



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO
EN MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS
FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE
LOS CANTONES EL PAN, GUACHAPALA, NABÓN, OÑA, SEVILLA DE
ORO Y SIGSIG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY. 2014**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE LICENCIADA Y
LICENCIADO EN LABORATORIO
CLÍNICO**

**AUTORES: DORYS KARINA GALARZA BANEGAS
MERCEDES CATALINA TORRES CALLE
JOSÉ STALIN ORTIZ MEJÍA**

DIRECTOR: DR. JOSÉ IGNACIO ORTIZ SEGARRA PHD

ASESOR: DR. JOSÉ IGNACIO ORTIZ SEGARRA PHD

**CUENCA - ECUADOR
2014**

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de los genotipos del virus del papiloma humano (VPH) de alto y bajo riesgo oncogénico y su relación con los factores de riesgo, en mujeres residentes de los cantones Sigsig, Nabón, Sevilla de Oro, Oña, Guachapala y El Pan de la Provincia del Azuay.

Se realizó un estudio de tipo transversal, en una muestra representativa de la población que fue seleccionada de manera aleatoria. La identificación de los genotipos se realizó mediante PCR en tiempo real, en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. Mediante el examen de Papanicolaou realizado por los médicos de los servicios de salud se valoró el estado del cérvix uterino.

Participaron 146 mujeres con edad promedio de 36 años, la mayoría casadas, con deficientes ingresos mensuales, estudios secundarios y primarios. La prevalencia del VPH encontrada fue de 26,71%. Entre los genotipos de alto riesgo oncogénico identificados están: 39, 53, 59, 45, 68, 16, 52, 58, 66, 31, 33, 69 y 73; y los genotipos de bajo riesgo reconocidos fueron: el 42, 54, 61, 6, 43, 44 y 70. La edad de mayor prevalencia está en el grupo de entre 20 a 29 años. El único factor de riesgo asociado de manera significativa fue el número de 3 compañeros sexuales (OR 5,09; IC 95% 1,15 - 22,45).

Las vacunas utilizadas por el MSP que contienen los genotipos 6, 11, 16 y 18 servirían parcialmente para prevenir el cáncer en la población estudiada.

PALABRAS CLAVES: VIRUS PAPILOMA HUMANO; FACTORES DE RIESGO; PCR TIEMPO REAL; PROVINCIA AZUAY.

ABSTRACT

This research project is part of the Research of the University of Cuenca (DIUC) and aimed to determine the prevalence of HPV genotypes of high and low oncogenic risk its relationship with HPV vaccines and the various factors risk in women living in the Sigsig, Nabón, Sevilla de Oro, Oña, Guachapala and El Pan of the Province of Azuay cantons.

The study sample was randomly selected.

The identification of genotypes were performed in the laboratory of Molecular Biology, in the Faculty of Medical Sciences at the University of Cuenca.

PCR assay was used in real time in the detection of HPV genotypes.

In the 6 counties found HPV prevalence was 26.71%, the vaccines used by the MSP which warn against genotypes 6, 11, 16 and 18 serve to partially prevent cancer because the genotypes were found in 16 1.37% and 0.68% 6. Genotypes 18 and 11 were not found.

The main risk factor associated with HPV was the number of sexual partners, finding that women who have had 3 or more partners increased to 5 times the chance of getting HPV compared to other factors such as age of first sex , years of sexual activity, use of AHO, number of children and alcohol.

KEYWORDS: HUMAN PAPILLOMA VIRUS; RISK FACTORS; REAL-TIME PCR; AZUAY PROVINCE.

ÍNDICE

DEDICATORIA	12
AGRADECIMIENTO	15
INTRODUCCION	16
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2. JUSTIFICACIÓN	20
3. FUNDAMENTO TEORICO.....	22
4. OBJETIVOS	39
4.1. Objetivo General.....	39
4.2. Objetivos Específicos.....	39
5. METODOLOGÍA	40
5.1. Tipo y diseño general del estudio	40
5.2. Universo y muestra	40
5.3. Criterios de inclusión y exclusión.....	41
5.4. Variables del estudio.....	42
5.5. Métodos, técnicas y procedimientos.....	43
5.5.1 Selección de las mujeres	43
5.5.2 Procedimientos y Técnicas	45
5.5.3 Identificación del genotipo del VPH.....	46
5.5.4 Procedimiento	47
5.6. Análisis estadístico	49
5.7. Aspectos éticos.....	50
6. RESULTADOS.....	51
6.1. Características demográficas y socioeconómicas de las mujeres participantes	51

6.2. Genotipos de VPH identificados y su relación con las lesiones del cuello uterino	53
6.3. Prevalencia de genotipos de VPH	54
6.4. Genotipos del VPH y edad de las mujeres	55
6.5. Factores asociados al VPH.....	57
6.6. Genotipos del VPH encontrados en la población estudiada y genotipos presentes en las vacunas utilizadas en el Ecuador.....	59
7. DISCUSION.....	60
8. CONCLUSIONES.....	62
9. RECOMENDACIONES	63
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS.....	73
ANEXO 1	73
ANEXO 2	76
ANEXO 3.....	78
ANEXO 4	82
ANEXO 5.....	83
ANEXO 6.....	86



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Dorys Karina Galarza Banegas, autora de la tesis, "PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE LOS CANTONES EL PAN, GUACHAPALA, NABÓN, OÑA, SEVILLA DE ORO Y SIGSIG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY. 2014", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Licenciada en Laboratorio Clínico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 18 de noviembre del 2014



