 1 a lesiones de alto grado permiten mantener una actitud expectante realizando controles seriados, considerándose adecuado el plazo de 12 meses tras el diagnóstico. La prueba de elección para realizar este control es el co-test (citología + determinación de VPH), ya que es la que ofrece mayor sensibilidad en la detección del CIN 2+. En estos casos, el riesgo CIN 2+ a los 5 años de un co-test negativo es tan solo del 1,1%, mientras que

tras 5 años de una prueba de VPH negativa es del 1,8%, y asciende al 4,0% al de 5 años tras una citología negativa³²⁰.

Cuando el diagnóstico de CIN 1 se realiza tras una citología con alteración severa (ACG, ASC H o SIL AG), hay mayor riesgo de que la colposcopia-biopsia hayan pasado por alto una lesión de alto grado. Es por ello que tradicionalmente estas pacientes eran tratadas mediante conización (conización por discordancia cito-histológica), y así lo realizábamos nosotros en el momento de la realización de nuestro estudio. Sin embargo, datos más actualizados proponen un seguimiento de estas pacientes, que al igual que en el caso anterior, debe realizarse mediante un co-test al de 12 meses, también por su elevada sensibilidad. El riesgo de CIN 2+ a 5 años en estas pacientes es mucho menor en las pacientes con un co-test negativo (2%) que en las que presentan citología negativa (7%) o una determinación del VPH negativo (4,4%)³²¹.

En nuestro estudio, las pacientes con AP normal pero con VPH AR inicialmente, continuaron sin lesiones intraepiteliales cervicales en un 87,1% de los casos. En el 12,9% restante se diagnosticó un CIN 1 (8,6%) o un CIN 3 (4,3%) en el control realizado al año. Estos porcentajes podría corresponder a lesiones no diagnosticadas en la colposcopia inicial o bien a progresión de la displasia producida por la persistencia del virus, por lo que es importante la realización de controles en estas pacientes con VPH aunque presenten una histología normal.

En el caso del CIN 1, en el control al año el 80,1% de los casos presentó una regresión de la lesión, si bien persistió el VPH AR en un tercio de ellas. En el 15,9% persistió el CIN 1 en el control anual. Tan solo el 4% de los CIN 1 progresó a lesiones de alto grado. Estos datos confirman la elevada tasa de regresión y el bajo potencial de progresión de las lesiones que está descrita en la literatura. Nuestros datos además corroboran la seguridad de las nuevas recomendaciones de realizar un control al de un intervalo de tiempo de 12 meses ante un diagnóstico histológico de displasia de bajo grado o CIN 1.

En el caso del CIN 2, parece que hasta en el 40-74% de las pacientes puede regresar espontáneamente en los 2 años siguientes al diagnóstico³²², el 22% progresa a CIN 3 y un 5% progresa a CCU³²³. Cuando el diagnóstico histológico es un CIN 3, el riesgo de progresión a CCU está considerado de aproximadamente un 30% a corto plazo y del 50% a largo plazo³²⁴. Es por ello que el tratamiento de las lesiones CIN 2-3 es actualmente una opción indiscutible, salvo en casos seleccionados, y así se recomienda en todas las guías clínicas publicadas recientemente. Está demostrado que este tratamiento disminuye la incidencia del CCU, y por tanto su mortalidad³²⁵. Las

publicaciones sobre la evolución natural de estas lesiones son limitadas ya que no se considera ético realizar estudios privando a las pacientes del tratamiento y de sus beneficios a largo plazo.

Nosotros no disponemos de datos de la evolución natural del CIN 2-3 puesto que seguimos la recomendación de tratar a todas las pacientes con alteraciones cervicales severas para evitar su progresión a cáncer de cérvix. Las pacientes con CIN 2-3 fueron por tanto tratadas mediante conización, y tras ella se realizó un control a los 6 meses donde se observó una tasa de curación de la lesión del 86,4% (co-test negativo o persistencia de VPH AR con colposcopia \pm AP normal). Tan solo el 8,8% presentó un CIN 1 en el control a los 6 meses y en el 4,8% se observó una persistencia del CIN 2-3, que requirió nuevos tratamientos. Las tasas de curación con la conización en nuestra Unidad de Patología cervical son excelentes, similares a las descritas en la literatura de alrededor del 80-90%.

En ninguno de los grupos histológicos observamos ningún caso de evolución a cáncer de cérvix a corto plazo.

5.3. Influencia de la CT en el aclaramiento del VPH y la evolución del CIN

a) Persistencia del VPH

En el control realizado a los 6 ó 12 meses, en el 60% de las pacientes CT positivas persiste el VPH, mientras que este porcentaje desciende a 41,9% en las pacientes CT negativas. Observamos que la persistencia del VPH en las pacientes CT positivas es entre un 38,6% y un 57,1% mayor que en las pacientes CT negativas, en función de la histología cervical inicial. Nuestros datos concuerdan por tanto con numerosos estudios que aseguran que la CT favorece la persistencia del VPH en las células epiteliales cervicales.

Esta mayor persistencia del VPH en las pacientes con infección por CT se puede explicar por varios mecanismos. Por un lado, la inmunidad del huésped puede verse alterada por la infección por CT. Las mujeres seropositivas a CT tienen mayor tendencia a activar la inmunidad humoral (mediada por linfocitos T Helper tipo 2) en respuesta a determinados antígenos que la inmunidad celular³²⁶. Sin embargo, la responsable principal del aclaramiento del HPV es la respuesta inmune celular (mediada por linfocitos T Helper tipo 1)³²⁷. Además la CT también produce una disminución de las células presentadoras de antígenos³²⁸. Se cree por tanto que la CT

modula la inmunidad cervical, y de esta manera influye en el aclaramiento del HPV^{329,330}. Además, como hemos citado anteriormente, la CT produce un aumento de los niveles de NO, dificultando el aclaramiento del VPH. Así, la infección por CT favorece la persistencia del HPV, lo cual es un paso esencial y el factor de riesgo más importante para el desarrollo de la displasia cervical^{331,332,333}. El estudio de Samoff y cols (2005)³³⁴ es un estudio de cohortes prospectivo que incluye 621 adolescentes entre 13 y 19 años, que analiza la persistencia del VPH AR en pacientes con CT y otras ITS. Sus resultados concluyen que la infección por CT se asocia con persistencia de VPH AR (OR 2,1; 95% IC 1,0-4,1). Incluso hay datos de que la CT puede modificar la actividad viral al incrementar la expresión de algunas proteínas del HPV en las lesiones de bajo grado³³⁵.

Nuestros datos corroboran la mayor persistencia del VPH en las pacientes CT positivas, con las consecuencias a largo plazo que dicha persistencia puede producir en las células epiteliales cervicales. Resulta por tanto muy importante la detección de las infecciones asintomáticas por *Chlamydia trachomatis* con el fin de prevenir la progresión de las lesiones precursoras hacia CCU.

b) Evolución las lesiones intraepiteliales

Observamos que en todos los grupos, la evolución de las pacientes CT positivas es peor que las pacientes CT negativas. La significación estadística sólo se alcanza en el grupo que incluye más casos de CT positivas: el de histología inicial CIN 1 con 14 pacientes infectadas. En los otros dos grupos, si bien las diferencias no son estadísticamente significativas, la tendencia se define claramente hacia un menor aclaramiento viral y una peor evolución clínica de las lesiones intraepiteliales.

En el caso de las pacientes con AP normal, existe mayor progresión de las lesiones en las pacientes CT positivas, tanto a CIN 1 como a CIN 2-3.

En las pacientes con CIN 1, destaca la diferencia significativa en la regresión de las lesiones: el 81,9% de las pacientes sin infección por CT frente al 50% en las CT positivas lo que supone un 61% menos. El CIN 1 persiste 3,5 veces más en las pacientes CT positivas que en las negativas (50% frente al 13,9%). Estas diferencias resultan estadísticamente significativas, con $p < 0,01$. Sin embargo, no se ha observado ningún caso de progresión a CIN 3 en las CT positivas, frente a 10 casos del grupo CT negativas.

En las pacientes con CIN 2-3 observamos que en el control realizado a los 6 meses tras la conización el CIN 1 persiste casi 2 veces más en las pacientes CT positivas que en las negativas (14,3% frente a un 8,5%) y el CIN 2+ lo hace 3,5 veces más (14,3% frente a un 4,2%).

Cabe destacar que las 30 pacientes con infección por *Chlamydia trachomatis* recibieron tratamiento, siendo comprobada la erradicación de la bacteria mediante un control con cultivos en 28 de ellas. Las otras dos pacientes recibieron el tratamiento adecuado para la infección pero no se realizaron control de erradicación mediante cultivos.

Concluimos por tanto que a pesar del tratamiento, parece que a corto plazo la *Chlamydia trachomatis* influye de forma importante en el daño celular causado por el VPH en el cérvix. Interesa por tanto un despistaje de esta ITS que suele cursar de forma asintomática, a fin de poder conocer los casos que se encuentran en riesgo de presentar un menor aclaramiento viral y una peor evolución de las lesiones a corto plazo. El identificar las pacientes de riesgo permite realizarles un seguimiento estrecho e individualizado, tengan alteraciones histológicas o no en el momento del diagnóstico, ya que observamos que en todos los grupos de histología la evolución es claramente desfavorable.

Como ya hemos destacado anteriormente, son las pacientes jóvenes menores de 30 años las que presentan una mayor tasa de infección por CT. Si la infección por CT potencia la acción producida por el VPH y favorece la persistencia y progresión de las lesiones, estas pacientes tendrán más posibilidades de presentar lesiones de alto grado que requieran una conización, con las repercusiones obstétricas que dicho tratamiento conlleva. Además habría que sumar el efecto perjudicial a nivel reproductivo que produce la infección por *Chlamydia trachomatis* (EIP, esterilidad, gestación ectópica...). Es por ello que resulta muy importante el despistaje de ésta y otras ITS en las pacientes jóvenes, y más aún si no tienen su deseo genésico cumplido.

Cualquier consulta de ginecología y especialmente la consulta de Patología Cervical representa una excelente oportunidad para la captación de pacientes para despistaje de ITS mediante cultivos. La toma de cultivos antes de la exploración colposcópica no requiere de ningún material adicional a excepción de 3 hisopos (1 vaginal y 2 endocervicales), no prolonga significativamente el tiempo de la exploración ni la dificulta posteriormente, ni tampoco altera los resultados de la colposcopia, por lo que el momento es óptimo para la toma de muestras. Además, el resultado puede ser

informado en las sucesivas citas de seguimiento y control de la patología cervical, por lo que no supone un aumento del número de consultas que requiere una paciente ya remitida a colposcopia.

