

**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**INFORME DE ESTUDIO DE CASO PREVIO A LA  
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN  
LABORATORIO CLÍNICO**

**TEMA:**

**“DETECCIÓN DE HPV DE ALTO RIESGO EN LESIONES  
CERVICALES, POR TÉCNICAS DE BIOLOGIA  
MOLECULAR”**

**AUTORA**

**ERIKA TATIANA SAAVEDRA CEDEÑO**

**TUTORA**

**DRA. PATRÍCIA GÓMEZ R. MGS.**

**MANTA - ECUADOR**

**MARZO 2017**

# **CERTIFICADO DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL ESTUDIO DE CASO**

Certifico, haber dirigido, orientado y revisado en todas sus partes el desarrollo del trabajo de investigación cuyo informe se reporta con el tema “DETECCIÓN DE HPV DE ALTO RIESGO EN LESIONES CERVICALES POR TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR”, estudio realizado, por la Srta. Saavedra Cedeño Erika Tatiana egresada de la carrera de Laboratorio Clínico.

El presente informe reúne a satisfacción los requisitos de fondo y forma que debe de tener un trabajo de investigación formativa de acuerdo a los lineamientos reglamentarios de la Facultad de Ciencias Médicas de la ULEAM, y por consiguiente, está listo para su presentación y evaluación del jurado calificador que el Honorable Consejo de Facultad designe.

Manta, 22 Febrero 2017

Dra. Patricia Gómez R. Mg.  
**TUTORA DEL ESTUDIO DE CASO**

## **DERECHOS DE AUTOR**

Yo, Ericka Tatiana Saavedra Cedeño, autora del Estudio de caso, “DETECCION DE HPV DE ALTO RIESGO EN LESIONES CERVICALES, POR TECNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR” Autorizo a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, para que haga de este estudio de caso o parte de un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Estudio de caso, con fines de difusión pública, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Manta 22 Febrero 2017

Autora

Ericka Tatiana Saavedra Cedeño

C.I. 131562202-5

## **DEDICATORIA**

Este Trabajo se lo dedico a Dios quien sobre todas las cosas me dio la vida y la sabiduría necesario para la realización de este tema, a mis padres y hermanos por ser los pilares fundamentales para mi vida ya que gracias a ellos soy una mujer emprendedora que lucha por sus objetivos y que siempre mira adelante para alcanzar la meta, en verdad que han sido mi apoyo incondicional todo este tiempo.

Todo este trabajo ha sido posible gracias al amor de ellos.

*Autora*

Ericka Tatiana Saavedra Cedeño

## **AGRADECIMIENTO**

Le agradezco a Dios por su gran amor, bondad y por darme la sabiduría e inteligencia para poder realizar este Estudio de Caso y no solo eso sino el de poder haber cursado cada uno de los años académicos con su bendición.

A la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, Facultad de ciencias Médicas y a cada uno de los docentes que me brindaron sus conocimientos teóricos y prácticos necesarios para mi formación.

A los diferentes profesionales que me recibieron en las instituciones públicas y privadas para realizar mis prácticas pre-profesionales, que me brindaron la confianza y sabiduría para poder desenvolverme en el ámbito laboral.

A las pacientes que formaron parte de este estudio de caso, por su colaboración.

A la Dra. Patricia Gómez, Mg que es una docente amiga, que con sus conocimientos ha sabido guiarme para que se cumpla esta meta.

Autora

Ericka Tatiana Saavedra Cedeño

C.I. 131562202-5

**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABÍ**  
**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Previo el cumplimiento de los requisitos de Ley, el Tribunal otorga la calificación de:

**MIEMBRO DEL  
JURADO CALIFICADOR**

\_\_\_\_\_

Calificación

\_\_\_\_\_

Firma

**MIEMBRO DEL  
JURADO CALIFICADOR**

\_\_\_\_\_

Calificación

\_\_\_\_\_

Firma

**TUTORA DEL  
ESTUDIO DE CASO**

\_\_\_\_\_

Calificación

\_\_\_\_\_

Firma

**CALIFICACIÓN FINAL:**

\_\_\_\_\_

**SECRETARIA**

\_\_\_\_\_

## **RESUMEN**

El HPV es altamente transmisible y actualmente es considerada la infección de transmisión sexual más común en la mayoría de poblaciones. Los factores de riesgo asociados con la infección por HPV están relacionados con el comportamiento sexual. Los más importantes son: edad temprana de inicio de la primera relación sexual, gran número de compañeros sexuales a lo largo de la vida, contacto sexual con individuos de alto riesgo. En esta investigación se realiza un estudio transversal descriptivo, en el cual se revisaron 110 historias clínicas de mujeres que se realizaron el examen para detección del Virus de Papiloma Humano de alto riesgo en SOLCA de Portoviejo durante el periodo de octubre a diciembre del año 2016. Este estudio de caso nos permite establecer como objetivo la prevención y control de la infección por HPV, el cual nos permitirá dar a conocer a las mujeres desde su temprana edad los factores que intervienen y favorecen el desencadenamiento de esta enfermedad.

**PALABRAS CLAVE:** HPV, ALTO RIESGO, CÁNCER, CERVICO - UTERINO

## **ABSTRACT**

HPV is highly transmissible and is currently considered the most common sexually transmitted infection in most populations. Risk factors associated with HPV infection are related to sexual behavior. The most important are: early age of first sexual intercourse, large number of sexual partners throughout life, sexual contact with high-risk individuals. In this research, a descriptive cross - sectional study was carried out, in which 110 women 's clinical histories were reviewed in order to detect the Human Papillomavirus of high risk in SOLCA of Portoviejo during the period from October to December of 2016. This case study allows us to establish as objective the prevention and control of HPV infection, which will allow us to make known to women from an early age the factors that intervene and favor the triggering of this disease.