Dorys Karina Galarza Banegas

C.I: 010388888-9



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Mercedes Catalina Torres Calle, autora de la tesis, "PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE LOS CANTONES EL PAN, GUACHAPALA, NABÓN, OÑA, SEVILLA DE ORO Y SIGSIG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY. 2014", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Licenciada en Laboratorio Clínico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 18 de noviembre del 2014



Mercedes Catalina Torres Calle

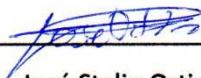
C.I: 010492697-7



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

José Stalin Ortiz Mejía, autor de la tesis, "PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE LOS CANTONES EL PAN, GUACHAPALA, NABÓN, OÑA, SEVILLA DE ORO Y SIGSIG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY. 2014", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Licenciado en Laboratorio Clínico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 18 de noviembre del 2014



José Stalin Ortiz Mejía

C.I: 010475608-5



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Dorys Karina Galarza Banegas, autora de la tesis, "PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE LOS CANTONES EL PAN, GUACHAPALA, NABÓN, OÑA, SEVILLA DE ORO Y SIGSIG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY. 2014", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 18 de noviembre del 2014

Dorys Karina Galarza Banegas

C.I: 010388888-9



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Mercedes Catalina Torres Calle, autora de la tesis, "PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE LOS CANTONES EL PAN, GUACHAPALA, NABÓN, OÑA, SEVILLA DE ORO Y SIGSIG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY. 2014", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 18 de noviembre del 2014



Mercedes Catalina Torres Calle

C.I: 010492697-7



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

José Stalin Ortiz Mejía, autor de la tesis, "PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DE RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE LOS CANTONES EL PAN, GUACHAPALA, NABÓN, OÑA, SEVILLA DE ORO Y SIGSIG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY. 2014", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 18 de noviembre del 2014

José Stalin Ortiz Mejía

C.I: 010475608-5



DEDICATORIA

A mis padres por la confianza y el apoyo brindado en el trayecto de mi vida. Han sabido demostrarme su amor corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

Y a mi hijo por todo su amor y sacrificio en estos años ya que eres tú la razón por la cual me llene de fuerzas para vencer todos los obstáculos.

Dorys

DEDICATORIA

A mis padres, porque siempre estuvieron a mi lado apoyándome para concluir mi carrera universitaria brindándome su confianza, amor, consejos y ayuda en los momentos difíciles haciendo de mí una mejor persona.

A mis hermanos por sus palabras y su compañía y a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos.

Catalina

DEDICATORIA

Especialmente a mis padres que gracias a sus esfuerzos he logrado culminar mis estudios, a mis hermanos porque jamás me negaron su apoyo y siempre estuvieron pendientes de mí y a todas las personas cercanas que me apoyaron durante todo este proceso gracias por toda su ayuda.

José

AGRADECIMIENTO

Llenos de satisfacción por haber culminado este trabajo, dejamos constancia de la eterna gratitud y afecto a la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Estatal de Cuenca por acogernos en sus aulas y de manera particular a la Carrera de Laboratorio Clínico y a sus docentes por ser formadores de grandes profesionales.

A nuestro director de Tesis Dr. José Ortiz Segarra, quien nos supo orientar y brindar su apoyo y confianza en todo momento para que esta dura etapa de vida estudiantil culmine con éxito.

Y de manera especial un sincero agradecimiento a todas las mujeres que formaron parte de esta investigación, a los médicos del M.S.P de los diferentes cantones y a todas aquellas personas que de una u otra manera nos han ayudado ya que sin su apoyo esta investigación no se hubiese concluido con éxito.

Dorys, Catalina y José

INTRODUCCION

La infección por el virus del papiloma humano representa una de las enfermedades de transmisión sexual más comunes, este microorganismo se asocia directamente con los condilomas, lesiones escamosas intraepiteliales y malignas anogenitales, que incluyen el carcinoma de cérvix, vaginal, vulvar y anal (Murillo 2010).

Actualmente se ha identificado más de 200 serotipos de VPH que infectan la región anogenital, también se han descrito otro tipo de infecciones como la orofaríngeas y amigdalitis (Reina 2008).

Esta investigación tuvo como objetivo detectar los diferentes tipos de VPH en la población femenina de los cantones: Sigüig, Guachapala, Sevilla de Oro, El Pan, Nabón y Oña de la provincia del Azuay, así como su relación con los diferentes factores de riesgo tales como la promiscuidad, actividad sexual a temprana edad, además de factores ambientales como son la utilización prolongada de anticonceptivos orales, la alta paridad y el tabaquismo considerados como posibles causantes para contraer una infección de HPV y un desarrollo de cáncer de cuello de útero, razón por lo cual esta investigación se sustenta en una amplia revisión bibliográfica que a continuación exponemos lo más importante.

Para la detección temprana del cáncer cérvicouterino, se sigue utilizando actualmente el Papanicolaou, pero no es un método definitivo por sí solo. El diagnóstico definitivo y requisito indispensable para establecer un tratamiento es el estudio histopatológico y la determinación del ADN del VPH.

Se conocen 2 tipos de vacunas contra la infección de VPH en la actualidad, pero es necesario que ante una infección prevalente y causante de una de las principales causas de muerte por cáncer en la mujer, se siga realizando constantes investigaciones ya que la vacuna solo se limita a actuar sobre

ciertos genotipos que no siempre van a ser los de más alta incidencia ya que estos pueden variar según la población y las diferentes áreas geográficas (Ramírez 2014).