6. Otros datos

6.1. Vacunación previa frente a VPH

De las 640 pacientes incluidas, tan sólo 15 habían sido vacunadas frente al VPH.

La vacunación sistemática del VPH en el calendario vacunal fue implementándose en España durante los años 2007-2008, hasta alcanzar en 2015 una tasa de cobertura global para la pauta completa de 79,2%³³⁶ en las niñas entre 11 y 14 años. Actualmente se ha intentado unificar la edad de administración a los 12 años en todas las comunidades autónomas.

Para mujeres no incluidas en el calendario vacunal, las dos vacunas comercializadas hoy día (CervarixTM y Gardasil[®]) son de libre dispensación en todas las farmacias españolas. Sin embargo, tal y como demuestra nuestro trabajo, muy pocas mujeres adultas en España se la han administrado, a pesar de sus beneficios demostrados y su excelente seguridad³³⁷.

Esta baja tasa de cobertura vacunal en mujeres adultas se debe en parte a la desinformación de las pacientes, que desconocen su recomendación más allá de la adolescencia. Según las últimas evidencias, no sólo es posible su aplicación, sino que existe una recomendación clara a favor de su administración, ya que se ha demostrado que la inmunidad natural no protege completamente de la re-infección⁹². Por tanto, la vacunación debe aconsejarse a todas las pacientes sexualmente activas, independientemente de si han entrado en contacto o no con el VPH. En el caso de las pacientes con antecedente de patología cervical, la vacunación también es beneficiosa porque puede prevenir la reactivación o la reinfección por los genotipos incluidos y reduce las recidivas de las lesiones⁹².

Es por tanto labor del ginecólogo informar a las pacientes que acuden a la Unidad de Patología Cervical, proporcionándoles fuentes fidedignas respecto a los riesgos y beneficios de la vacunación y así promoverla en este grupo de pacientes. No obstante, la promoción de la vacunación debería comenzar en las consultas de Atención Primaria por parte de los médicos y las matronas de los centros de salud.

6.2. Serologías

Las infecciones de transmisión sexual constituyen un problema de salud pública de gran importancia en todo el mundo. En muchas ocasiones estas ITS son asintomáticas y no son tratadas, por lo que pueden dejar secuelas importantes: enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), infertilidad, embarazos ectópicos, cánceres anogenitales y morbilidad neonatal. Además pacientes con infecciones genitales presentan más riesgo de transmisión sexual del VIH.

El despistaje de infecciones como VIH, Hepatitis B, Hepatitis C y Lúes en pacientes asintomáticas está recomendada sobre todo en grupos de riesgo^{338,339} como pacientes que mantienen relaciones con personas infectadas, que ejercen la prostitución, pacientes que tienen múltiples parejas sexuales sobre todo si no utilizan un método anticonceptivo de barrera, pacientes con historia de ITS previa o adictos a drogas vía parenteral. Además, el despistaje debe realizarse en todas las pacientes embarazadas, para prevenir las complicaciones obstétricas derivadas, y debe repetirse en cada nuevo embarazo²²⁴.

Las pacientes que acuden a nuestras consultas presentan una ITS previa (infección por VPH), por lo que están en una situación de mayor riesgo que la población general de presentar otras ITS. Es por ello que realizamos estudios completos a todas ellas.

En los análisis de despistaje de las 601 muestras serológicas extraídas en nuestro estudio, se diagnosticaron: 3 casos de Lúes, 1 caso de Hepatitis B crónica, 2 casos de Hepatitis B pasada y 1 caso de Hepatitis C. No se diagnosticó ningún caso de VIH.

Se trata de muy pocos casos (0,01%), por lo que podría ser cuestionable la indicación de realizar serologías a todas las pacientes, y podría limitarse a pacientes con conductas de mayor riesgo. Sin embargo, cabe decir que el estudio de despistaje de ITS incluyendo serologías se ofrece a todo paciente que desee realizárselo y pertenezca al área de influencia de Osakidetza, aunque no presente factores de riesgo importantes. Este estudio se puede realizar en varios centros de la comunidad autónoma vasca, siendo los puntos de referencia en Bizkaia el ambulatorio de Bombero Etxaniz (Bilbao) y las consultas de microbiología del Hospital Universitario Basurto (Bilbao).

6. CONCLUSIONES

La prevalencia global de infección por *Chlamydia trachomatis* en las pacientes con VPH en el tracto genital inferior es del 6,4%.

La edad es un factor determinante, con una prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* del 11,3% en pacientes menores de 30 años. La edad (30 años o más) es un factor protector de infección por *Chlamydia trachomatis* con un OR de 0,6 (95% IC 0,43-0,84) en relación a pacientes de entre 20 y 29 años.

Nuestros datos muestran una mayor prevalencia de CT en pacientes usuarias de ACH. Sin embargo, la elección de los diferentes métodos anticonceptivos está directamente relacionada con la edad de la paciente, siendo ésta el verdadero determinante de la infección por CT.

No hemos encontrado diferencias en la prevalencia de CT en relación al hábito tabáquico, coinfección con otros microorganismos o diferentes genotipos de VPH y la paridad de las pacientes.

En nuestro estudio, la infección por *Chlamydia trachomatis* es un factor condicionante en el aclaramiento del VPH y en la evolución de las lesiones intraepiteliales cervicales, con una clara tendencia a un menor aclaramiento del VPH y una peor evolución de las lesiones.

En las pacientes con CIN 1 y CT positivas, nuestros datos muestran una persistencia significativamente mayor de las lesiones intraepiteliales. El CIN 1 persiste 3,5 veces más en las pacientes CT positivas que en las negativas (50% frente al 13,9%, $p < 0,01$)

Nuestros datos nos corroboran la conveniencia de realizar un screening de *Chlamydia trachomatis* en todas las pacientes con alteraciones en las pruebas de cribado de cáncer de cuello uterino. De esta forma, podemos detectar infecciones asintomáticas en pacientes jóvenes y evitar sus consecuencias a nivel reproductivo. Asimismo el diagnóstico de la infección por CT nos puede permitir seleccionar las pacientes con mayor probabilidad de persistencia del VPH y de peor evolución de las lesiones intraepiteliales, a fin de realizar un seguimiento más estrecho y un tratamiento más personalizado,

Sin embargo, son necesarios más estudios para confirmar estos hallazgos y establecer la relación entre el VPH y la CT con mayor certeza.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; 324, 17–27.
- ² Hans-Ulrich B, Robert D, Chez Z, Van Dooslaerb K, zur Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 2010; 401(1); 70-79.
- ³ de Villiers EM. Human pathogenic papillomavirus types: an update. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994; 186: 1-12.
- ⁴ Muñoz N, Bosch FX, Shah KV, Meheus A. The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1992. 16.
- ⁵ NIH Consensus Development Panel. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Cervical Cancer. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1996; 21: 7.
- ⁶ Bosch FX, Manos MM, Muñoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
- ⁷ Walboomers JMM, Meijer CJ. Do VPH-negative cervical carcinomas exist? *J Pathol* 1997; 181: 253-4.
- ⁸ Pfister H, Fuchs PG. Anatomy, taxonomy and evolution of papillomaviruses. *Intervirology* 1994; 37: 143-9.
- ⁹ Southern SA, Herrington CS: Molecular events in uterine cervical cancer. *Sex Transm Infect* 1998; 74: 101.
- ¹⁰ Beutner KR, Tying S. Human papillomavirus and human disease. *Am J Med* 1997; 102: 9.
- ¹¹ Laimins LA. The biology of human papillomaviruses: from warts to cancer. *Infect Ag Dis* 1993; 2: 74-86.
- ¹² Arroyo JD. Papilomavirus humanos, cáncer cervical y vacunación. *Virología* 2010; 13.
- ¹³ Dürst M, Bosch FX, Glitz D, Schneider A, ZurHausen H. Inverse relationship between human papillomavirus (HPV) type 16 early gene expression and cell differentiation in nude mouse epithelial cyst and tumors induced by VPH-positive human cell lines. *J Virol* 1991; 65: 796-804.

-
- ¹⁴ Dysin N, Howley PM, Münger K, Harlow E. The human papillomavirus 16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989; 243: 934-7.
- ¹⁵ Heck DV, Yee CL, Howley PM, Münger K. Efficiency of binding the retinoblastoma protein correlates with the transforming capacity of the E7 oncoproteins of human papillomaviruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 4442-6.
- ¹⁶ Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiología médica*. Elsevier 2009.
- ¹⁷ Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2007; 370(9590): 890.
- ¹⁸ Howley PM. Role of the human papillomaviruses in human cancer. *Cancer Res* 1991; 51(18): 5019-22.
- ¹⁹ Stoler MH. A brief synopsis of the role of human papillomaviruses in cervical carcinogenesis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1091-8.
- ²⁰ Van Ranst MA, Tachezy R, Delius H, Burk RD. Taxonomy of the human papillomavirus. *Hum Pathol* 1993; 3: 61.
- ²¹ Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Xavier Castellsagué X, Shah KV, et al. For the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-527.
- ²² Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244.
- ²³ Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens V Part B: Biological agents. *Lancet Oncol* 2009; 10: 321-322.
- ²⁴ Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007; 121(3): 621-32.
- ²⁵ de Sanjosé S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010; 11(11): 1048.
- ²⁶ Ferris DG, Cox JT, O'Connor DM. The biology and significance of human papillomavirus infection. In Haefner HK, Krumholz BA, Massad LS (eds): *Modern Colposcopy*. Dubuque, IA, Kendall/Hunt Publishing, 2004, p 89.

-
- ²⁷ Muñoz N. Human papillomavirus and cervical cancer: epidemiological evidence. In: Franco E, Monsonog J, (dirs). New development in cervical cancer screening and prevention. Oxford Blackwell Science 1997;3.
- ²⁸ IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 64. Human Papillomaviruses. Lyon, International Agency for Research on Cancer; 1995.
- ²⁹ Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12–9.
- ³⁰ A. Torné Bladé. Capítulo 21: Patología premaligna del cuello uterino. *Ginecología González-Merlo* 9ª Edición 2014. p 416-445.
- ³¹ Schwartz E, Freese UK, Gissman L, Mayer L, Roggenbuck B, Stremmlau A, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cell. *Nature* 1985; 314: 111-4.
- ³² Yee CL, Krishnan-Hewlett I, Baker CC, Schlegel R, Howleg PM. Presence and expression of human papillomavirus sequences in human cervical carcinoma cell lines. *Am Pathol* 1985; 119: 361-6.
- ³³ Meijer CJ, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, van der Linden JC, Voorhorst FJ, Walboomers JM. HPV typing and testing in gynaecological pathology: has the time come? *Histopathology* 1998; 33(1): 83–86.
- ³⁴ Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. IRAC HPV Prevalence Surveys study group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytological normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis, *Lancet* 2005; 366(9490): 991-8.
- ³⁵ Documento de Consenso SEGO. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. La infección por papilomavirus, 2002.
- ³⁶ Castellsagué X, Iftner T, Roura E, Vidart JA, Kjaer SK, Bosch FX, et al. CLEOPATRE Spain Study Group. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus infection of the cervix in Spain: the CLEOPATRE study. *J Med Virol* 2012; 84(6): 947-56.
- ³⁷ Bosch FX, Tsu V, Vorsters A, Van Damme P, Kane MA. Reframing cervical cancer prevention. Expanding the field towards prevention of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine* 2012; 30(5): 1-11.
- ³⁸ de Sanjosé y García. 4a Monografía de la Sociedad Española de Epidemiología. Virus del papiloma humano y cáncer: epidemiología y prevención. 2006.