**KEYWORDS:** HPV, HIGH RISK, CERVICAL CANCER-UTERINE

# INDICE

## CONTENIDO

CUERPO PRELIMINAR .....	i-vi
1. JUSTIFICACIÓN.....	1
2. INFORME DE CASO .....	3
3.1. DEFINICIÓN DEL CASO .....	3
3.2. METODOLOGIA .....	11
3.3. DIAGNÓSTICO DE HPV:.....	15
4. PROPUESTA DE INTERVENCIÓN .....	16
4.1. Denominación .....	16
4.2. Objetivos .....	16
4.3. Fundamento de la Propuesta .....	16
4.4. Lugar de Intervención .....	17
4.5. ACTIVIDADES Y TAREAS .....	17
5. BIBLIOGRAFIA.....	19
6. ANEXOS.....	21

# CAPITULO I

## 1. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo de investigación expresa el estudio realizado sobre el virus del papiloma humano el cual es un grupo grande de virus de los cuales se han identificado más de 100 tipos, de éstos cerca de 40 son transmitidos sexualmente e infectan el aparato genital masculino y femenino. El virus del Papiloma Humano produce infecciones de piel y afecta también las mucosas del tracto ano genital, oral (boca y garganta) y respiratorio.

El problema a investigar es que el virus del papiloma humano (VPH) está involucrado en la mayoría de las enfermedades pre malignas y malignas del cérvix, es la infección más común transmitida sexualmente que afecta a millones de mujeres. Existen datos confirmados por varios estudios que han relacionado la presencia del virus del Papiloma Humano en pacientes con Cáncer cérvico uterino. En el Ecuador, el cáncer cérvico uterino ocupa el primer lugar como causa de muerte oncológica en población femenina. A pesar de las medidas tomadas. Algunos VPH, como los que causan las verrugas comunes que crecen en las manos y en los pies, no se transmiten fácilmente. Sin embargo, más de 40 tipos de VPH se transmiten sexualmente, y estos VPH se transmiten con mucha facilidad por medio de contacto genital. Algunos tipos de VPH que se transmiten sexualmente causan cáncer cervical y otros tipos de cáncer. Estos se dicen VPH de alto riesgo, oncogénicos o carcinogénicos.

Esta investigación está basada en la detección de HPV como centro de estrategias de prevención primaria y secundaria de cáncer cervical mediante la introducción de pruebas moleculares de HPV en el tamizaje y las campañas de vacunación en preadolescentes y mujeres jóvenes, implementándose de manera amplia y prudente estos protocolos tendrían el potencial de complementar el rol del Papanicolaou de erradicar el cáncer cervical extendiendo los beneficios de prevención en las poblaciones en vías de desarrollo del mundo.

Hasta hace pocos años, el único método de tamizaje para cáncer cervical era la tinción de Papanicolaou o citología cervical las cuales detectan lesiones pre malignas, haciendo posible el manejo antes de que la enfermedad se vuelva invasiva.

Las pruebas de HPV pueden utilizarse como parte de un tamizaje primario de cáncer cervical o como una prueba aclaratoria después de un resultado de citología anormal.

Existen dos tipos de pruebas de HPV:

- Pruebas que detectan la presencia o ausencia de cualquiera de los 13 o 14 subtipos de HPV de alto riesgo que están asociados con el cáncer de cérvix.
- Pruebas que realizan la genotipificación del HPV y reportan la presencia de HPV 16 y 18, que son los subtipos más comúnmente asociados con neoplasia intraepitelial cervical de alto riesgo y cáncer de cérvix.

El desarrollo de ensayos de alta sensibilidad de detección del ADN ha revolucionado el diagnóstico de VPH y develado varios aspectos cruciales de la infección de VPH para su estudio. Por tanto mediante el presente trabajo investigativo destacamos la necesidad de concienciación sobre una problemática que va en aumento. Es necesario promover la detección temprana de la enfermedad, ya que la misma no presenta síntomas muy notables hasta estadios avanzados.

Las investigación es sobre este tema se han centrado en el diagnóstico, tratamiento y prevención; sin embargo determinar factores de riesgo en la población representa un paso importante, pues el control de los factores de riesgo determina una reducción de la prevalencia de esta infección; a nivel local en SOLCA se realizan determinaciones de VPH de alto riesgo a más de su genotipo y correlacionar estos resultados con variables que consideramos relevantes como edad, inicio de vida sexual y número de parejas sexuales es importante.

Informando a la comunidad y motivando a la prevención estamos alcanzando un paso más en la tarea de frenar esta enfermedad que está asociada a patologías cuya incidencia va en aumento, como lo es el cáncer de cérvix. Es muy importante llevar a cabo un estudio de los antecedentes familiares complementado con los antecedentes personales de cada uno de los pacientes. Así como una valoración mediante técnicas de laboratorio, a fin de monitorear el desarrollo de la enfermedad.

## **CAPITULO II**

### **2. INFORME DE CASO**

#### **“DETECCIÓN DE HPV DE ALTO RIESGO EN LESIONES CERVICALES, POR TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR”**

##### **2.1 DEFINICIÓN DEL CASO**

La presente investigación esta direccionada en la detección temprana del Virus de Papiloma Humano de alto riesgo en una usuaria que presenta lesiones cervicales; y que acude a la Consulta externa en SOLCA de Portoviejo.

##### **OBJETIVOS**

###### **OBEJETIVO GENERAL:**

- Determinar la prevalencia de los genotipos de alto riesgo oncogénico del Papiloma Virus Humano, en mujeres que acuden por consulta externa de SOLCA de Portoviejo en los meses comprendidos entre octubre a diciembre del 2016.

###### **OBJETIVOS ESPECIFICOS:**

- Detectar los genotipos oncogénicos del virus del papiloma humano mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en mujeres con lesiones cervicales.
- Determinar la prevalencia de los genotipos oncogénicos del virus del Papiloma Virus Humano en los diferentes estadios de la enfermedad.
- Establecer la relación entre los genotipos de alto riesgo oncogénicos del Virus del Papiloma Humano con factores de riesgo como: edad, estado civil, ocupación, nivel educativo; antecedentes ginecológicos-obstétricos y el consumo de tabaco.

## **PRESENTACIÓN DEL CASO**

### **FUNDAMENTO TEORICO:**

El virus Papiloma infecta una variedad de especies siendo específico para cada una de ellas. El Virus Papiloma Humano, presenta un DNA de doble cadena, con aproximadamente 8.000 pares de bases. El genoma puede dividirse en una región temprana (E), una región tardía (L) y una región control (9). La tipificación viral se realiza de acuerdo a la diferencia en el genoma presente entre ellos, de modo tal que un nuevo tipo se identifica al encontrar una secuencia génica E6, E7 y L1 que difiera en más del 10% respecto de otro conocido. Un subtipo o variante se define por una diferencia génica entre 2-5%.