En este informe exponemos, en el planteamiento del problema los aspectos relevantes del cáncer del cuello uterino, su relación con el VPH, los factores que están asociados, los exámenes de laboratorio y procedimientos técnicos. Con la justificación pretendemos argumentar que las razones de este trabajo, más allá del cumplimiento de un requisito para la graduación, radican en las preocupaciones que tenemos por cuestionar verdades aparentemente inamovibles como son las políticas de salud que se sustentan en evidencias de otras realidades y que por lo tanto hace falta la búsqueda y construcción de nuevas evidencias a través de la investigación.

En el fundamento teórico hemos tratado de sintetizar, comenzando por un breve acercamiento histórico, los aspectos más importantes y actualizados que sustentan el problema, objetivos y la metodología, así como el referente para la discusión. Los objetivos han sido elaborados de manera similar con los del proyecto general que se realiza en los 14 cantones de la provincia del Azuay, en complemento con otro proyecto realizado antes en la ciudad de Cuenca, por el mismo equipo de investigadores. De igual manera, la metodología se desprende del proyecto general. Luego, en los resultados analizamos los hallazgos de la investigación que están organizados en función de los objetivos. En la discusión confrontamos los resultados encontrados, con la información obtenida de la literatura científica publicada, aquí analizamos las diferencias y semejanzas entre los descubrimientos locales con los nacionales y globales, para finalmente plantear las conclusiones y las recomendaciones. En los anexos constan los mapas, formularios, formato del consentimiento informado y fotografías de los equipos y demás recursos que utilizamos para la investigación.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer cervical es un problema sanitario sumamente importante en los países en desarrollo. Se conoce que cerca de 500.000 nuevos casos de cáncer cervical se presentan cada año en todo el mundo, con una tasa de incidencia de 44,2 por 100.000 mujeres. El 80% de estos casos se encuentran en África, América Central, y América del Sur, donde los sistemas de salud siguen siendo altamente ineficientes. Cada año en el mundo mueren alrededor de 231.000 mujeres a causa del cáncer cérvico uterino que es considerado ya como el segundo en frecuencia en la población femenina a nivel mundial (Deluca 2007). Actualmente se ha comprobado que la infección por el virus del papiloma humano (VPH) constituye la principal causa del carcinoma cérvico uterino; a su vez el VPH es el patógeno más frecuente de las infecciones de transmisión sexual (Hernández 2005). En base a su capacidad para inducir tumoración se han agrupado en tipos de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82), asociados con cáncer invasivo y lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto riesgo y tipos de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70) asociados principalmente con verrugas genitales (De Guglielmo 2010).

Entre los principales factores asociados con la infección por VPH en mujeres están: la edad, alto consumo de bebidas alcohólicas y tabaco, uso prolongado de anticonceptivos orales, inicio temprano de relaciones sexuales, alto número de parejas sexuales, trauma cervical durante el parto, factores genéticos y ciertos factores hormonales endógenos asociados con el embarazo (Cordero 2008).

Se considera al cáncer del cuello de útero un grave problema de salud en el país y región ya que en los últimos 10 años ha habido un incremento de la mortalidad por dicha causa, siendo esta realidad directamente vinculada a los escasos programas de detección y tratamiento oportuno. En el “Quinto Informe de Incidencia de Cáncer en el Cantón Cuenca” de SOLCA, se

expresa que considerando todos los cánceres femeninos, la incidencia en esta ciudad, el cáncer de cuello uterino in situ es del 3,9 % y del cáncer invasor es del 17,5 %, lo que al totalizar el 21,4 %, alcanza al primer lugar de entre las neoplasias (SOLCA 2007).

A partir de 1986 ha sido posible determinar mediante pruebas de laboratorio de biología molecular, con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en Inglés, los genotipos de alto riesgo oncogénico que predisponen con alta probabilidad a desarrollar el cáncer cérvico uterino y, además, identificar los genotipos de bajo riesgo oncogénico. A pesar de ello, existe el problema grave de no conocer la distribución de estos genotipos en las mujeres de los cantones de la provincia del Azuay, como resultado de una investigación, con muestra aleatorizada, que permita generalizar los resultados para implementar de mejor forma las normas de detección temprana, diagnóstico y tratamiento de este cáncer, así como el no conocer su correlación con las características citopatológicas del cuello uterino.

2. JUSTIFICACIÓN

Con este trabajo, realizado más allá de cumplir con el requisito relacionado con la graduación en la Carrera de Laboratorio Clínico, pretendemos sobre todo contribuir, de alguna manera, con el mejoramiento de la calidad de vida, que consta en el objetivo 4 del Plan Nacional del Buen Vivir, en razón de que, una vez publicados los resultados, las autoridades del Ministerio de Salud Pública podrán asumir dichos hallazgos, junto con los de otros estudios nacionales, para tomar las decisiones en torno a las políticas y programas de salud sexual y reproductiva, basadas en las mejores evidencias científicas.

En el presente estudio que forma parte del proyecto **“Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones de la provincia del Azuay. 2013-2014”**, contando con el financiamiento de la Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca (DIUC), ganador del XII concurso de proyectos de investigación; se podrá ver en la parte de resultados que los datos de prevalencia del VPH en las mujeres con vida sexual activa que pertenecen a seis cantones de la provincia del Azuay, son diferentes tanto a los datos encontrados en la ciudad de Cuenca, como a los resultados de investigaciones realizadas en otros lugares del país. El hallazgo más importante radica en que un porcentaje mínimo de mujeres presentan infección con los genotipos que contiene la vacuna utilizada por el Ministerio de Salud Pública (MSP).

De acuerdo con la planificación del proyecto general y una vez que este informe, junto con los otros dos que llegan a cubrir los 14 cantones de la provincia, sean aprobados por la academia, los docentes investigadores consolidarán toda la información para el análisis global, con lo cual elaborarán el informe del proyecto, el mismo que será enviado a las autoridades del MSP. También está previsto realizar un artículo científico que será publicado en una revista indexada.