-
- ³⁹ GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. ARCI: OMS. Accesible en: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>.
- ⁴⁰ Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008. GLOBOCAN 2008.
- ⁴¹ Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human Papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88(1): 63-73.
- ⁴² Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human Cancer. *Vaccine* 2006; 24(3): 1-10.
- ⁴³ Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118(12): 3030-44.
- ⁴⁴ Trimble CL, Hildesheim A, Brinton LA, Shah KV, Kurman RJ. Heterogenous etiology of squamous carcinoma of the vulva. *Obstet and Gynecol* 1996; 87: 59-64.
- ⁴⁵ Frisch M, Glimelius B, van den Brule AJ, Wholfahrt J, Meijer CJ, Walboomers JM, et al. Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. *N Engl J Med* 1997; 337(19): 1350-8.
- ⁴⁶ Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervical papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338(7): 423-8.
- ⁴⁷ Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, et al. Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine* 2012; 30(5): 24-33.
- ⁴⁸ Einstein MH, Schiller JT, Viscidi RP, Strickler HD, Coursaget P, Tan T, et al. Clinician's guide to human papillomavirus immunology: knowns and unknowns. *Lancet Infect Dis* 2009; 9(6): 347-356.
- ⁴⁹ Zentz C, Wiesner M, Man S, Frankenberger B, Wollenberg B, Hillemanns P, et al. Activated B cells mediate efficient expansion of rare antigen-specific T cells. *Hum Immunol* 2007; 68(2): 75-85.
- ⁵⁰ Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine* 2006; 24(1): 16-22.
- ⁵¹ Dyson N, Howley PM, Münger K, Harlow E. The Human papillomavirus 16 E7 oncoprotein is able to find the retinoblastoma gene product. *Science* 1989; 243: 934-7.
- ⁵² Shah K. Human Papillomaviruses and anogenital cancers. *N Engl J Med* 1997; 337(19): 1336-1344.

-
- ⁵³ Almonte M, Albero G, Molano M, Carcamo C, García PJ, Pérez G. Risk factors for human papillomavirus exposure and co-factors for cervical cancer in Latin America and the Caribbean. *Vaccine* 2008; 26(11): 16-36.
- ⁵⁴ Drain PK, Holmes KK, Hughes JP, Koutsky LA. Determinants of cervical cancer rates in developing countries. *Int J Cancer* 2002; 100(2): 199-205.
- ⁵⁵ Kjellberg L, Hallmans G, Ahren AM, Johansson R, Bergman F, Wadell G, et al. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intra-epithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer* 2000; 82: 1332-38.
- ⁵⁶ Olsen AO, Dillner J, Skrondal A, Magnus P. Combined effect of smoking and human papillomavirus type 16 infection in cervical carcinogenesis. *Epidemiology* 1998; 9: 346-349.
- ⁵⁷ Castellsagué X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 20-28.
- ⁵⁸ Wigle DT, Mao Y, Grace M. Smoking and cancer of the uterine cervix. *Am J Epidemiol* 1980; 111: 125-7.
- ⁵⁹ Trevathan E, Layde P, Webster L. Cigarette smoking and dysplasia and carcinoma in situ of the uterine cervix. *JAMA* 1983; 250: 499-502.
- ⁶⁰ Giuliano AR, Sedjo RL, Roe DJ, Harris R, Baldwin S, Papenfuss MR, et al. Clearance of oncogenic human papillomavirus (HPV) infection: effect of smoking (United States). *Cancer Causes Control* 2002; 13: 839-846.
- ⁶¹ Barton SE, Maddox PH, Jenkins D, Edwards R, Cuzick J, Singer A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet* 1988; 2(8612):652-654.
- ⁶² Champion M. Preinvasive disease. En: BerekJS, Hacker NF. *Practical Gynecologic Oncology*. 3^o ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p 271.
- ⁶³ Fife KH, Cramer HM, Schroeder JM, Brown DR. Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. *J Med Virol* 2001; 64: 550-559.
- ⁶⁴ IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 67. Human immunodeficiency viruses and human T-cell lymphotropic viruses. Lyon. International Agency for Research on Cancer; 1996.

⁶⁵ Bell JA. The increased frequency of cervical dysplasia/neoplasia in women infected with the human immunodeficiency virus is related to the degree of immunosuppression. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 593-9.

⁶⁶ Rando RF, Lindheim S, Hasty L, Sedlacek TV, Woodland M, Eder C. Increased frequency of detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in exfoliated cervical cells during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 50-5.

⁶⁷ Schneider A, Holz M, Gissman L. Increased prevalence of human papillomavirus in the lower genital tract of pregnant women. *Int J Cancer* 1987; 40: 198-201.

⁶⁸ Moscicki AB, Hills N, Shiboski S, Powell K, Jay N, Janson E, et al. Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 2001; 285: 2995–3002.

⁶⁹ Gostout B, Podratz K, McGovern R, Persing D. Cervical cancer in older women: a molecular analysis of human papillomavirus types, HLA types and p53 mutations. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 56-61.

⁷⁰ Joura E, Giuliano A, Iversen O, Bouchard C, Mao C, Mehlsen J, et al. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N Engl J Med* 2015; 372: 711–23.

⁷¹ Bruni L, Serrano B, Bosch X, Castellsagué X. Vacuna frente al virus del papiloma humano. Eficacia y seguridad. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015; 33(5): 342-354.

⁷² Olsson SE, Villa L, Costa R, Petta C, Andrade R, Malm C, et al. Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 16/18/6/11 L1 virus like particles (VLP) vaccine. *Vaccine* 2007; 25: 4931-9.

⁷³ Pedersen C, Petaja T, Strauss G, Rumke HC, Poder A, Richardus JH, et al. Immunization of early adolescent females with human papillomavirus type 16 and 18 L1 virus-like particle containing ASO₄ adjuvant. *J Adolesc Health* 200; 40(6): 564-571.

⁷⁴ Giuliano AR, Lazcano-Ponce E, Villa L, Nolan T, Marchant C, Radley D, et al. Impact of baseline covariates on the immunogenicity of a quadrivalent (types 6, 11, 16 and 18) human papillomavirus virus-like-particle vaccine. *J Infect Dis* 2007; 196(8): 1153-62.

⁷⁵ Giannini SL, Hanon E, Moris P, Van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using VPH 16/18 LI VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (ASO₄) compared to aluminium salt only. *Vaccine* 2006; 24(33-34): 5937-5949.

⁷⁶ Schwarz T, Leo O. Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with ASO₄ adjuvanted HPV 16/18 vaccine: Improving upon nature. *Gynecol Oncol* 2008; 110 (3 Suppl 1): 1-10.

⁷⁷ World Health Organization. Weekly Epidemiological Record (WER) 2009; 84(15): 117-32.

⁷⁸ Wheeler CM, Castellsagué X, Garland SM, Szarewski A, Paavonen J, Naud P, et al. Cross-protective efficacy of HPV-16/18 ASO₄-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by non-vaccine oncogenic HPV types: 4-year end-of-study analysis of the randomised, double-blind PATRICIA trial. *Lancet Oncol* 2012; 13: 100–10.

⁷⁹ Brown DR, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen O-E, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al. The impact of quadrivalent human papillomavirus (HPV types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in generally HPV-naive women aged 16-26 years. *J Infect Dis* 2009; 199: 926–35.

⁸⁰ Kahn J. VPH vaccination for the prevention of cervical intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med* 2009; 361(3): 271-8.

⁸¹ Paavonen I, Naud P, Salmeron I, Wheeler CM, Chow SN, Apter D, et al. Efficacy of human papillomavirus (VPH) 16/18 ASO₄-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer caused by oncogenic VPH types (PATRICIA): Final analysis of a double-blind, randomised study in young women. *Lancet* 2009; 374(9686): 301-14.

⁸² Brisson M, Van de Velde N, BoHy MC. Economic evaluation of human papillomavirus vaccination in developed countries. *Public Health Genomics* 2009; 12(5-6): 343-351.

⁸³ Roteli-Martins C, Naud P, Borba P, Teixeira J, De Carvalho N, Zahaf T, et al. Sustained immunogenicity and efficacy of the HPV 16/18 ASO₄ adjuvanted action: follow-up of 8,4 years. 28th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious diseases (ESPID). Nice, France. May 4-8, 2010.

⁸⁴ Comité Asesor de Vacunas (CAV) de la Asociación Española de Pediatría. <http://vacunasaep.org/documentos/manual/cap-42#9>.

⁸⁵ Osakidetza - Vacunación infantil. http://www.osakidetza.euskadi.eus/r85-cksalu04/es/contenidos/informacion/vacunacion_infantil/es_infantil/vacunacion_infantil.html.

⁸⁶ Herrero R, Wacholder S, Rodríguez AC, Solomon D, González P, Kreimer AR, et al. Prevention of persistent human papillomavirus infection by an HPV 16/18 vaccine: a community-based randomized clinical trial in Guanacaste, Costa Rica. *Cancer Discov* 2011; 1: 408–19.

⁸⁷ Kim H, Andres- Beck B, Goldie SJ. The value of including boys in a VPH vaccination program: a cost-effectiveness analysis in a low-resource setting. *Br J Cancer* 2007; 97(9): 1322-8.