### **PATOGENIA:**

En el desarrollo del cáncer, la integración del DNA viral al genoma de la célula huésped es de particular importancia, produciéndose una interrupción en la región de lectura abierta (ORF) E1-E2, lo que impide un adecuado efecto inhibitorio de E2 en la región de control TATA box, vecina al promotor P97, produciéndose la unión de factores de transcripción (SP1 y Complejo de Transcripción TFIID), activando la expresión de proteínas E6 y E7.

La proteína E6 se une a P53, formando un complejo con proteínas celulares (Proteína ligante de E6, Proteína Quinasa, Proteína ligante de Calcio) sobre el cual actúa un complejo enzimático (Ubiquitina), degradando a P53, el efecto final es un aumento en la transcripción del DNA dañado, activando etapa G1 y bloqueando apoptosis de células mutadas (por inhibición de gen Bax).

La proteína E7 se une a la proteína del Retinoblastoma (PRB), liberando el Factor de Transcripción E2F, el cual se encuentra unido basalmente en fase G1. Como resultado se activan genes de proliferación (cmyc, Timidinakinasa, Polimerasa Alfa). Una diferencia significativa entre los tipos de VPH de bajo y alto riesgo oncogénico estaría en la afinidad diferencial de sus respectivas proteínas E6 y E7 con las proteínas P53 y PRB.

También importaría que el DNA viral se integre al genoma de la célula huésped (VPH de bajo riesgo no se integraría). Existe, sin embargo, un 30% de Cánceres Cervicales VPH, 16 positivos cuyo DNA permanece episomal, pudiendo explicarse el efecto proliferante a través de mutaciones en sitios de control YY1 (los que basalmente inhiben la expresión del promotor P97) de este modo, se activaría la expresión de E6 y E7.

### **TIPOS:**

Se han identificados más de 100 diferentes tipos de HPV que expresan un tropismo característico. Algunos tipos son cutaneotrópicos (HPV 1, 4, 5, 8, 41, 60, 63, 65) y son aislados frecuentemente en verrugas cutáneas y plantares, en lesiones en pacientes con displasia epidérmica verruciforme, en lesiones cutáneas en pacientes inmunodeprimidos después de un trasplante y en algunos tumores epiteliales.

Otro grupo de HPV son mucosotrópicos (HPV 6,11,13,55,16,31,33,35,52,58,67, 18,39,45,68,70,26,51,69,30,53,56,66,32,42,34,64,73,54) y se han identificado en lesiones benignas y malignas del tracto anogenital en ambos sexos. Ocasionalmente, estos tipos virales son aislados en tejidos y lesiones de la cavidad oral, orofaringe, laringe, esófago.

Finalmente, otro grupo de HPV es aislado de manera indiferente en tejidos y lesiones cutáneas y mucosas (HPV 2,3,10,27,28,29,40,43,57,61,62 y 72) y su asociación con lesiones malignas. La expresión clínica mas conocida de la infección viral son los condilomas o verrugas genitales, asociadas en aproximadamente un 90% de los casos a infecciones por HPV 6 y 11 y de manera mas rara con HPV 42 y 16. Estos tipos virales pueden ser transmitidos de madre a hijo en el momento del nacimiento y causar papilomatosis laríngea, una extraña complicación difícil de tratar.

## **EPIDEMIOLOGIA:**

El HPV es altamente transmisible y actualmente es considerada la infección de transmisión sexual más común en la mayoría de poblaciones, A pesar de que en la mayoría de mujeres infectadas por el virus se resuelve espontáneamente en el curso de dos años, las mujeres con infecciones persistentes por HPV podrían desarrollar cáncer de cérvix en el transcurso de 10 a 20 años. El 90% de los cánceres cervicales son de células escamosas e inician en la zona de transformación del ectocervix, el otro 10% son adenocarcinomas, que surgen en la capa glandular columnar del endocervix.

Un metanálisis en 157.879 mujeres con citología cervical normal demostró que a nivel mundial la prevalencia de HPV es de aproximadamente 10%. La prevalencia regional más alta se ha encontrado en África, donde el 22% de mujeres tuvieron evidencia de infección por HPV. Los tipos más comunes a nivel mundial fueron el HPV 16 y el 18 los cuales se pueden prevenir mediante la vacunación.

Se pueden identificar grupos de alta prevalencia en la población de mujeres que practican la prostitución y en personas infectadas por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). La transmisión del HPV sucede, principalmente, por el contacto sexual y los órganos más susceptibles a la infección con el potencial de iniciar una transformación neoplásicas son el cérvix y la línea pectínea del canal anal. El ADN del HPV se puede detectar en cérvix, vagina y vulva en las mujeres y en glande, prepucio y piel del pene y escroto en los hombres además en el canal anal y región perineal de ambos.

Desde la identificación del HPV como causa necesaria para cáncer de cervical, la tecnología basada en detección de HPV se ha convertido en el centro de estrategias de prevención primaria y secundaria mediante la introducción de pruebas moleculares de HPV en el tamizaje y las campañas de vacunación en preadolescentes y mujeres jóvenes. Un estudio de diseño retrospectivo, transversal, realizado en 38 países en Europa, Norteamérica, Sudamérica central, África, Asia y Oceanía es la evaluación mas grande realizada hasta la fecha acerca de los genotipos de HPV relacionados con cáncer de cérvix invasor.

La detección de HPV fue realizada mediante la utilización de una técnica de PCR con primers de amplio espectro SPF-10 seguido por inmunoensayos enzimáticos de ADN y genotipificación con una prueba de hibridación reversa. Los datos de este estudio confirmaron la contribución universal de los tipos de HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 y 58 al cáncer cervical invasor y el rol predominante de los tipos 16, 18 y 45 en el adenocarcinoma cervical.

Actualmente se dispone de esta nueva tecnología para el tamizaje de cáncer cervical, la prueba de HPV que, complementada con la citología, permite reducir estas limitaciones del tamizaje para alcanzar una reducción de la incidencia y mortalidad por cáncer cervicouterino.