Por otro lado, según los compromisos adquiridos, los resultados de los exámenes, tanto de los genotipos del VPH como del Papanicolaou, serán entregados a los profesionales de las unidades de salud para que a su vez entreguen a las mujeres participantes y de este modo, en los casos necesarios, se realicen los tratamientos adecuados, de acuerdo con las normas y protocolos del MSP.

3. FUNDAMENTO TEORICO

EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (Datos históricos)

La primera descripción de las verrugas se encuentra en los escritos de Celso (25 DC); en 1793, Bell reconoció que no estaban relacionadas con sífilis; el origen viral de las verrugas lo postuló Ciuffo en 1907 y Strauss en 1949 identificó al virus. La transmisión sexual de las verrugas fue afirmada en 1954 por Barret. En 1956, Hoss y Durfee acuñaron el Papanicolaou fue el primero en descubrir células originadas a partir de las verrugas, con el término de "halo perinuclear" en 1960. Almeida señaló la heterogeneidad de los tipos de VPH y Meisels postuló al coilocito en la citología exfoliativa como característico de infección de VPH en 1976; así en estas épocas estableció la heterogeneidad genética de los papilomas, lo que llevó a Gissman, Pfister y ZurHausen a identificar cuatro tipos de VPH diferentes todo esto en 1977. En 1983 se produjo un suceso muy importante que relacionó al VPH con cáncer, la identificación de Durst del ácido desoxirribonucleico (DNA) de VPH en cánceres cervicales, siendo la primera descripción de esta asociación que fue descrita por Lewandowski y Luzt en 1922 en un paciente que presentaba epidermodisplasia (Vargas 1996).

Tipos de VPH

En relación a la patogenia oncológica del VPH, se clasifican en tipos de alto riesgo oncológico y de bajo riesgo oncológico. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) considera que en las mujeres los VPH de alto riesgo pueden conducir al cáncer del cuello uterino, vulva, vagina y ano; en los hombres, pueden conducir al cáncer del ano y del pene, en tanto que los VPH de bajo riesgo pueden causar verrugas genitales. Cerca de 35 tipos de VPH se identifican en lesiones benignas y malignas del tracto ano genital tanto en hombres como en mujeres; además, quince de estos tipos virales se asocian en diferente grado al cáncer de cérvix. El papiloma virus tipo 16 es el más prevalente de los VPH oncogénicos,

responsable de más de la mitad de los tumores, mientras que el papiloma virus tipo 18 está involucrado en el 20% de los mismos (Reimers 2009).

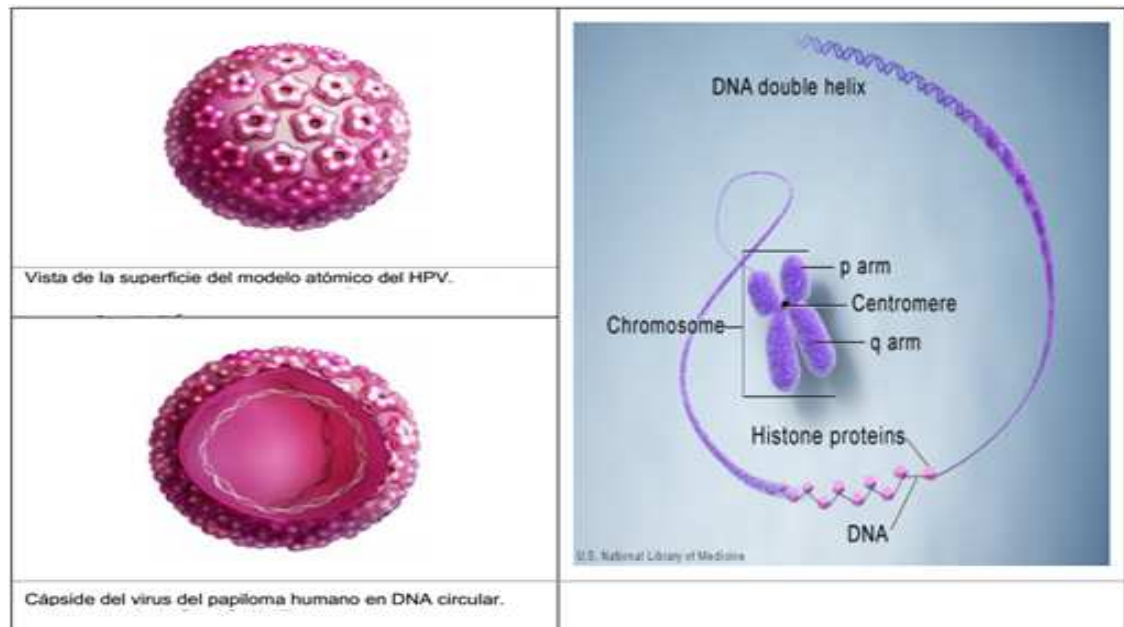
Son pocos los tipos de VPH que contribuyen a las infecciones en el tracto ano genital y que generalmente se encuentran tanto en personas asintomáticos como en pacientes con cáncer, además de los tipos 16 y 18, los VPH- 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82 deben de ser considerados oncogénicos (carcinogénicos) o tipos de “alto-riesgo”; mientras que los tipos 26, 53 y 56 son “probablemente de alto-riesgo” (Lizano 2009).