-
- ⁸⁸ Kulasingham S, Connelly LB, Conway E, Hocking J, Meyers E, Regan D, et al. A cost-effectiveness analysis of adding a human papillomavirus vaccine to the Australian National Cervical Cancer Screening Program. *Sex Health* 2007; 4(3): 165-75.
- ⁸⁹ Plotkin S. *Vaccine*. Elsevier 6ª edición. 2013.
- ⁹⁰ FUTURE II Study Group. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. *N Engl J Med* 2007; 356: 1915–27.
- ⁹¹ Kang WD, Choi HS, Kim SM. Is vaccination with quadrivalent HPV vaccine after loop electrosurgical excision procedure effective in preventing recurrence in patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2-3)? *Gynecol Oncol* 2013; 130(2): 264-8.
- ⁹² Torné A, Bayas JM, Castellsagué X, Castro M, García E, Martínez JC, et al. Vacunación frente al cáncer de cérvix en mujeres fuera de los programas de vacunación sistemática, con o sin infección por el virus del papiloma humano o lesión cervical. Encuesta de opinión y recomendaciones. *Prog Obs Ginecol* 2012; 55(1): 10-31.
- ⁹³ Szarewski A, Poppe WA, Skinner SR, Wheeler CM, Paavonen J, Naud P, et al. Efficacy of the human papillomavirus (HPV) 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in women aged 15-25 years with and without serological evidence of previous exposure to HPV 16/18. *Int J Cancer* 2012; 131: 106-16.
- ⁹⁴ FUTURE II Study Group. Prophylactic efficacy of a quadrivalent human papillomavirus (HPV) vaccine in women with virological evidence of HPV infection. *J Infect Dis* 2007; 196: 1438-46.
- ⁹⁵ Olsson S-E, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen O-E, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, et al. Evaluation of quadrivalent HPV 6/11/16/18 vaccine efficacy against cervical and anogenital disease in subjects with serological evidence of prior vaccine type HPV infection. *Hum Vaccin* 2009; 5: 696-704.
- ⁹⁶ Oncoguía SEGO: Prevención del Cáncer de Cuello de Útero. Guías de práctica clínica en cáncer ginecológico y mamario. Publicaciones SEGO, octubre 2014.
- ⁹⁷ Wilson JMG. Principles and practice of screening for disease. *Public Health Papers* n°34, WHO, Genova, 1968.
- ⁹⁸ Cortés J, Garrido R, Miranda P, Xercavins J, Vidart JA. Recomendaciones para el diagnóstico precoz y el cribado del cáncer de cuello de útero. SEGO 2011.
- ⁹⁹ Christopherson WM, Scott MA. Trends in mortality from uterine cancer in relation to mass screening. *Acta Cytol* 1977; 21(1): 5-9.

-
- ¹⁰⁰ Cortés J. Estrategias de cribado del cáncer de cuello uterino. *Prog Obst Ginecol* 2005; 48(1): 228-30.
- ¹⁰¹ Kin JJ. Cost-effectiveness of organised versus opportunistic cervical cytology screening in Hong-Kong. *J Public Health* 2004; 26: 130-7.
- ¹⁰² López de Argumedo González de Durana M, Bayón Yusta JC, Mateos del Pino M. Impacto de la implantación de un programa de cribado poblacional de cáncer de cérvix, siguiendo las recomendaciones europeas (prueba/intervalo) en relación a la situación actual. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País Vasco; 2016. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias: OSTEBA.
- ¹⁰³ Babes A. Diagnostic du cancer du col utérin par les frottis [Diagnosis of cancer of the uterine cervix by smears]. *Presse Médicale* 1928; 29: 451-454.
- ¹⁰⁴ The Evolution of the Papanicolaou Smear. RH Tambouret. *Clin Obstet Gynecol* 2013; 56(1), 3-9
- ¹⁰⁵ Papanicolaou GN. New Cancer Diagnosis in proceedings of 3rd Race Betterment Conference. Battle Creek: Michigan 1928: 528-534.
- ¹⁰⁶ Papanicolaou GN, Traut HF. The diagnosis value of vaginal smears in carcinoma of uterous. 1941. *Arch Pathol Lab Med* 1997; 121(3): 211-224.
- ¹⁰⁷ Papanicolaou GN, Traut HF. Diagnosis of the uterine cancer by vaginal smear. New York, Commonwealth Foundation; 1943.
- ¹⁰⁸ Chakhtoura N. Diagnóstico precoz de la Neoplasia Cervical: citopatología. Guía Global para el Control y Prevención de Cáncer de Cérvix de la FIGO, 2009.
- ¹⁰⁹ Lacruz Pelea C. Nomenclatura de las lesiones cervicales (de Papanicolau a Bethesda 2001). *Revista Española de Patología* 2003; 36; 1.
- ¹¹⁰ Richart RM. Cervical intraepitelial neoplasia. *Pathol Ann* 1973; 8: 301.
- ¹¹¹ Richart RM. A Theory of Cervical Carcinogenesis. *Ostet and Gynec Surv* 1969; 24: 874.
- ¹¹² Association of directors of anatomic and surgical pathology. Standardization of the surgical report. *Am J Surg Pathol* 1989;16: 84.
- ¹¹³ National Cancer Institute Workshop. The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. *JAMA* 1989; 262: 931.
- ¹¹⁴ Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002, 287: 2114-19.

-
- ¹¹⁵ The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. National Cancer Institute Workshop. *JAMA* 1989; 262: 931–934.
- ¹¹⁶ Solomon D. The Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnosis: an overview. *IntJ Gynecol Pathol* 1991; 10(4): 323-5.
- ¹¹⁷ Del Pino M, Torné A, Alonso I, Muía R, Masoller N, Fuste V, et al. Colposcopy prediction of progression in human papillomavirus infections with minor cervical lesions. *Obstet Gynecol* 2010; 116: 1324-31.
- ¹¹⁸ Kitchener H, Castle PE, Cox JT. Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine* 2006; 24(3): 63-70.
- ¹¹⁹ Wright TC, Mento M, Myrthle J, Chow C, Singer A. Visualization techniques (colposcopy, direct visual inspection, and spectroscopy and other visual methods). *Acta Cytol* 2002; 46: 793-800.
- ¹²⁰ Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytology abnormalities: A systematic review. *Ann Intern Med.* 2000; 132(10): 810-819.
- ¹²¹ 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. *J Lower Gen Tract Dis* 2015; 19: 91–96.
- ¹²² Leinonen M, Nieminen P, Kotaniemi-Talonen L, Malila N, Tarkkanen J, Laurila P, et al. Age-specific evaluation of primary human papillomavirus screening vs conventional cytology in a randomized setting. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101(23): 1612-23.
- ¹²³ 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; 136(2): 189-97.
- ¹²⁴ Bulkmands NWJ, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Boeke AJP, Bulk S et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow up of a randomised controlled implementation trial. *The Lancet* 2007; 370: 9601.
- ¹²⁵ Castle PE, Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Wright TL, Behrens CM. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study. *Lancet Oncol* 2011; 12(9): 880-90.
- ¹²⁶ Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Apple R, Derion T, Wright TL. The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206(1): 46 e1-11.

-
- ¹²⁷ Wright TC, Stoler MH, Sharma A, Zhang G, Behrens C, Wright TL. ATHENA (Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) Study Group. Evaluation of HPV-16 and HPV-18 genotyping for the triage of women with high-risk HPV + cytology-negative results. *Am J Clin Pathol* 2011; 136(4): 578-86.
- ¹²⁸ Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A, et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 249–57.
- ¹²⁹ Sherman ME, Lorincz AT, Scott DR, Wacholder S, Castle PE, Glass AG, et al. Baseline cytology, human papillomavirus testing and risk for cervical neoplasia: a 10-year cohort analysis. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 46-52.
- ¹³⁰ Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 1579–1588.
- ¹³¹ Jeronimo JA. La prueba del VPH como complemento a la citología y como exploración primaria. Diagnóstico precoz de la Neoplasia Cervical: citopatología. Guía Global para el Control y Prevención de Cáncer de Cérnix de la FIGO 2009.
- ¹³² IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic risk to Humans, Vol. 90. Human papillomaviruses. Lyon, International Agency for Research on Cancer (IARC), 2007.
- ¹³³ Polar J, McGee J. In Situ Hybridization, principles and practice. *Medicine Neurochemistry* 1991; 9: 125-139.
- ¹³⁴ Ronald A, DeLelles MD. In Situ Hybridization techniques for the analysis of gene expression: applications in tumor pathology. *Human Pathology* 1999; 25: 580-590.
- ¹³⁵ Ying H, Jing F, Fanghui Z, Youlin Q, Yali H. High-Risk HPV nucleic acid detection kit- The care HPV test- A new detection method for screening. *Scientific Reports* 2014; 4: 4704.
- ¹³⁶ Park Y, Lee E, Choi J, Jeong S, Kim HS. Comparison of the Abbott Real Time High-Risk Human Papillomavirus (HPV), Roche Cobas HPV, and Hybrid Capture 2 Assays to Direct Sequencing and Genotyping of HPV DNA. *J Clin Microbiol* 2012; 50(7): 2359–2365.
- ¹³⁷ Castle PE, Solomon D, Wheeler CM, Gravitt PE, Wacholder S, Schiffman M. Human papillomavirus genotype specificity of hybrid capture 2. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 2595-2604.
- ¹³⁸ Roger A. Human papillomavirus testing methods. *Arch Pathol Lab Med.* 2003; 127: 940–945.

-
- ¹³⁹ Ovestad IT, Vennestrøm U, Andersen L, Gudlaugsson E, Munk AC, Malpica A, et al. Comparison of different commercial methods for HPV detection in follow-up cytology after ASCUS/LSIL, prediction of CIN 2–3 in follow up biopsies and spontaneous regression of CIN 2–3. *Gynecol Oncol* 2011; 123: 278–283.
- ¹⁴⁰ Rao A, Sandri MT, Sideri M, Young S, Sharma A, Behrens C. Comparison of hybrid capture 2 High-Risk HPV results in the low positive range with Cobas® HPV Test results from the ATHENA study. *J Clin Virol*. 2013; 58(1): 161-7.
- ¹⁴¹ Martínez SB, Palomares JC, Artura A, Parra M, Cabezas JL, Romo JM, et al. Comparison of the Cobas 4800 Human Papillomavirus test against a combination of the Amplicor Human Papillomavirus and the Linear Array tests for detection of HPV types 16 and 18 in cervical samples. *J Virol Methods* 2012; 180(1-2): 7-10.
- ¹⁴² Abraham J, Stenger M. Cobas® HPV test for first-line screening for cervical cancer. *J Community Support Oncol* 2014; 12(5): 156-7.
- ¹⁴³ Ho CM, Lee BH, Chang SF, Chien TY, Huang SH, Yan CC, et al. Type-specific human papillomavirus oncogene mRNA levels correlate with the severity of cervical neoplasia. *Int J Cancer* 2010; 127(3): 622-632.
- ¹⁴⁴ Sørbye SW, Fismen S, Gutteberg TJ, Mortensen ES, Skjeldestad FE. HPV mRNA is more specific than HPV DNA in triage of women with minor cervical lesions. *PLoS One* 2014; 18; 9(11): e112934.
- ¹⁴⁵ Benevolo M, Vocaturo A, Caraceni D, French D, Rosini S, Zappacosta R, et al. Sensitivity, specificity, and clinical value of human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA assay as a triage test for cervical cytology and HPV DNA test. *J Clin Microbiol* 2011; 49(7): 2643-2650.
- ¹⁴⁶ Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, 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. *Am J Clin Pathol* 2012; 137(4): 516-42.
- ¹⁴⁷ Rebolj M, Preisler S, Ejegod DM, Rygaard C, Lynge E, Bonde J. Disagreement between human papillomavirus assays: an unexpected challenge for the choice of an assay in primary cervical screening. *PLoS One* 2014; 9(1): e86835.
- ¹⁴⁸ Militello V, Lavezzo E, Costanzi G, Franchin E, Di Camillo B, Toppo S, et al. Accurate human papillomavirus genotyping by 454 pyrosequencing. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(10): 428-434.
- ¹⁴⁹ Hinselmann H. Verbesserung der Inspektion-smöglichkeit von vulva, vagina und portio. *Münch Med Wochenschr* 192; 72: 1733.