## **FACTORES DE RIESGO**

La infección por VPH es más frecuente en las mujeres menores de 30 años; por esta razón este grupo etario constituye el principal blanco de los programas de prevención del cáncer cervical. Se ha demostrado que la infección por VPH de alto riesgo que persiste por varios años, representa el principal factor para el desarrollo de lesiones precancerosas severas y progresión maligna. La prevalencia para esta patología se da entre los 20 y 30 años. Se afirma que el epitelio de tipo metaplasico sería más susceptible para esta afección, también es evidente que el virus requiere de epitelio maduro para cumplir con su ciclo vital. Solo el 2,5 % de pacientes corresponden a una edad superior a los 50 años. Muchos estudios han reportado que la mayor prevalencia se observa en mujeres menores de 25 años, disminuyendo progresiva y linealmente hasta alcanzar 5 % o menos después de los 55 años; esto pudiera explicarse por cambios en las prácticas sexuales con la edad, determinando una menor exposición de las mujeres al virus, o también por inmunidad adquirida en el tiempo a la infección por VPH. En otros estudios se describe un segundo pico en la prevalencia del VPH a partir de los 55 años de edad, explicando que cambios hormonales ocurridos después de la menopausia (principalmente la reducción significativa de la producción de la hormona estrógenos), el debilitamiento del sistema inmune y los cambios fisiológicos del cérvix (atrofias del epitelio) pudieran incrementar la susceptibilidad a la infección por el virus o activar infecciones latentes.

El inicio precoz de actividad sexual ha sido reconocido como un factor de riesgo central en la infección por VPH. Respecto al número de parejas sexuales, se ha demostrado la presencia de VPH, cervical o vulvar en 17-21% de las mujeres con 1 pareja sexual y en 69-83% de aquellas con 5 o más parejas sexuales. Al considerar las relaciones homosexuales entre mujeres se ha encontrado la presencia de VPH, cervical en 13% de éstas parejas. En población de prostitutas, la prevalencia y detección de VPH, en cérvix tipos, 16, 18, 31 y 58 es de 14 y 10 veces mayor respecto población general. Respecto a factores nutricionales, el déficit de Folato sérico ha sido vinculado como factor de riesgo independiente.

### **PRUEBAS MOLECULARES DE ADN DEL HPV**

Para la detección del ADN del VPH se utilizan la captura de híbridos y la PCR. Con la primera se obtiene un resultado positivo o negativo frente a un conjunto de genotipos de “alto riesgo” pero no es posible discriminar cuál de ellos está presente en la muestra. La PCR identifica el genotipo exacto y la posible coexistencia de varios genotipos. Hay estudios recientes que indican que es importante identificar los genotipos 16 y 18 puesto que son los más oncogénicos y conocer su presencia puede ser una información útil en relación a la vacuna contra el VPH. En el caso descrito la presencia del genotipo 16 y posiblemente la coexistencia del genotipo 33, junto con el factor de riesgo del tabaco, provocaron la rápida evolución de las alteraciones citológicas a SIL de alto grado en un periodo corto de tiempo.

Las pruebas de HPV pueden utilizarse como parte de un tamizaje primario de cáncer cervical (usualmente como un cotest con citología) o como una prueba aclaratoria después de un resultado de citología anormal.

Existen dos tipos de pruebas de HPV:

- Pruebas que detectan la presencia o ausencia de cualquiera de los 13 o 14 subtipos de HPV de alto riesgo que están asociados con el cáncer de cérvix.
- Pruebas que realizan la genotipificación del HPV y reportan la presencia de HPV 16 y 18, que son los subtipos más comúnmente asociados con neoplasia intraepitelial cervical de alto riesgo y cáncer de cérvix.

Las pruebas moleculares de HPV están basadas en la detección de ADN de tipos de HPV de alto riesgo en muestras vaginales y/o cervicales. En una mujer mayor de 30 años, es más probable que la infección por HPV sea persistente, por lo que en este momento una prueba positiva indica que puede tener una lesión existente o puede estar en riesgo de una futura lesión pre maligna y cáncer.

## **PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO**

La prueba cobas® 4800 HPV se basa en dos procesos principales:

1. Preparación automatizada de las muestras para extraer simultáneamente ADN del HPV y ADN celular.
2. Amplificación mediante PCR24 de secuencias objetivo de ADN mediante pares de cebadores complementarios para el HPV y la  $\beta$ -globina y la detección a tiempo real de sondas de detección de oligonucleótidos escindidas mediante marcadores fluorescentes específicos para el HPV y la  $\beta$ -globina. Los procesos simultáneos de extracción, amplificación y detección de la  $\beta$ -globina en la prueba cobas® 4800 HPV supervisa el proceso completo. El reactivo de mezcla maestra (Master Mix) de la prueba cobas® 4800 HPV contiene pares de cebadores y sondas específicos para el ADN de los 14 genotipos de HPV de alto riesgo y de la  $\beta$ -globina. La detección del ADN amplificado (amplicón) se lleva a cabo durante los ciclos térmicos con ayuda de sondas de oligonucleótidos con cuatro marcadores fluorescentes distintos. La señal amplificada de los doce genotipos de HPV de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) se detecta con el mismo marcador fluorescente, mientras que las señales del HPV16 y HPV18 y de la  $\beta$ -globina se detectan con marcadores fluorescentes específicos.

## **PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

La prueba de HPV no requiere necesariamente de una examinación pélvica o la visualización del cérvix. Un proveedor de salud puede tomar la muestra de las células insertando un pequeño cepillo u otro instrumento apropiado profundamente en la vagina y luego colocarlo en un recipiente con la solución preservante apropiada.

La preparación de muestras para la prueba cobas® 4800 HPV se realiza de forma automatizada con el equipo cobas x 480. La digestión de las muestras cervicales recogidas en medio de recogida de células cobas® para PCR, solución PreservCyt o fluido conservante SurePath se realiza en condiciones de desnaturalización a temperaturas elevadas y luego se procede al lisado con un reactivo cao trópico. A continuación se purifican los ácidos nucleicos HPV liberados, junto con el ADN de la  $\beta$ -globina que actúa como control del proceso, mediante la absorción de las partículas magnéticas. Posteriormente se lavan y finalmente se separan de dichas partículas, con lo que quedan listos para la amplificación mediante PCR y la detección.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Esta infección constituye un grave problema de salud pública, como lo evidencia la Organización Mundial de la Salud (OMS), la cual estima la presentación de 470.000 nuevos casos de cáncer de cuello uterino anualmente, de los cuales, 80 % suceden en países en desarrollo. La incidencia de infección por VPH cambia de acuerdo con la edad. Es muy común en mujeres jóvenes menores de 30 años, disminuye al aumentar la edad; en Colombia nuevamente aumenta en mujeres mayores de 54 años. En la mayoría de los casos esta infección es transitoria. La distribución de los diferentes genotipos de VPH es variable depende de cada grupo poblacional; en nuestra población se realizan este tipo de exámenes y la detección de los genotipos es importante; demostrar que los factores de riesgo aumentan la probabilidad de infección por genotipos específicos (de alto riesgo) fortalecerá la detección de estos genotipos, fomentando aún más el screening en mujeres en edad fértil. La American Society for Colposcopy and Cervical Pathology o ASCCP recomiendan como una opción el uso de la prueba del ADN del VPH en el manejo de casos de mujeres con pruebas de Papanicolau con resultados anormales; en el Ecuador, en donde según datos del año 2010 del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) cada año se presentan alrededor de 1200 nuevos casos del Virus del Papiloma Humano y 300 muertes por cáncer cérvico uterino siendo el décimo país con mayor incidencia en Latinoamérica. A nivel local es importante determinar la prevalencia de mujeres afectadas con VPH de alto riesgo por su relevancia en la aparición de cáncer y su impacto en la salud pública; además de asociar esta infección con factores demográficos y prácticas sexual.