Características del VPH

Los Virus del Papiloma Humano constituyen una familia que no están encapsulados, tienen un diámetro entre 52 y 60nm². Sus partículas tienen de una molécula de ADN, de doble hélice, cerrada, con un genoma circular de 7000-8000 pares de bases (bp) que van unidos a histonas celulares y una cápside icosaedral T=7 no presenta envoltura. La cápside está constituida por 72 capsómeros pentaedros que contienen una doble estructura de proteínas, cada capsómero está conformado por 5 monómeros de la proteína L1 (Vanegas 2008).

Grafico No .1

Estructura atómica del VPH.



Fuente: Vanegas 2008.

Estructura molecular del VPH

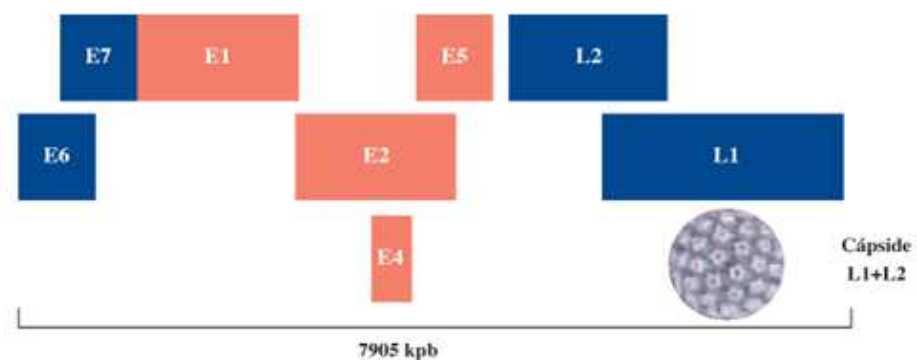
Cerca de 100 distintos VPH han sido molecularmente clonados y secuenciados. A continuación se describen las proteínas que lo constituyen. La Proteína E1, es importante en la replicación viral está unida a una secuencia específica de ADN en el origen de la replicación, requiere la ayuda de una segunda proteína viral E2, es esencial en el reconocimiento del origen para la replicación del VPH. La Proteína E2 interviene en el proceso de la nueva replicación del DNA viral, los niveles bajos de esta activan la transcripción a partir del LCR viral, y los niveles altos actúan como represores de la transcripción. La Proteína E4 es la que más vamos a encontrar en el epitelio infectado por VPH, tiene la capacidad de unirse a la red de citoqueratina y a los puntos muertos de las proteínas, facilita y apoya la amplificación del genoma viral, la regulación de la expresión del gen tardío y el control de la maduración.

La Proteína E5 es la proteína de transformación más pequeña que codifica el VPH, se ha demostrado que puede cooperar con la E7 de VPH16 siendo útil para estimular la proliferación de las células primarias. La Proteína E6 participa en la interacción de VPH16 y VPH18 con la proteína p53 (supresora de tumores). Las proteínas E6 y E7 del VPH de alto riesgo alteran el mecanismo de control del crecimiento celular normal inactivando dos proteínas caracterizadas como supresoras de tumores, p53 y retinoblastoma (pRb). La Proteína E7 cumple varias funciones, es un regulador crítico de entrada al ciclo celular, y la pérdida de esta función, por anulación, mutación, o interacción con las oncoproteínas de DNA viral, conducen a una transformación oncogénica (Escobar 2010).

La Proteína L1, conocida como la proteína mayor, es la principal estructura de la cápside debido a su participación en la entrada del virus a la célula huésped. Tiene la capacidad de auto ensamblarse espontáneamente, adquiriendo una conformación estructural y antigénica similar al virus nativo pero sin serlo y la Proteína L2 llamada también proteína menor de VPH participa en el proceso de encapsidación mediante el reclutamiento de pentámeros de L1 y del genoma viral, importante en la infección por HPV ya que facilita la penetración de los viriones y el crecimiento celular de los VPH (Escobar 2010).

Grafico No 2

Proteínas del VPH



Fuente: Diestro M. , Serrano M. 2007.

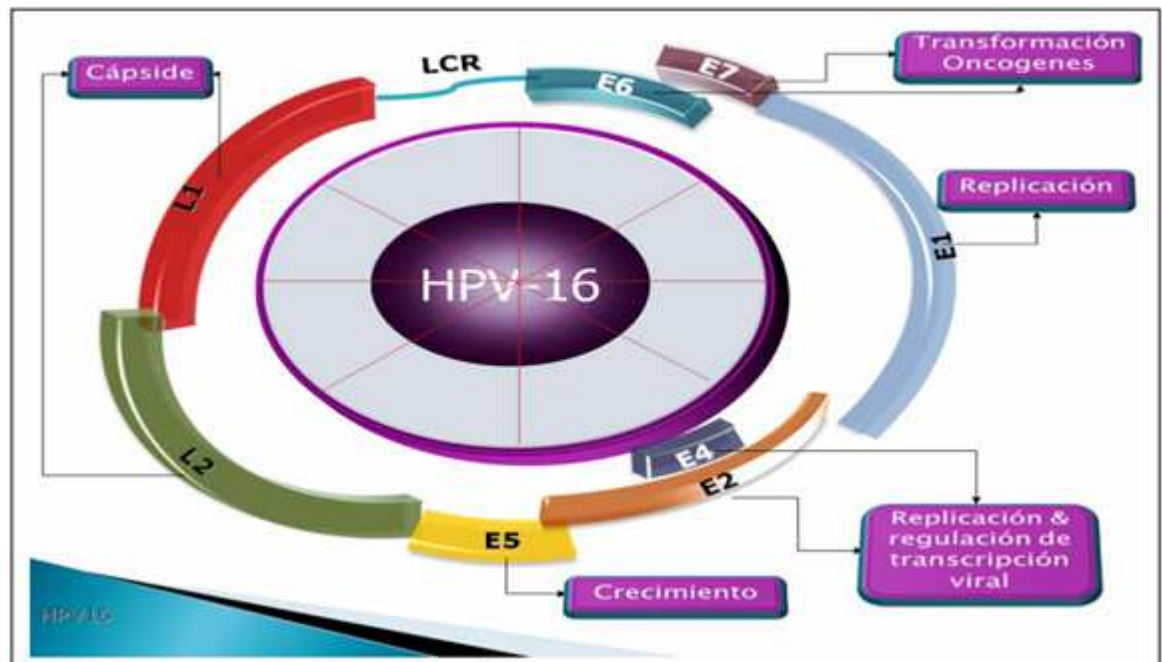
Organización del genoma del virus tipo 16.