-
- ¹⁵⁰ Cantor SB, Cardenas-Turanzas M, Cox DD, Atkinson EN, Nogueras-Gonzalez GM, Beck JR, et al. Accuracy of colposcopy in the diagnostic setting compared with the screening setting. *Obstet Gynecol* 2008; 111: 7-14.
- ¹⁵¹ Bornstein J, Bendey J, Bósze P, Haefner H, Menton M, Perrotta M, et al. Colposcopy Terminology of the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 2012; 120: 166-72.
- ¹⁵² Kietpeerakool C, Khunamornpong S, Srisomboon J, Siriaunkgul S, Suprasert P. Cervical intraepithelial neoplasia II-III with endocervical cone margin involvement after cervical loop conization: is there any predictor for residual disease? *J Obstet Gynaecol Res* 2007; 33: 660-664.
- ¹⁵³ Ueda M, Ueki K, Kanemura M, Izuma S, Yamaguchi H, Nishiyama K, et al. Diagnostic and therapeutic laser conization for cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 2006; 101: 143-146.
- ¹⁵⁴ Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM, et al. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med* 2009; 360: 1385–94.
- ¹⁵⁵ Baggish MS. High-power-density carbon dioxide laser therapy for early cervical neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136: 117–25.
- ¹⁵⁶ Baggish MS. Laser management of cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Obstet Gynecol* 1983; 26: 980–95.
- ¹⁵⁷ Mazouni C, Porcu G, Haddad O, Dales JP, Taranger-Charpin C, Piana L, et al. Conservative treatment of cervical intraepithelial neoplasia using a cold-knife section technique. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 121: 86–93.
- ¹⁵⁸ Dane C, Dane B, Cetin A, Erginbas M. Haemostasis after cold-knife conization: a randomised prospective trial comparing cerclage suture versus electro-cauterization. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2008; 48: 343-347.
- ¹⁵⁹ Martin-Hirsch P, Keep SL, Bryant A. Interventions for preventing blood loss during the treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; CD001421.
- ¹⁶⁰ Martin-Hirsch P, Paraskevaidis E, Kitchener H. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2: CD001318.
- ¹⁶¹ Jordan J, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Schenck U, Baldauf JJ, Da Silva D, et al. European guidelines for clinical management of abnormal cervical cytology, part 2. *Cytopathology* 2009; 20: 5-16.

-
- ¹⁶² Prendiville W. Large loop excision of the transformation zone: a practical guide to LLETZ. New York: Springer-Verlag 1993.
- ¹⁶³ Andia D, Mozo de Rosales F, Villasante A, Rivero B, Diez J, Perez C. Pregnancy outcome in patients treated with cervical conization for cervical intraepithelial neoplasia. *International J Obstet Gynecol* 2011; 112: 225-228
- ¹⁶⁴ Conner S, Frey H, Cahill A, Macones G, Colditz G, Tuuli M, et al. Loop electrosurgical excision procedure and risk of preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2014; 123(4): 752-761.
- ¹⁶⁵ Schockaert S, Poppe W, Arbyn M, Verguts T, Verguts J. Incidence of vaginal intraepithelial neoplasia after hysterectomy for cervical intraepithelial neoplasia: a retrospective study. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 113: 1-5.
- ¹⁶⁶ Strander B, Andersson-Ellstrom A, Milsom I, Sparen P. Long term risk of invasive cancer after treatment for cervical intraepithelial neoplasia grade3: population based cohort study. *Br Med J* 2007; 335: 1077.
- ¹⁶⁷ Tabor A, Berget A. Cold-knife and laser conization for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 633-5.
- ¹⁶⁸ Bostofte E, Berget A, Falck Larsen J, Hjortkjaer Pedersen P, Rank F. Conization by carbon dioxide laser or cold knife in the treatment of cervical intra-epithelial neoplasia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1986; 65: 199-202.
- ¹⁶⁹ Paraskeva E, Koliopoulos G, Malamou-Mitsi V, Zikopoulos K, Paschopoulos M, Pappa L, et al. Large loop excision of the transformation zone for treating cervical intraepithelial neoplasia: a 12-year experience. *Anticancer Res* 2001; 21(4B): 3097-9.
- ¹⁷⁰ Ghaem-Maghami S, Sagi S, Majeed G, Soutter WP. Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk of treatment failure: a meta-analysis. *Lancet Oncol* 2007; 8: 985-993.
- ¹⁷¹ Houfflin Debarge V, Collinet P, Vinatier D, Ego A, Dewilde A, Boman F, et al. Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions. *Gynecol Oncol* 2003; 90: 587-592.
- ¹⁷² Johnson N, Khalili M, Hirschowitz L, Ralli F, Porter R. Predicting residual disease after excision of cervical dysplasia. *BJOG* 2003; 110: 952-955.
- ¹⁷³ Skinner EN, Gehrig PA, Van Le L. High-grade squamous intraepithelial lesions: abbreviating posttreatment surveillance. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 488-492.
- ¹⁷⁴ Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM, Esteve R, Quinto L, Campo E, et al. Pre- and post-conization high-risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN 2-3. *Gynecol Oncol* 2006; 103: 631-636.

-
- ¹⁷⁵ Mints M, Gaberi V, Andersson S. Miniconization procedure with C-LETZ conization electrode for treatment of cervical intraepithelial neoplasia: a Swedish study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; 85: 218-223.
- ¹⁷⁶ Lu CH, Liu FS, Kuo CJ, Chang CC, Ho ES. Prediction of persistence or recurrence after conization for cervical intraepithelial neoplasia III. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 830-835.
- ¹⁷⁷ Verguts J, Bronselaer B, Donders G, Arbyn M, Van Eldere J, Drijkoningen M, et al. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus testing and age at conisation. *BJOG* 2006; 113: 1303-1307.
- ¹⁷⁸ Manchanda R, Baldwin P, Crawford R, Vowler SL, Moseley R, Latimer J et al. Effect of margin status on cervical intraepithelial neoplasia recurrence following LLETZ in women over 50 years. *BJOG* 2008; 115: 1238-1242.
- ¹⁷⁹ Das N, Sutton V, Bevan J, Brinkmann D, Woolas R. Cytological follow-up of women older than 50 years with high-grade cervical smear treated by large loop excision. *J Low Genit Tract Dis* 2009; 13: 165-168.
- ¹⁸⁰ Woo YL, Badley C, Jackson E, Crawford R. Long-term cytological and histological outcomes in women managed with loop excision treatment under local anaesthetic for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Cytopathology* 2011; 22: 334-339.
- ¹⁸¹ Carcopino X, Mergui JL, Prendiville W, Taranger-Charpin C, Boubli L. Tratamiento de las neoplasias intraepiteliales del cuello uterino: láser, crioterapia, conización, resección con asa de diatermia. *EMC Ginecología y Obstetricia* 2012; 48: 1: 1-12.
- ¹⁸² Bajo Arenas JM, Laila Vicens JM, Xercavins Montosa J. *Fundamentos de Ginecología*. Publicaciones SEGO, 2009.
- ¹⁸³ Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000.
- ¹⁸⁴ Matsumoto A. Structural characteristics of Chlamydial bodies. In: *Microbiology of Chlamydia trachomatis* 1988; 21-45.
- ¹⁸⁵ Grun L, Tassano-Smith J, Carder C, Johnson A, Robinson A, Murray E, et al. Comparison of two methods of screening for genital *Chlamydia trachomatis* infection in women attending in general practice: cross sectional survey. *BMJ* 1997; 315: 226-230.
- ¹⁸⁶ World Health Organization. *Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infection, 2008*. 2012.

¹⁸⁷ World Health Organization. Baseline report on global sexually transmitted infection surveillance, 2012. Available at <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/9789241505895/en>.

¹⁸⁸ Bebear C, de Barbeyrac B. Genital Chlamydia trachomatis infections. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2009; 15(1): 4-10.

¹⁸⁹ Parish WL, Laumann EO, Cohen MS, Pan S, Zheng H, Hoffman I, et al. Population-based study of Chlamydia trachomatis infection in China: a hidden epidemic. *JAMA*. 2003; 289(10): 1265.

¹⁹⁰ Götz HM, van Bergen JE, Veldhuijzen IK, Broer J, Hoebe CJ, Steyerberg EW, et al. A prediction rule for selective screening of Chlamydia trachomatis infection. *Sex Transm Infect*. 2005; 81(1): 24.

¹⁹¹ Sonnenberg P, Clifton S, Beddows S, Field N, Soldan K, Tanton C, et al. Prevalence, risk factors, and uptake of interventions for sexually transmitted infections in Britain: findings from the National Surveys of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal). *Lancet* 2013; 9907: 1795–806.

¹⁹² Vajdic CM, Middleton M, Bowden FJ, Fairley CK, Kaldor JM. The prevalence of genital Chlamydia trachomatis in Australia 1997-2004: a systematic review. *Sex Health* 2005; 2: 169-183.

¹⁹³ Franceschi S, Smith J, Van den Brule A, Herrero R, Arslan A, Anh PT, et al. Cervical infection with Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in Women from Ten Areas in four continents. *Sex Trans Dis* 2007; 34(8): 563-569.

¹⁹⁴ Brunham RC, Pourbohloul B, Mak S, White R, Rekart ML. The unexpected impact of a Chlamydia trachomatis infection control program on susceptibility to reinfection. *J Infect Dis* 2005; 192(10): 1836-44.

¹⁹⁵ Nicolai LM, Livingston KA, Laufer AS, Pettigrew MM. Behavioural sources of repeat Chlamydia trachomatis infections: importance of different sex partners. *Sex Transm Infect* 201; 87(3): 248-53.

¹⁹⁶ Harder E, Thomsen L, Frederiksen K, Munk C, Ifner T, van der Brule A, et al. Risk factors for incident and redetected Chlamydia trachomatis infection in women: results of a population-based cohort study. *Sex Transm Dis* 2016; 43(2): 113-119.