## **2.2 METODOLOGIA**

### **TIPO DE ESTUDIO**

- Descriptivo
- Retrospectivo

### **AREA DE ESTUDIO**

Consulta Ginecológica en SOLCA Portoviejo

### **UNIVERSO**

Mujer con lesiones cervicales que acude a consulta en SOLCA Portoviejo.

### **CRITERIO DE INCLUSION**

Paciente con Historia Clínica completa y resultados de exámenes.

### **CRITERIO DE EXCLUSION**

Paciente con resultados positivos para HPV de alto riesgo (tipos 16 y 18)

### **VARIABLES**

#### **Variable dependiente:**

Infección con VPH de alto riesgo.

#### **Variables independientes:**

Edad, inicio de vida sexual, número de parejas sexuales.

### **MÉTODOS**

Para el desarrollo de esta investigación se realizó una revisión exhaustiva de las historias clínicas de pacientes que se hayan realizado examen diagnóstico de VPH y cuyo resultado sea de alto riesgo.

### **Lista de Preguntas:**

- ¿Cuáles son los Factores de Riesgo para que una mujer padezca de HPV?
- ¿En qué rango de edad es más frecuente esta infección?
- ¿Cuál es el método de diagnóstico más utilizado para detectar esta infección?

### **Fuentes de Información:**

- Fuentes Bibliográficas
- Historia clínica
- Datos estadísticos

## **HISTORIA CLINICA DE LA USUARIA**

### **Datos generales:**

**Nombres y Apellidos:** María Paulina Córdova Giler

**Fecha de Nacimiento:** 20 de Mayo de 1989

**Edad:** 28 años

**Ocupación Actual:** Ama de casa

**Domicilio:** Portoviejo urbanización "Santa Gema"

**Grupo Sanguíneo:** O Rh positivo

**FUM:** 12/12/2016

### **Primera consulta:**

Paciente de 28 años que acude a la Consulta de Enfermedades de Transmisión Sexual en junio del año 2014 por presentar condilomas vulvares en labio mayor derecho. La historia clínica no tiene datos de interés excepto que es fumadora de 20 cigarrillos al día y practica actividad sexual de riesgo. La exploración ginecológica es normal salvo las lesiones descritas. Se realizan dos tomas cérvico-vaginales, una de ellas para tinción de Papanicolau y la otra para detección del virus del papiloma humano (VPH). El resultado de la tinción de Papanicolau es "Citología dentro de los límites de la normalidad" y el resultado de la detección del VPH es "No se detecta ADN del VPH por la técnica de captura de híbridos". Las serologías de sífilis, VIH, hepatitis B y C también son negativas. Se aconseja tratamiento local con podofilino, desapareciendo las lesiones aproximadamente a las tres semanas.

## **Segunda Consulta:**

En el año 2016 la paciente acude a revisión a la Consulta de Ginecología. En la exploración clínica se observan genitales externos normales, cuello de útero de nulípara, útero regular y anejos sin patología palpable. Por los antecedentes de la paciente se decide llevar a cabo una colposcopia en la que se observan zonas de epitelio acetoblancas en labio superior de cuello de útero. Se realiza biopsia de estas lesiones con resultado anatomopatológico de “Lesiones escamosas intraepiteliales (SIL) de alto grado, asociadas a cambios característicos de infección por VPH”. En la muestra de exudado cervical enviada al Servicio de Microbiología se detecta VPH de alto riesgo por técnica de captura de híbridos y se identifican los genotipos 16 y 18 por la técnica de PCR.

## **RESULTADOS**

### **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

- Los resultados negativos indican que no se ha podido detectar el ADN de HPV o que el volumen era inferior al umbral definido.
- Los resultados positivos indican la presencia de uno o más tipos de alto riesgo. Sin embargo, puesto que los pacientes suelen estar infectados también con tipos de bajo riesgo, no descarta la presencia de tipos de bajo riesgo en pacientes con infecciones mixtas.
- Los resultados de esta prueba deberían interpretarse exclusivamente junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y su historial.
- Los resultados dependen de una obtención adecuada de las muestras, de la ausencia de inhibidores y de que haya una cantidad suficiente de ADN para detectar.