En el VPH sus genomas contienen aproximadamente ocho marcos de lectura abierta (en adelante ORF, por su acrónimo en inglés: “Open Reading Frame”, todos transcritos en una cadena única de ADN. El ORF se divide en tres regiones funcionales, la región temprana, desde donde se transcriben las proteínas E (E1 a E7) necesarias para la replicación viral; la región tardía o promotor tardío desde donde se transcriben las proteínas estructurales L (L1 a L2), las cuales son importantes y requeridas para ensamblar el virión; y una región no codificante, conocida como región amplia de control (en adelante LCR, por su acrónimo en inglés: “Long Control Region”), que contiene elementos que son necesarios para la replicación y transcripción del DNA viral. La región temprana, se subdivide en dos regiones, la conformada por los genes E1 y E2 los cuales regulan la replicación y transcripción viral actuando como factores que reconocen el origen de replicación; y la conformada por los genes E5, E6, y E7, que codifican proteínas con alto poder oncogénico. La región temprana codifica proteínas virales no-estructuradas. La proteína E4 parece estar involucrada en las últimas etapas del ciclo de vida del virus y la E5 puede operar en ambas fases, temprana y tardía. E6 y E7 facilitan el mantenimiento estable de los episomas virales y también estimulan la diferenciación de las células, regulando el ciclo celular (Escobar 2010)

La región tardía está conformada por los genes estructurales L1 y L2 los cuales codifican las proteínas que forman la cápside, ambas están viralmente codificadas. L1, con un tamaño aproximado de 55 kDa y ocupando el 80% del total de la proteína viral; y L2, con un tamaño de 70 KDa. Los virus como partículas (en adelante VLP, por su acrónimo en inglés: “Virus LikeParticles”) pueden ser producidos por expresión de L1, sólo o en combinación con L2, en sistemas de expresión como mamífero o no mamífero (López 2006).

Grafico No 3

Genoma de virus de alto riesgo VPH16



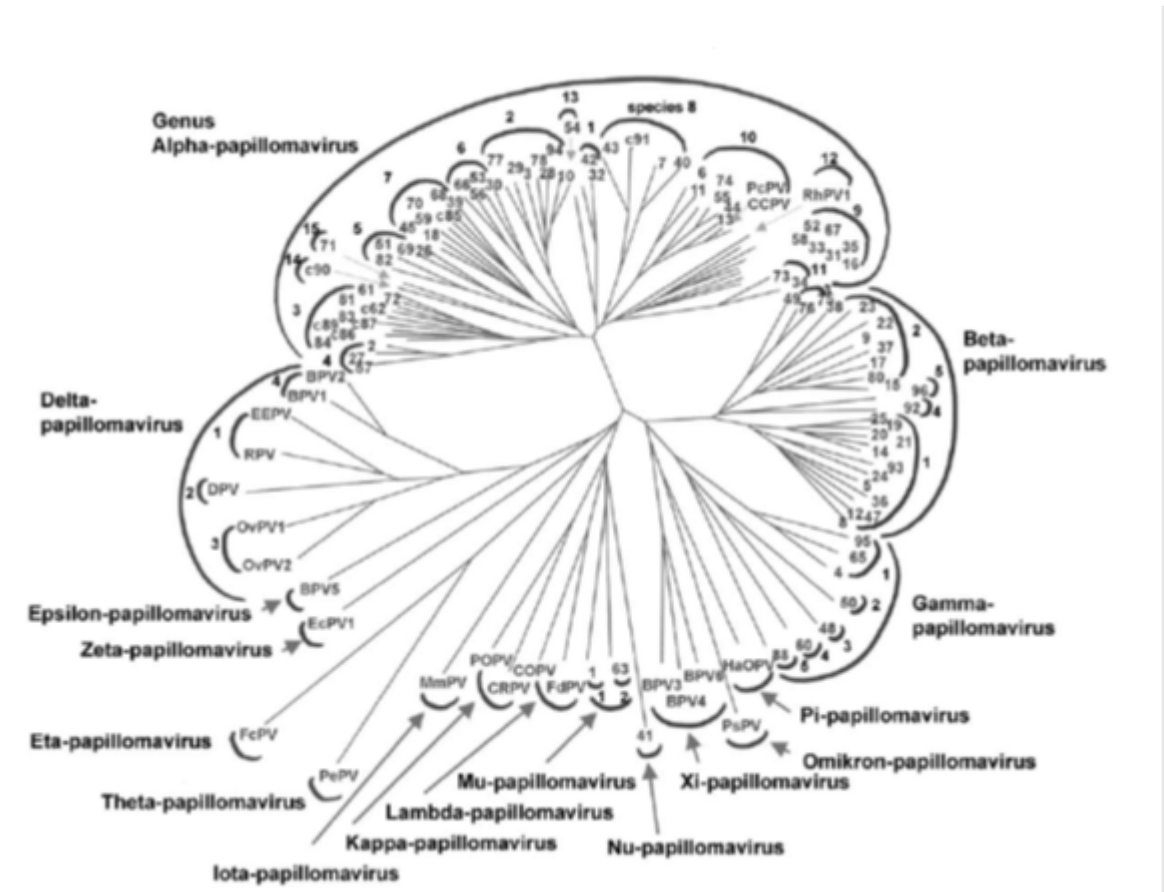
Fuente: Carlos, C 2008.