-
- ¹⁹⁷ Aghaizu A, Reid F, Kerry S, Hay P, Mallinson F, Jensen J, et al. Frequency and risk factors for incident and redetected *Chlamydia trachomatis* infection in sexually active, young, multi-ethnic women: a community based cohort study. *Sex Transm Infect* 2014; 90(7): 524-8.
- ¹⁹⁸ Blas MM, Canchihuaman FA, Alva IE, Hawes S. Pregnancy outcomes in women infected with *Chlamydia trachomatis*: a population-based cohort study in Washington State. *Sex Transm Infect* 2007; 83: 314–318.
- ¹⁹⁹ Geisler WM, Wang C, Morrison SG, Black CM, Bandea CI, Hook EW. The natural history of untreated *Chlamydia trachomatis* infection in the interval between screening and returning for treatment. *Sex Transm Dis* 2008; 35(2): 119–23.
- ²⁰⁰ Golden MR, Schillinger JA, Markowitz L. Duration of untreated genital infections with *Chlamydia trachomatis*. *Sex Transm Infect* 2002; 27: 329-37.
- ²⁰¹ Gottlieb SL, Berman SM, Low N. Screening and treatment to prevent sequelae in women with *Chlamydia trachomatis* genital infection: how much do we know? *The J Infect Dis* 2010; 201(2): 156–67.
- ²⁰² Geisler WM. Duration of untreated, uncomplicated *Chlamydia trachomatis* genital infection and factors associated with *Chlamydia trachomatis* resolution: a review of human studies. *J Infect Dis* 2010; 201: 104-113.
- ²⁰³ Beatty WL, Morrison RP, Byrne GI. Persistent *Chlamydia trachomatis*: from cell culture to a paradigm for *Chlamydia trachomatis* pathogenesis. *Microb Rev* 1994; 58: 686-99.
- ²⁰⁴ Smith JS, Bosetti C, Muñoz N, Herrero R, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. *Chlamydia trachomatis* and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *International journal of cancer* 2004; 111(3): 431–9.
- ²⁰⁵ Deluca GD, Basiletti J, Schelover E, Vasquez ND, Alonso JM, Marin HM, et al. *Chlamydia trachomatis* as a probable cofactor in human papillomavirus infection in aboriginal women from northeastern Argentina. *The Brazilian journal of infectious diseases* 2011; 15(6): 567–72.
- ²⁰⁶ Low N, Cassell JA, Spencer B, Bender N, Hilber AM, van Bergen J, et al. *Chlamydia trachomatis* control activities in Europe: cross-sectional survey. *Eur J Public Health* 2012; 22(4): 556-61.
- ²⁰⁷ Simms I, Talebi A, Rhia J, Horner P, French RS, Sarah R, et al. The English National Screening Programme: variation in positivity in 2007/2008. *Sex Transm Dis* 2009; 36: 522-7.

-
- ²⁰⁸ LeFevre ML, U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Chlamydia trachomatis and gonorrhea: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2014; 161(12): 902.
- ²⁰⁹ Ursu A, Sen A, Ruffin M. Impact of cervical cancer screening guidelines on screening for Chlamydia trachomatis. *Annals of Family Medicine* 2005; 13(4): 361-3.
- ²¹⁰ Schachter J, Chernesky MA, Willis DE. Vaginal swabs are the specimens of choice when screening for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae: results from a multicentre evaluation of the APTIMA assays for both infections. *Sex Transm Infect* 2005; 32: 725-8.
- ²¹¹ Ingraham JL, Ingraham CA. *Introducción a la Microbiología*. Barcelona: Ed. Reverté S.A.; 1998. 25.
- ²¹² Schachter J. Which test is best for Chlamydia trachomatis? *Curr Opin Infect Dis* 1999; 12: 41-5.
- ²¹³ Ostos Ortiz O, Sánchez RM. Chlamydia trachomatis: avances y perspectivas. *NOVA* 2003; 1(1): 1-116.
- ²¹⁴ Lampe MF, Suchland RJ, Stamm WE. Nucleotide sequence of the variable domains within the major outer protein gene from serovariants of Chlamydia trachomatis. *Infect Immun* 1993; 61: 213-9.
- ²¹⁵ Chernesky M, Jang D, Lee H. Diagnosis of chlamydia trachomatis infection in men and women by testing first-void urine by ligase reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 32(11): 682-5.
- ²¹⁶ Black C. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infection. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 160-84.
- ²¹⁷ Gaydos C, Crotchfelt K, Shah N, Tennant M, Quinn T, Gaydos J, et al. Evaluation of dry and wet transport intravaginal swabs in detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections in female soldiers by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 2002; 32: 758-61.
- ²¹⁸ Schmitt M, Depuydt C, Stalpaert M, Pawlita M. Bead-based multiplex sexually transmitted infection profiling. *J Infect* 2014; 69: 123-133.
- ²¹⁹ Tamm WE. Chlamydia trachomatis infections of the adult. *Sexually Transmitted Diseases*, 4th Edition, McGraw-Hill, New York 2008. p.575.
- ²²⁰ Geisler WM. Management of uncomplicated Chlamydia trachomatis infections in adolescents and adults: evidence reviewed for the 2006 Centers for Disease Control

and Prevention sexually transmitted diseases treatment guidelines. *Clin Infect Dis* 2007; 44(3): 77.

²²¹ Schwebke JR, Rompalo A, Taylor S, Seña AC, Martin DH, López LM, et al. Re-evaluating the treatment of nongonococcal urethritis: emphasizing emerging pathogens--a randomized clinical trial. *Clin Infect Dis* 2011; 52(2): 163.

²²² Kong FY, Tabrizi SN, Law M, Vodstrcil LA, Chen M, Fairley CK, et al. Azithromycin versus doxycycline for the treatment of genital *Chlamydia trachomatis* infection: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Infect Dis* 2014; 59(2): 193.

²²³ Lau CY, Qureshi AK. Azithromycin versus doxycycline for genital *Chlamydia trachomatis* infections: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Sex Transm Dis* 2002; 29(9): 497.

²²⁴ Workowski KA, Bolan GA. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2015; 64(3): 1.

²²⁵ Lukic A, Canzio C, Patella A, Giovagnoli M, Cipriani P, Frega A, et al. Determination of cervicovaginal microorganisms in women with abnormal cervical cytology: the role of *Ureaplasma urealyticum*. *Anticancer Res* 2006; 26(6C): 4843-9.

²²⁶ Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 1604-13.

²²⁷ Platz-Christensen JJ, Sundstrom E, Larsson PG. Bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994; 73: 586-8.

²²⁸ Viikki M, Pukkala E, Nieminen P, Hakama M. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncol* 2000; 39: 71-5.

²²⁹ Wilson JS, Honey E, Templeton A, Paavonen J, Mårdh PA, Stray-Pedersen B. EU Biomed Concerted Action Group. A systematic review of the prevalence of *Chlamydia trachomatis* among European women. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 385-94.

²³⁰ Paba P, Bonifacio D, Di Bonito L, Ombres D, Favalli C, Syrjanen K, et al. Co-expression of HSV2 and *Chlamydia trachomatis* in HPV-positive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia lesions is associated with aberrations in key intracellular pathways. *Intervirology* 2007; 51: 230-234.

²³¹ Lehmann M, Groh A, Rodel J, Nindl I, Straube E. Detection of *Chlamydia trachomatis* DNA in cervical samples with regard to infection by human papillomavirus. *J Infect* 1999; 38: 12-7.

²³² Finan RR, Tamim H, Almawi WY. Identification of Chlamydia trachomatis DNA in human papillomavirus (HPV) positive women with normal and abnormal cytology. *Archives of Gynecology & Obstetrics* 2002; 266(3): 168-71.

²³³ Muñoz N, Kato I, Bosch FX, Eluf-Neto J, De Sanjosé S, Ascunce N, et al. Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. *Sex Transm Dis* 1996; 23(6): 504-510.

²³⁴ Tamim H, Finan RR, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and Chlamydia trachomatis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43(4): 277-281.

²³⁵ Verhoeven V, Baay M, Weyler J, Avonts D, Lardon F, Van Royen P, et al. Concomitant Chlamydia trachomatis and human papilloma virus infection cannot be attributed solely to sexual behaviour. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 735-7.

²³⁶ Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikäheimo I, et al. Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for cervical squamous cell carcinoma. *JAMA* 2001; 285: 47-51.

²³⁷ Koskela P, Anttila T, Bjorge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M, et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *International Journal of Cancer* 2000; 85(1): 35-9.

²³⁸ Golijow CD, Abba MC, Mouron SA, Laguens RM, Dulout FN, Smith JS. Chlamydia trachomatis and human papillomavirus infections in cervical disease in Argentine women. *Gynecol Oncol* 2005; 96(1): 181-186.

²³⁹ Wallin KL, Wiklund F, Luostarinen T, Angstrom T, Anttila T, Bergman F, et al. A population-based prospective study of Chlamydia trachomatis infection and cervical carcinoma. *Int J Cancer* 2002; 101(4): 371-374.

²⁴⁰ Smith JS, Muñoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, et al. Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 2002; 185: 324-331.

²⁴¹ Valadan M, Yarandi F, Eftekhari Z, Darvish S, Fathollahi MS, Mirsalehian A. Chlamydia trachomatis and cervical intraepithelial neoplasia in married women in a Middle Eastern community. *EMHJ* 2010; 13(3): 304-307.

²⁴² Wohlmeister D, Renz Barreto D, Etges Helfer V, Gimenes F, Lopes Consolario ME, Bones Barcellos R, et al. Association of human papillomavirus and Chlamydia trachomatis with intraepithelial alterations in cervix samples. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2016; 111(2): 106-113.

²⁴³ Tungsrithong N, Kasinpila C, Maneenin C, Namujju PB, Lehtinen M, Anttila A, et al. Lack of significant effects of Chlamydia trachomatis infection on cervical cancer risk

in a nested case-control study in North-East Thailand. *Asian Pacific Cancer Prev*, 2014; 15(3): 1497-500.

²⁴⁴ Onel M, Küçüçük S, Töre G, Ağaçfidan A. Investigation of *Chlamydia trachomatis* seropositivity in patients with cervical cancer. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47: 702-7.

²⁴⁵ Safaeian M, Quint K, Schiffman M, Rodriguez AC, Wacholder S, Herrero R, et al. *Chlamydia trachomatis* and risk of prevalent and incident cervical premalignancy in a population-based cohort. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 1794-1804.

²⁴⁶ Farivar TN, Johari P. Lack of association between *Chlamydia trachomatis* infection and cervical cancer-Taq Man realtime PCR assay findings. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3701-4.

²⁴⁷ Yoshikawa H, Nagata C, Noda K, Nozawa S, Yajima A, Sekiya S, et al. Human papillomavirus infection and other risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in Japan. *Br J Cancer* 1999; 80(3-4): 621–624.