**TABLA N° I**

**INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA COBAS**

**4800 HPV CON RELACION A LA PRESENCIA DE ADN DE HPV**

cobas <sup>®</sup> 4800 HPV Test	Notificación e interpretación de los resultados
Resultado solicitado "HPV High Risk Panel":	
POS HR HPV	<b>HPV de alto riesgo positivo</b> La muestra es positiva para el ADN de cualquiera de los siguientes tipos de HPV de alto riesgo, o una combinación de los mismos: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG HR HPV	<b>HPV de alto riesgo negativo*</b> No se ha podido detectar el ADN de HPV para los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 o el volumen es inferior al umbral definido.
Invalid HR HPV	<b>HPV de alto riesgo no válido</b> Los resultados no son válidos. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener un resultado válido.
Failed	<b>No se han obtenido resultados para la muestra</b> Consulte el Manual de usuario del sistema cobas <sup>®</sup> 4800 para obtener instrucciones sobre cómo revisar avisos de la serie y conocer las acciones recomendadas. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener un resultado válido.
Resultado solicitado "HPV High Risk Panel Plus Genotyping":	
POS Other HR HPV	<b>Otros genotipos de alto riesgo del HPV positivos</b> La muestra es positiva para el ADN de cualquiera de los siguientes tipos de HPV de alto riesgo, o una combinación de los mismos: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
NEG Other HR HPV	<b>Otros genotipos de alto riesgo del HPV negativos*</b> No se ha podido detectar el ADN de HPV para los genotipos 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68 o el volumen es inferior al umbral definido.
Invalid Other HR HPV	<b>Otros genotipos de alto riesgo del HPV no válidos</b> El resultado para otros genotipos de alto riesgo del HPV no es válido. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener resultados válidos para otros genotipos de alto riesgo del HPV.
POS HPV16	<b>Positiva para HPV16</b> La muestra es positiva para el ADN del genotipo 16 del HPV.
NEG HPV16	<b>Negativa para HPV16*</b> No se ha podido detectar el ADN del genotipo 16 del HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
Invalid HPV16	<b>No válida par HPV16</b> El resultado para HPV16 no es válido. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener resultados válidos para HPV16.
POS HPV18	<b>Positiva para HPV18</b> La muestra es positiva para el ADN del genotipo 18 del HPV.
NEG HPV18	<b>Negativa para HPV18*</b> No se ha podido detectar el ADN del genotipo 18 del HPV o el volumen era inferior al umbral definido.
Invalid HPV18	<b>No válida par HPV18</b> El resultado para HPV18 no es válido. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener resultados válidos para HPV18.

**TABLA II**

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA COBAS<sup>®</sup>**

**4800 HPV PARA PACIENTES CON ANOMALÍAS CITOLÓGICAS**

Resultados	Interpretación
NEG Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilidad muy baja de detectar un nivel $\geq$ NIC2.
POS Other HR HPV*, NEG HPV16, NEG HPV18	Probabilidad aumentada de detectar un nivel $\geq$ NIC2 en la colposcopia.
POS HPV16 y/o POS HPV18	La mayor probabilidad de que se detecte un valor $\geq$ NIC2 en la colposcopia <sup>34, 35</sup> .

### 2.3 DIAGNÓSTICO:

El problema a investigar es que el virus del papiloma humano (VPH) está involucrado en la mayoría de las enfermedades pre malignas y malignas del cérvix, es la infección más común transmitida sexualmente que afecta a millones de mujeres. Existen datos confirmados por varios estudios que han relacionado la presencia del virus del Papiloma Humano en pacientes con Cáncer cérvico uterino. En el Ecuador, el cáncer cérvico uterino ocupa el primer lugar como causa de muerte oncológica en población femenina. A pesar de las medidas tomadas. Algunos VPH, como los que causan las verrugas comunes que crecen en las manos y en los pies, no se transmiten fácilmente. Sin embargo, más de 40 tipos de VPH se transmiten sexualmente, y estos VPH se transmiten con mucha facilidad por medio de contacto genital. Algunos tipos de VPH que se transmiten sexualmente causan cáncer cervical y otros tipos de cáncer. Estos se dicen VPH de alto riesgo, oncogénicos o carcinogénicos.

La citología Pap solamente tiene un bajo grado de sensibilidad con un solo ciclo de detección ó tamizaje. Mientras la sensibilidad aumenta a lo largo de varios ciclos de pruebas, durante ese mismo tiempo la enfermedad no detectada podría estar progresando.

La prueba VPH combinada con la confianza extendida en la citología Pap, provee a los médicos una mayor oportunidad para manejar los riesgos de lesiones precancerosas, proporcionándoles a las mujeres mayor certeza y menor incertidumbre sobre la comprensión de su riesgo en el cáncer cervical. Adjunto esta la descripción lo que la co-prueba podría significar para su práctica:

- Identificación de las mujeres con lesiones precancerosas o en riesgo de lesiones precancerosas que no son detectadas por citología Pap.
- Mejor estratificación de riesgo, que permite su enfoque sobre aquellas mujeres con necesidad de mayores cuidados, para asegurar que la gran mayoría se encuentra en riesgo muy bajo, protegiéndolas de intervenciones innecesarias.

## CAPITULO III

### 3. PROPUESTA DE INTERVENCIÓN

#### 3.2 Denominación

GUIA DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA TRANSMICION DE HPV EN MUJERES DE EDAD TEMPRANA Y AVANZADA

#### 3.3 Objetivos

- Sensibilizar e informar a la ciudadanía, para lograr mejorar la prevención del virus del papiloma humano y el cáncer de cérvix.
- Reforzar el papel de los padres y madres, aportadles nuevos conocimientos y hábitos saludables que influyan y repercutan directamente en las actitudes y hábitos de los preadolescentes, favoreciendo así la prevención del VPH.
- Informar sobre los comportamientos saludables y sobre los que incrementan las posibilidades de infectarse del VPH.
- Concienciación de las graves consecuencias para la salud de la infección del VPH en relación al desarrollo del CACU.

#### 3.4 Fundamento de la Propuesta

El uso de la citología cervico-vaginal convencional ha logrado reducir la mortalidad por cáncer de cuello uterino en países desarrollados, tanto cuando es aplicada en programas organizados de detección como cuando se tamiza una proporción grande de mujeres de manera oportunista. Estudios recientes han demostrado que aún con un adecuado control de calidad, la citología convencional tiene en promedio una sensibilidad del 53% (IC95% 48,6–57,4%) en Europa y Estados Unidos. Sin embargo, en América Latina su uso ha tenido poco impacto en la incidencia y mortalidad de cáncer de cuello uterino, debido a la baja sensibilidad de la prueba, la baja cobertura de los programas de tamizaje y el elevado porcentaje de mujeres con anormalidades citológicas que no son evaluadas y/o tratadas adecuadamente.

En consecuencia, desde la década de los 90, se han venido estudiando pruebas de tamizaje alternativas como la inspección visual después de la aplicación del ácido acético (IVAA) y principalmente la detección del material genético del VPH. La validez y precisión de esta última han sido evaluadas extensamente en varios estudios en Latinoamérica y el mundo (10). La prueba del ADN de los genotipos de VPH-AR en muestras cervicales tiene una sensibilidad mayor al 90% para detectar lesiones de neoplasia intraepitelial cervical de grado 2 (CIN II) o más, aunque es menos específica que la citología. Por ello, se propone esta prueba para el tamizaje en mujeres mayores de 30 años y en cohortes vacunadas.