Árbol filogenético del VPH

El árbol filogenético del virus de papiloma, que se basa en las similitudes genéticas, utilizando las secuencias de ADN del virus, y muestra todos los tipos de virus de papiloma, incluyendo aquellos que infectan a otros animales. Los tipos de VPH que afectan mucosas incluyen a los tipos oncogénicos y pertenecen al alfa-virus del género papiloma (Suarez 2008).

Grafico No 4

Árbol filogenético con secuencias de 118 tipos del virus del papiloma.



Fuente: Ethel M, Claude T, Ulrich B. 2004.

Historia natural del cáncer cérvico uterino

La historia natural del cáncer cérvico uterino implica la progresión gradual de una serie de etapas secuenciales en que las células del cérvix presentan ciertas anomalías histológicas conocidas como Neoplasia Intraepitelial Cervical, NIC I (displasia leve), NIC II (displasia moderada), NIC III (displasia severa/carcinoma in situ) y finalmente un cáncer invasor (Clifford 2006).

La prevalencia global de estas lesiones preinvasoras es de 10 a 15%. Las edades de máxima prevalencia son entre los 15 y 30 años para la NIC I, 30 a 34 años para NIC II, y 35 a 49 para NIC III. La tasa de progresión de la

neoplasia intraepitelial cervical se encuentra entre el 6% y el 34%, explicándole la amplitud de este rango por las condiciones de diferentes países, distintas estrategias de detección precoz en distintas poblaciones, diferentes medios socioculturales y distintos estándares de atención sanitaria. Se considera al NIC I como NIC de bajo grado y a las NIC II y III como de alto grado.

La etiopatogenia de esta enfermedad ha podido ser investigada en forma detallada gracias a avances en biología celular, molecular e inmunología. Estos avances han permitido conocer el rol del virus papiloma humano en el desarrollo de lesiones premalignas y malignas del cuello uterino y han tenido importantes implicancias en la metodología de screening, diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad (Serman 2002).

El VPH y el cáncer

El cáncer de cuello de útero es el resultado de un proceso que inicia con infección del VPH. Existen cuatro pasos que llevan al desarrollo de cáncer cervical: **1.** Transmisión del VPH, **2.** Persistencia viral, **3.** Progresión de células persistentemente infectadas a lesión precancerosa y **4.** Finalmente invasión. El aclaramiento de la infección de VPH y la regresión de las lesiones precancerosas pueden ocurrir con un sistema inmune competente, de hecho la mayoría de infecciones de VPH son aclaradas en 1-2 años, sin embargo una pequeña proporción de hombres y mujeres fallan en controlar la infección viral y desarrollan malignidades relacionadas con el VPH (Ramírez 2014).

Ciclo de vida de VPH

El ciclo de vida de VPH que da lugar a la formación de condilomas o verrugas y lesiones intraepiteliales de bajo grado, posee tres pasos fundamentales que se basan en el establecimiento de la infección en la capa basal expuesta a una serie de microtraumatismos, inducción de proliferación

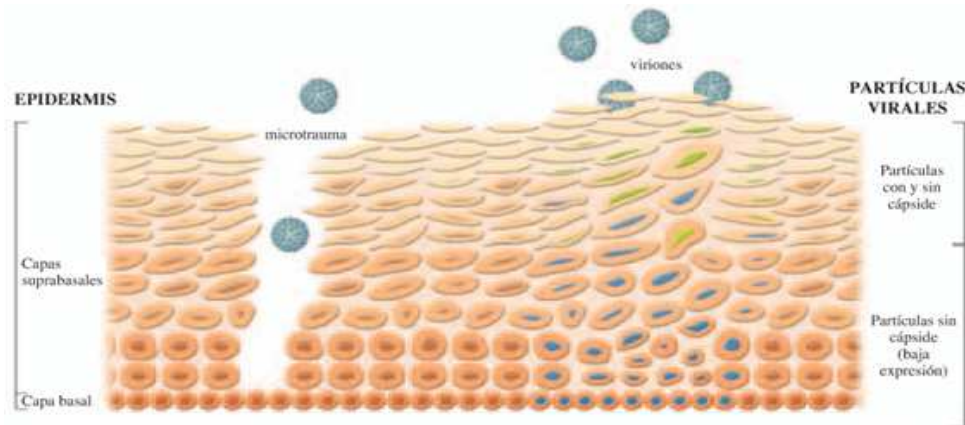
y amplificación del genoma viral en la capa suprabasal, ensamblaje y liberación de partículas virales en la capa granular del epitelio (Reina 2008). Inicialmente, el virus invade las células basales mediante los proteoglicanos de heparán sulfato con ayuda de la integrina $\alpha 6$ y utiliza la capacidad replicativa de esta célula, para replicar el ADN viral que se mantiene en forma de plásmido en el núcleo de la misma. Las proteínas E1 y E2 son esenciales para esta parte del ciclo. Después de esta etapa corta de replicación y a medida que las células se diferencian y migran hacia la superficie del epitelio, el virus induce una proliferación celular masiva de la capa suprabasal que da lugar a amplificación de un gran número de copias del genoma viral y producción de las proteínas de la cápside. En este paso las proteínas E7 y E6 juegan un papel muy importante. E7, se une e inactiva la proteína celular pRb (proteína del retinoblastoma), lo cual permite que se libere y active el factor de transcripción E2F, que induce la producción de las proteínas celulares para estimular la replicación del ADN y proliferación celular de estas células epiteliales que en condiciones normales no proliferan (Reina 2008).