²⁴⁸ Bellaminutti S, Seraceni S, De Seta F, Gheit T, Tommasino M, Comar M. HPV and *Chlamydia trachomatis* co-detection in young asymptomatic women from high incidence area for cervical cancer. *J Med Virol* 2014; 86: 1920-1925.

²⁴⁹ Urbina MT, Medina R, Muñoz G, Sánchez V, Benjamín I, Lerner J. Infección por *Chlamydia trachomatis*. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2010; 70: 90.

²⁵⁰ Moscicki AB, Burt VG, Kanowitz S, Darragh T, Shiboski S. The significance of squamous metaplasia in the development of low grade squamous intraepithelial lesions in young women. *Cancer* 1999; 85: 1139-44.

²⁵¹ Prozialeck WC, Fay MJ, Lamar PC, Pearson CA, Sigar I, Ramsey KH. *Chlamydia trachomatis* disrupts N-cadherin-dependent cell junctions and sequesters beta-catenin in human cervical epithelial cells. *Infect Immun* 2002; 70: 2605-13.

²⁵² Rosa MI, Medeiros LR, Rosa DD, Bozzeti MC, Silva FR, Silva BR. 2009. Human papillomavirus and cervical neoplasia. *Cad Saude Publica* 25:953–964.

²⁵³ Felley-Bosco E. Role of nitric oxide in genotoxicity: implication for carcinogenesis. *Cancer Metastasis Rev* 1998; 17: 25-37.

²⁵⁴ Jaiswal M, LaRusso NF, Burgart LJ, Gores GJ. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. *Cancer Res* 2000; 60: 184-90.

²⁵⁵ Fan T, Lu H, Hu H, Shi L, McClarty G, Nance D, et al. Inhibition of apoptosis in *Chlamydia trachomatis*-infected cells: blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation. *J Exp Med* 1998; 187: 487–96.

²⁵⁶ Greene W, Xiao Y, Huang Y, McClarty G, Zhong G. Chlamydia trachomatis-infected cells continue to undergo mitosis and resist induction of apoptosis. *Infect Immun* 2004; 72: 451-60.

²⁵⁷ Williams VM, Filippova M, Soto U, Duerksen-Hughes PJ. HPV-DNA integration and carcinogenesis: putative roles for inflammation and oxidative stress. *Future Virol* 2011; 6: 45-57.

²⁵⁸ Debattista J, Timms P, Allan J, Allan J. Immunopathogenesis of Chlamydia trachomatis infections in women. *Fertil Steril* 2003; 79(6): 1273-87.

²⁵⁹ Stephens RS. The cellular paradigm of Chlamydia trachomatis pathogenesis. *Trends Microbiol* 2003; 11: 44-51.

²⁶⁰ Cisterna R. Comunicación personal: Estudio de prevalencia de Chlamydia trachomatis. Análisis preliminar. Servicio de Microbiología clínica y Control de Infección del Hospital Universitario Basurto, 2106.

²⁶¹ Silva J, Cerqueira F, Ribeiro J, Sousa H, Osorio T, Medeiros R. Is Chlamydia trachomatis related to human papillomavirus infection in young women of southern European population? A self-sampling study. *Arch Gynecol Obstet* 2013; 288: 627-633.

²⁶² Panatto D, Amicizia D, Biachi S, Frati ER, Zorri CM, Lai PL, et al. Chlamydia trachomatis prevalence and Chlamydia trachomatis/HPV coinfection among HPV-unvaccinated young Italian females with normal cytology. *Hum Vacc Imm* 2015; 11: 270-276.

²⁶³ Jianhua L, Weiwei L, Yan L, Xiuzhen Z, Zhijien Z, Zhengrong S. Prevalence of microorganisms co-infections in human papillomaviruses infected women in Northern China. *Arch Gynecol Obstet* 2016; 293: 595-602.

²⁶⁴ Quinónez-Calvache EM, Ríos-Chaparro DI, Ramírez JD, Soto-De León SC, Camargo M, Del Río-Ospina L, et al. Chlamydia trachomatis frequency in a cohort of HPV-infected Colombian women. *PLoS One* 2016; 11(1): e0147504.

²⁶⁵ CDC. Sexually transmitted disease surveillance 2013. Atlanta: US Department of Health and Human Services; 2014.

²⁶⁶ Melo A, Lagos N, Montenegro S, Orellana JJ, Vasquez AM, Moreno S, et al. Human papilloma virus and Chlamydia trachomatis by number of sexual partners and time of sexual activity on university students in the Region of La Araucanía, Chile. *Revista Chilena de Infectología* 2016; 33(3): 287-92.

²⁶⁷ Mitchell PM, White LF, Rahimi LM, Jenkins D, Schechter-Perkins EM. Predictors of gonorrhea and Chlamydia trachomatis in emergency department patients. *Ann Emerg Med* 2012; 60(4): 119.

-
- ²⁶⁸ Scholes D, Stergachis A, Heidrich FE, Andrilla H, Holmes K, Stamm W. Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical Chlamydia trachomatis infection. *N Engl J Med* 1996; 334: 1362–6.
- ²⁶⁹ Kamwendo F, Forslin L, Bodin L, Danielsson D. Decreasing incidences of gonorrhoea and Chlamydia trachomatis-associated acute pelvic inflammatory disease: a 25-year study from an urban area of central Sweden. *Sex Transm Dis* 1996; 23: 384-91.
- ²⁷⁰ Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted disease treatment guidelines. *MMWR* 2010; 59.
- ²⁷¹ LeFevre ML, U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Chlamydia trachomatis and gonorrhoea: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2014; 161(12): 902.
- ²⁷² Wilt TJ, Harris RP, Qaseem A. High Value Care Task Force of the American College of Physicians. Screening for cancer: advice for high-value care from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2015; 162(10): 718.
- ²⁷³ Committee on Practice Bulletins-Gynecology. Practice Bulletin nº168: Cervical Cancer Screening and Prevention. *Obstetrics & Gynecology* 2016. 128(4): 111-30.
- ²⁷⁴ Pessione F, Dolivo M, Casin I, Morel P, Perol Y, Laporte A. Sexual behavior and smoking: risk factor for urethritis in men. *Sex Transm Dis* 1988; 15: 119-122.
- ²⁷⁵ Corbeto EL, Lugo R, Martró E, Falguera G, Ros R, Avecilla A, et al. Prevalencia de la infección por Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae y determinantes para su adquisición en jóvenes y adultos-jóvenes en Cataluña. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011; 29(2): 96-101.
- ²⁷⁶ Shafer MA, Pessione F, Scieux C, Bianchi A, Casin M, Athéa N. Chlamydia trachomatis: risk factors in women in the Parisian region. Importance of smoking and cervical ectropion. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1993; 22: 163-168.
- ²⁷⁷ Hwang LY, Ma Y, Moscicki AB. Biological and behavioral risks for incident Chlamydia trachomatis infection in a prospective cohort. *Obstet Gynecol* 2014; 124(5): 954-60.
- ²⁷⁸ González Rodríguez MP, De la Rosa Morales V. En los adolescentes que no fuman, se ha producido una mayor disminución de algunas conductas de riesgo que en los que fuman. *Evid Pediatr* 2006; 2: 86.
- ²⁷⁹ Seraceni S, Campisciano G, Contini C, Comar M. HPV genotypes distribution in Chlamydia trachomatis co-infection in a large cohort of women from north-east Italy. *J Med Microbiol* 2016; 65(5): 406-13.
- ²⁸⁰ Costa Mansur M, Lopes de Macedo J, Ferreira de Lima S, de Andrade Heraclio S, Ramos Amorim MM, de Mascena Diniz Maia M, et al. Chlamydia trachomatis infection

and human papillomavirus in women with cervical neoplasia in Pernambuco-Brazil. *Mol Biol Rep* 2014; 41: 865-874.

²⁸¹ Larsson PG, Platz-Christensen JJ, Dalaker K, Eriksson K, Fåhraeus L, Irminger K, et al. Treatment with 2% clindamycin vaginal cream prior to first trimester surgical abortion to reduce signs of postoperative infection: a prospective, double-blinded, placebo-controlled, multicenter study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79(5): 390.

²⁸² Larsson PG, Carlsson B. Does pre- and postoperative metronidazole treatment lower vaginal cuff infection rate after abdominal hysterectomy among women with bacterial vaginosis? *Infect Dis Obstet Gynecol* 2002; 10(3): 133.

²⁸³ Myer L, Denny L, Telerant R, Souza M, Wright TC, Kuhn L. Bacterial vaginosis and susceptibility to HIV infection in South African women: a nested case-control study. *J Infect Dis* 2005; 192(8): 1372.

²⁸⁴ Schwebke JR, Desmond R. A randomized trial of metronidazole in asymptomatic bacterial vaginosis to prevent the acquisition of sexually transmitted diseases. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196(6): 517.

²⁸⁵ Kahn RH, Mosure DJ, Blank S, Kent CK, Chow JM, Boudov MR, et al. STD Prevalence Monitoring Project. Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae prevalence and coinfection in adolescents entering selected US juvenile detention centers, 1997-2002. *Sex Transm Dis* 2005; 32(4): 255.

²⁸⁶ Addiss DG, Vaughn ML, Golubjatnikov R, Pfister J, Kurtycz DF, Davis J. Chlamydia trachomatis infection in women attending urban midwestern family planning and community health clinics: risk factors, selective screening, and evaluation of non-culture techniques. *Sexually Transmitted Diseases* 1990; 17(3): 138-46.

²⁸⁷ Kanno MB, Nguyen RH, Lee EM, Zenilman JM, Erbelding EJ. The prevalence of abnormal cervical cytology in a sexually transmitted diseases clinic. *International Journal of STD & AIDS* 2005; 16: 549-552.

²⁸⁸ Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998; 91(4): 626-31.

²⁸⁹ Gage JC, Hanson VW, Abbey K, Dippery S, Gardner S, Kubota J, et al. Number of cervical biopsies and sensitivity of colposcopy. *Obstet Gynecol* 2006; 108: 264-72.

²⁹⁰ Puig-Tintoré LM. Prevención del cáncer cervical: Vacunación y colposcopia. Curso de formación continuada en prevención del cáncer cervical, vacunación y colposcopia. *Edimsa* 2011; 31-78.