### **3.5 Lugar de Intervención**

El programa se llevara a cabo, en los Centros Educativos donde estudian los niños, niñas y adolescentes concretamente se realizará en un espacio adecuado, en relación a dimensiones y medidas de seguridad, también se tendrá en cuenta, que ese espacio cuente con los medios materiales necesarios para llevar a cabo las sesiones, tales como: pizarra, retroproyector, TV y con unas condiciones ambientales que estimulen a la atención.

### **3.6 ACTIVIDADES Y TAREAS**

#### **Actividades:**

- Presentar la propuesta a los Directivos de la Unidad Distrital para su aprobación
- Realizar el taller a todo el personal y alumnado que conformen la unidad académica sobre la "GUIA DE PREVENCION Y CONTROL DE LA TRANSMICION DE HPV EN MUJERES DE EDAD TEMPRANA Y AVANZADA"

**Tareas:**

- Agendar lugar, hora y fecha para la realización del taller
- Preparar materiales físicos, didácticos y audiovisuales de apoyo
- Preparación de la intervención

**CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y TAREAS**

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>ENERO</b>	<b>FEBRERO</b>	<b>MARZO</b>
Presentar la propuesta a los Directivos de la Unidad Distrital para su aprobación	<b>X</b>		
Agendar lugar, hora y fecha para la realización del taller	<b>X</b>		
Preparar materiales físicos, didácticos y audiovisuales de apoyo		<b>X</b>	
Realizar el taller a todo el personal y alumnado que conformen la unidad académica			<b>X</b>

#### 4. BIBLIOGRAFIA

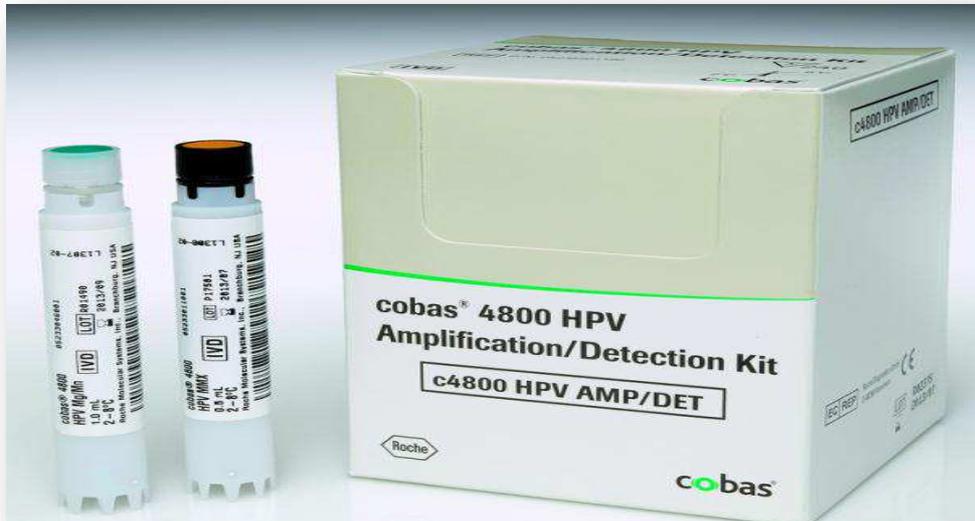
- Zur Hausen H- human papilloma virus and their possible role in squamous cell carcinomas- *Current Topics in Microbiology and Immunology* 1977; 78:1.
- Koss LG, Durfee GR Unusual patterns squamous epithelium of uterine cervix cytologic and pathologic study of Koilocytosis and atypia *Ann ny Acad sci.* 1956,63: 1235
- Newall AT, Bentles P. Cost Effectiveness Analysis of Human papilloma Virus Vaccinations. *The Lancet Infectious Diseases* 4 April 2007 Vol 7 Issue 4 Pages 231-278
- Villa LL Costa and Cul. Prophylactic Quadrivalent Human Papilloma Virus (type 6,11,16 and 18) Virus like Vaccines in young Woman; a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncology* 5 May Vol 6 Issue 5: 271-278. 6.
- Raffle, A.E human Papilloma Vaccines Policy. *The Lancet*, 03. February 2007; Vol 369 Issue 9559, 367, 368
- Rose, R and Col. Finding a Vaccine for human Papilloma Virus. *The Lancet*, 25 March 2006, Vol 367, Issue 9515, 25:985
- Frazer, I.H Cox, J. Finding a Vaccine for Human papilloma Virus. *The Lancet* Vol 367, Issue 9528, 24 Jun 2006. Pages 2058-2059
- Muñoz Z NA Review of the interim phase III clinical data for quadrivalent human papilloma virus vaccine, 6<sup>th</sup> International multidisciplinary congress of the European Research Organizations on genital infections and neoplasia. Presented at: Eurosin. April. 2006 Paris
- Kahn J a, Berastein DI human papilloma Virus Vaccines and adolescent, *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2005; 17 (5) 1476-82
- Mad. C. Koutsky L A Q, et al. Efficacy of human papillomavirus 16 vaccine to prevent cervical intraepithelial neoplasia randomized controlled trial *Obstet. Gynecol.* 2006 Jan 107 (1):18:25
- Lowy Dr, Schneider Jt Prophylactic human papillomavirus vaccines *J. Clin. Invest.*: 2006 116(5) 1167-73
- World health organizations 1999 disponible en: [http://www.who.int/vaccine\\_research/v/v20/documenta/en/pvh1](http://www.who.int/vaccine_research/v/v20/documenta/en/pvh1) última consulta 16-7-2006

- Pérez Echemendía Mario Ginecología oncología pelviana Editorial
- Ciencias Médicas La Habana 2006. pág 32
- Orlando rigol y coautores. Obstetricia y ginecología Editorial Ciencias Médicas 2004. 133
- Zhou Y, Bosch ML, Salgalles ML curret milhods for coodirg dentritic cells with tumor antigen for the induction of antitumor immunity JInmunother 2002; 25(4); 289.
- Xi LF, Carter JJ, Galloway DA, it al Ac quisition and natural history of human papilloma virus type 16 variont infections among a cohort of finale university students. Cancer Epidermiol Biomarkers Prev 2002; 11(4)0 343.
- Williamson AL, Marais D, Passmore JA, it al- human papilloma virus (HPV) infection in southern Africa: prevalence. Immunity, and vaccine prospiet I UBM B life 2002; 53(4-5) = 253
- <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos/hoja-informativa-vph>
- <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4722/1/T-UCE-0006-109.pdf>
- <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20238/1/TESIS.pdf>
- <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/1850/1/tesis%20de%20virus%20papiloma%20humano.pdf>
- <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/15407/v121n6p550.pdf?sequence=1>
- <http://www.monografias.com/trabajos89/incidencias-virus-papiloma-humano/incidencias-virus-papiloma-humano.shtml>