-
- ²⁹¹ Lehtinen M, Dillner J, Knekt P, Luostarinen T, Aromaa A, Kirnbauer R, et al. Serologically diagnosed infection with human papillomavirus type 16 and risk for subsequent development of cervical carcinoma. *BMJ* 1996; 312: 537-539.
- ²⁹² da Silva Barros NK, Costa MC, Alves RR, Villa LL, Derchain SF, Zeferino LC, et al. Association of HPV infection and Chlamydia trachomatis seropositivity in cases of cervical neoplasia in Midwest Brazil. *J Med Virol* 2012; 84(7): 1143-50.
- ²⁹³ Lehtinen M, Ault KA, Lyytikäinen E, Dillner J, Garland SM, Ferris DG, et al. Chlamydia trachomatis infection and risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Sex Transm Infect* 2011; 87: 372-6.
- ²⁹⁴ de Paula FD, Fernandes AP, Carmo BB, Vieira DC, Dutra MS, Santos CG, et al. Molecular detection of Chlamydia trachomatis and HPV infections in cervical samples with normal and abnormal cytopathological findings. *Diagnostic Cytopathology* 2007; 35(4): 198-202.
- ²⁹⁵ Castle P, Rattray C, Sugai K, Hanchard B, Hutchinson M. Chlamydia trachomatis, Herpes Simplex Virus 2, and Human T-cell Lymphotropic Virus Type 1 are not associated with grade of cervical neoplasia in Jamaican colposcopy patients. *Sex Transm Dis* 2003; 30(7): 575-80.
- ²⁹⁶ Reesink-Peters N, Ossewaarde J, Van Der Zee AGJ, Quint W, Burger M, Adriaanse A. No association of anti-Chlamydia trachomatis antibodies and severity of cervical neoplasia. *Sexually Transmitted Infections* 2001; 77(2): 101-102.
- ²⁹⁷ Borisov I, Mainkhard K. The relationship between genital Chlamydia trachomatis infection and the presence of cervical intraepithelial neoplasia. *Akush ginecol* 1995; 248: 2134-8.
- ²⁹⁸ Paavonen J, Purola E. Cytological findings in cervical Chlamydia trachomatis infection. *Med Biol* 1980; 58: 174-8.
- ²⁹⁹ Quint KD, de Koning MN, Geraets DT, Quint WG, Pirog EC. Comprehensive analysis of Human Papillomavirus and Chlamydia trachomatis in in-situ and invasive cervical adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 2009; 114: 390-4.
- ³⁰⁰ Kiviat NB, Peterson M, Kinney-Thomas E, Tam M, Stamm WE, Holmes KK. Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. II. Confirmation of Chlamydia trachomatis infection by direct immunofluorescence using monoclonal antibodies. *J Am Med Assoc* 1985; 15; 253(7): 997-1000.
- ³⁰¹ Mitao M, Reumann W, Winkler B, Richart RM, Fujiwara A, Crum CP. Chlamydia trachomatis cervicitis and cervical intraepithelial neoplasia: an immunohistochemical analysis. *Gynecol Oncol* 1984; 19: 90-7.

-
- ³⁰² Tindle RW. Immune evasion in human papillomavirus associated cervical cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 59–65.
- ³⁰³ Cevenini R, Costa S, Rumpianesi F, Donati M, Guerra B, Diana R, et al. Cytological and histopathological abnormalities of the cervix in genital *Chlamydia trachomatis* infections. *Br J Vener Dis* 1981; 57: 334-7.
- ³⁰⁴ Paavonen J, Stevens CE, Wolner-Hanssen P, Critchlow CW, Derouen T, Kiviat N, et al. Colposcopic manifestations of cervical and vaginal infections. *Obstet Gynecol Surv* 1988; 43: 373-81.
- ³⁰⁵ Wei L, Gravitt PE, Song H, Maldonado AM, Ozbun MA. Nitric oxide induces early viral transcription coincident with increased DNA damage and mutation rates in human papillomavirus-infected cells. *Cancer Res* 2009; 69: 4878-84.
- ³⁰⁶ Hiraku Y, Tabata T, Ma N, Murata M, Ding X, Kawanishi S. Nitrate and oxidative DNA damage in cervical intraepithelial neoplasia associated with human papilloma virus infection. *Cancer Sci* 2007; 98: 964-72.
- ³⁰⁷ Mazibrada J, Ritta M, Mondini M, De Andrea M, Azzimonti B, Borgogna C, et al. Interaction between inflammation and angiogenesis during different stages of cervical carcinogenesis. *Gynecol Oncol* 2008; 108: 112-20.
- ³⁰⁸ da Silva CS, Michelin MA, Etchebehere RM, Adad SJ, Murta EF. Local lymphocytes and nitric oxide synthase in the uterine cervical stroma of patients with grade III cervical intraepithelial neoplasia. *Clinics (Sao Paulo)* 2010; 65: 575-81.
- ³⁰⁹ Rahkola P, Vaisanen-Tommiska M, Tuomikoski P, Ylikorkala O, Mikkola TS. Cervical nitric oxide release and persistence of high-risk human papillomavirus in women. *Int J Cancer* 2011; 128: 2933-7.
- ³¹⁰ Knowlton AE, Fowler LJ, Patel RK. *Chlamydia trachomatis* induces Anchorage independence in 3T3 cells and detrimental cytological defects in an infected model. *PLoS ONE* 2013; 8: e54022.
- ³¹¹ Rahkola P, Vaisanen-Tommiska M, Hiltunen-Back E, Auvinen E, Ylikorkala O, Mikkola TS. Cervical nitric oxide release in *Chlamydia trachomatis* and high-risk human papillomavirus infection. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011; 90: 961-5.
- ³¹² Castle PE, Hillier SL, Rabe LK, Hildesheim A, Herrero R, Bratti MC, et al. An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infected with oncogenic human papillomavirus (HPV). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 1021-7.

-
- ³¹³ Castle PE, Giuliano AR. Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients—assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31: 29-34.
- ³¹⁴ Simonetti AC, Melo JH de L, de Souza PRE, Brunaska D, de Lima Filho JL. Immunological's host profile for HPV and Chlamydia trachomatis, a cervical cancer cofactor. *Microbes Infect* 2009; 11(4): 435-42.
- ³¹⁵ Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
- ³¹⁶ Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000; 21: 361-370.
- ³¹⁷ Visalli G, Riso R, Facciola A, Mondello P, Caruso C, Picerno I et al. Higher levels of oxidative DNA damage in cervical cells are correlated with the grade of dysplasia and HPV infection. *Journal of Medical Virology* 2016; 88: 336-344.
- ³¹⁸ Cox JT, Schiffman M, Solomon D. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188(6): 1406-12.
- ³¹⁹ Elit L, Levine MN, Julian JA, Sellors JW, Lytwyn A, Chong S, et al. Expectant management versus immediate treatment for low-grade cervical intraepithelial neoplasia: a randomized trial in Canada and Brazil. *Cancer* 2011; 117(7): 1438-45.
- ³²⁰ Katki HA, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, Lorey T, et al. Five-year risks of CIN 3 positive and cervical cancer among women with HPV testing of ASC-US Pap results. *J Low Genit Tract Dis* 2013; 17(5 Suppl 1): 36-42.
- ³²¹ Katki HA, Gage JC, Schiffman M, Castle PE, Fetterman B, Poitras NE, et al. Follow-up testing after colposcopy: five-year risk of CIN 2+ after a colposcopic diagnosis of CIN 1 or less. *J Low Genit Tract Dis* 2013; 17(5 Suppl 1): 69.
- ³²² Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM, Solomon D. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia-grade 2. *Obstet Gynecol* 2009; 113(1): 18.
- ³²³ Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12(2): 186.
- ³²⁴ McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008; 9(5): 425-34.

-
- ³²⁵ Kyrgiou M, Tsoumpou I, Vrekoussis T, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, et al. The up-to-date evidence on colposcopy practice and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: the Cochrane colposcopy & cervical cytopathology collaborative group (C5 group) approach. *Cancer Treat Rev* 2006; 32(7): 516-23.
- ³²⁶ Eckert LO, Hawes SE, Wolner-Hanssen P, Money DM, Peeling RW, Brunham RC, et al. Prevalence and correlates of antibody to *Chlamydia trachomatis* heat shock protein in women attending sexually transmitted disease clinics and women with confirmed pelvic inflammatory disease. *J Infect Dis* 1997; 175: 1453-8.
- ³²⁷ Stern PL, Brown M, Stacey SN, Kitchener HC, Hampson I, Abdel-Hady ES, et al. Natural HPV immunity and vaccination strategies. *J Clin Virol* 2000; 19: 57-66.
- ³²⁸ Verteramo R, Pierangeli A, Mancini E, Calzolari E, Bucci M, Osborn J, et al. Human papillomaviruses and genital co-infections in gynecological outpatients. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 16.
- ³²⁹ Kiviat NB, Paavonen J, Wolner-Hanssen P, Critchlow CW, Stamm WE, Douglas J, et al. Histopathology of endocervical infection caused by *Chlamydia trachomatis*, herpes simplex virus, *Trichomonas vaginalis*, and *Neisseria gonorrhoeae*. *Hum Pathol* 1990; 21: 831-7.
- ³³⁰ Agrawal T, Vats V, Wallace L. Role of cervical dendritic cell subsets, co-stimulatory molecules, cytokine secretion profile and beta-estradiol in development of sequelae of *Chlamydia trachomatis* infection. *BMC Reproduct Biol Endocrinol* 2008; 6: 46.
- ³³¹ Shew ML, Fortenberry JD, Tu W, Juliar BE, Batteiger BE, Qadadri B, et al. Association of condom use, sexual behaviors, and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2006; 160: 151-6.
- ³³² Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 727-46.
- ³³³ Velicer C, Zhu X, Vuocolo S, Liaw KL, Saah A. Prevalence and incidence of HPV genital infection in women. *Sex Transm Dis* 2009; 36: 696-703.
- ³³⁴ Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE, Sternberg M, Sawyer MK, Swan D, et al. Association of *Chlamydia trachomatis* with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. *Am J Epidemiol* 2005; 162(7): 668-75.
- ³³⁵ Fischer N. *Chlamydia trachomatis* infection in cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2002; 23: 247-250.
- ³³⁶ Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad. Coberturas de vacunación frente a virus del papiloma humano (VPH - pauta completa niñas 11-14 años).

Comunidades autónomas. Año 2015 o curso escolar 2014-2015. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/docs/CoberturasVacunacion/Tabla8.pdf>.

³³⁷ WHO. Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 2-3 December 2015. *Wkly Epidemiol Rec* 2016; 3(91): 21-32.

³³⁸ Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Davidson KW, Epling JW Jr, García FA, et al. US Preventive Services Task Force (USPSTF). Screening for syphilis infection in nonpregnant adults and adolescents: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA* 2016; 315(21): 2321-7.

³³⁹ Schillie S, Murphy TV, Sawyer M, Ly K, Hughes E, Jiles R, et al. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC guidance for evaluating health-care personnel for hepatitis B virus protection and for administering postexposure management. *MMWR Recomm Rep* 2013; 62(RR-10): 1.