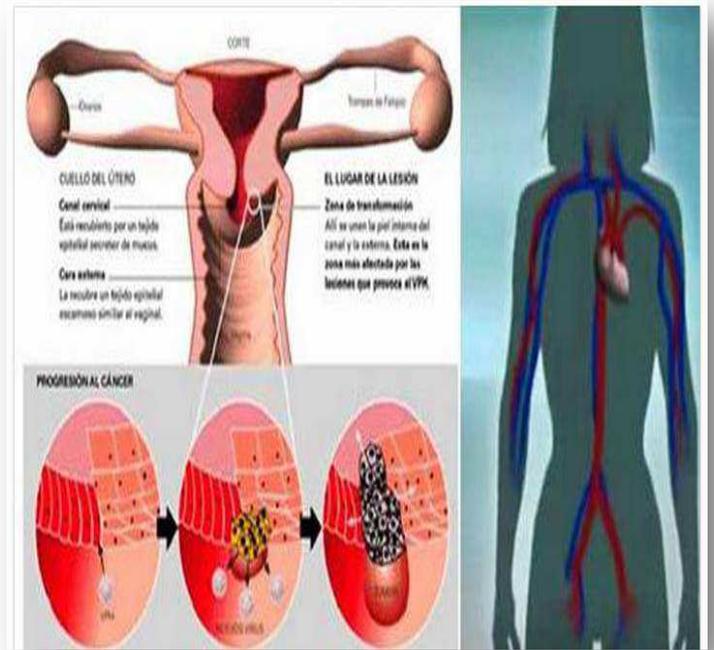
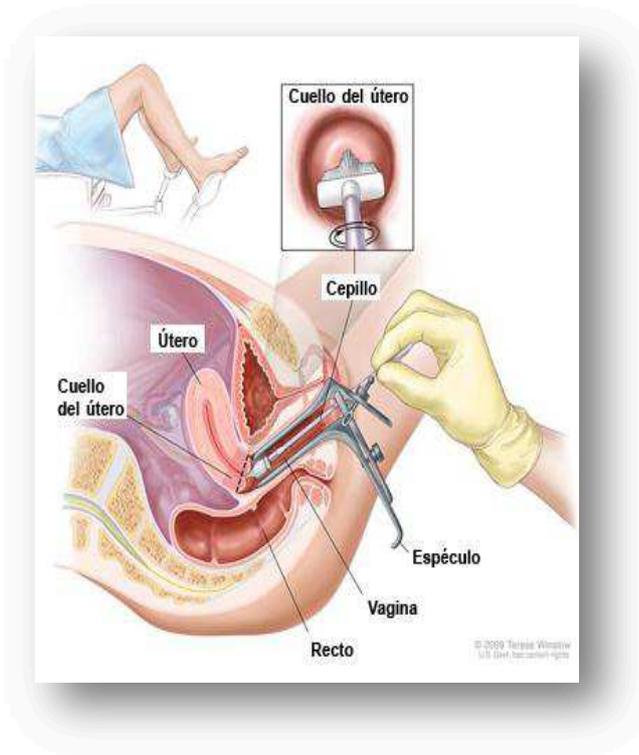
## 5. ANEXOS



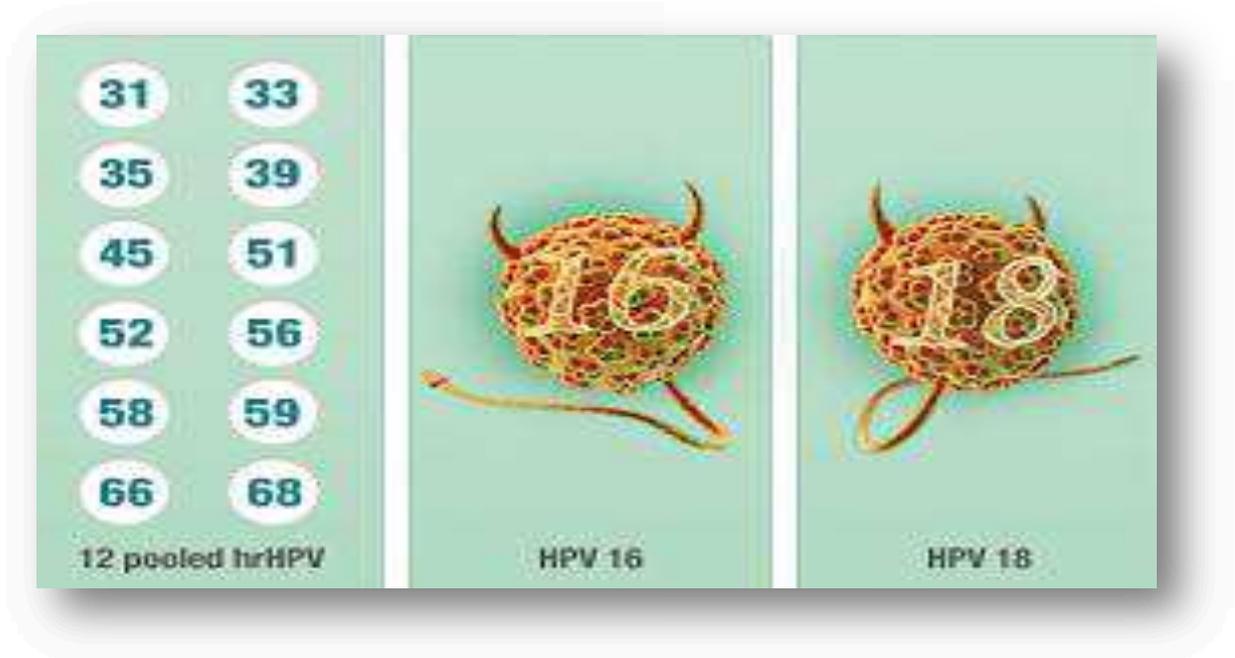
ANEXO N° 1 (COBAS C311)



ANEXO N°2 KIT DE REACTIVOS PARA DETERMINACION DE HPV



ANEXO N° 3 TOMA DE MUESTRA



ANEXO N°4 SEROTIPOS DE ALTO RIESGO