La proliferación inesperada de células epiteliales en estado de diferenciación, induce la expresión de la proteína p53, que bloquea la proliferación celular o induce apoptosis para evitar precisamente la transformación celular.

Sin embargo, la proteína E6, une e inactiva la proteína celular p53 y con esto ayuda a que se establezca y mantenga el estado proliferativo de la infección del virus. Por último, cuando las células epiteliales están completamente diferenciadas, el ADN del VPH ingresa en la cápside viral y las partículas virales maduras son liberadas a medida que se descaman del epitelio (Reina 2008).

Grafico No 5

Acción del virus en el epitelio.



Fuente: Diestro M. 2007.

Factores de riesgo

Los factores que se asocian a la infección viral y están relacionados en gran parte con el comportamiento sexual. Así, la primera relación sexual antes de los 18 años se convierte en un factor de riesgo dado que tienen mayor riesgo de desarrollar una neoplasia debido a que en la unión escamo columnar hay proliferación activa, conllevando a la transformación celular del epitelio columnar en metaplásico y de este a escamoso. La zona escamo-columnar es altamente sensible a la acción carcinogénica de los VPH, y el hecho de infectarse con estos virus en etapas tempranas de la adolescencia, hace que esta zona esté en contacto por un tiempo prolongado con las proteínas oncogénicas de los VPH. Se estima que 74 % de las infecciones nuevas por VPH se producen entre los 15 y los 24 años de edad (Aguilar 2008).

La coinfección con otras enfermedades de transmisión sexual (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, herpes tipo 2) consecuencia de la promiscuidad ocasiona inflamación crónica que interfiere con la respuesta inmunitaria cervical, favorece a adquisición y la persistencia del VPH.

Así, las coinfecciones tienen un efecto patológico sinérgico para la infección y persistencia de VPH (Sotelo 2012).

La promiscuidad sexual refiere que las relaciones sexuales con varias parejas constituyen uno de los principales factores de riesgo para la infección por VPH, de tal manera se puede recalcar que aquellas mujeres con un solo compañero tienen menos riesgo de infección, mientras que las mujeres con más de un compañero sexual presentan mayor riesgo a padecer esta enfermedad (Oviedo 2004).

La multiparidad es otro de los elementos a considerar porque durante el embarazo se produce una depresión inmunológica y de los folatos en la sangre, elementos que se han asociado a un incremento de lesiones intraepiteliales. El efecto de la multiparidad sobre el cuello uterino se basa que este al estar sometido a un mayor número de traumas, desgarros y laceraciones provocados en los partos, podrían facilitar la aparición de lesiones inflamatorias en la unión escamocolumnar que es la zona donde habitualmente se producen los cambios citológicos inducidos por el virus lo que aumenta, la susceptibilidad local a la infección (Rodríguez 2014).

Los factores hormonales pueden actuar como cofactores ya que los AHO pueden provocar un aumento en la incidencia de ectropión cérvico uterino, lo cual va a favorecer a una mayor exposición de la unión escamo-columnar a potenciales agentes carcinogénicos. El estrógeno y la progesterona también podrían afectar directamente las células cérvicouterino, aumentando la proliferación celular y estimulando la actividad transcripcional (transactivación) de los oncogenes E6 y E7 del VPH (Solís 2010).

El papel del hombre en la transmisión de la infección se atribuye al semen ya que al producirse la eyaculación dentro de la vagina, los espermatozoides ascienden a través del canal endocervical y una elevada cantidad de ellos se deposita en los pliegues mucosos de las glándulas cervicales cercanas a la unión escamocolumnar, lugar donde se desarrolla el mayor número de

neoplasias. Además, el plasma seminal contiene componentes inmunosupresores que afectan las funciones de diferentes células del sistema inmune y este efecto local puede constituir un factor que contribuya al desarrollo de neoplasias (Rodríguez 2014).

El hábito de fumar se relaciona directamente con la aparición de lesiones precursoras y de cáncer cervical, se postula que el tabaco induce un efecto inmunosupresor local. Se considera que las fumadoras tienen doble riesgo de lesión intraepitelial con respecto de las no fumadoras. La nicotina, cotinina y otros mutágenos han sido encontradas en el cuello uterino y el moco cervical provocando un efecto tóxico sobre las células del cérvix al igual que ingerir alcohol promueve a la infección por VPH, se conoce que el etanol presente en las bebidas alcohólicas inhibe la producción de la proteína p53 (Ortiz 2004).

Otro hábito como el consumo de drogas ya que la personalidad cambia bajo los efectos de estas sustancias ilícitas, resultando en un comportamiento desinhibido y despreocupado sin percatarse de las posibles consecuencias que podría acarrear este tipo de conductas, entre ellas las prácticas sexuales irresponsables, es decir sin protección, o el abuso sexual que generalmente es sin protección (Chacón 2009).

El estado nutricional puede influir en la progresión de la infección por VPH ya que algunos factores dietéticos pueden relacionarse con la carcinogénesis como son las deficiencias de Folatos, Vitamina B-6 Vitamina B-12 y la Metionina que influye directamente en la metilación del ADN provocando que estos queden inactivos para generar productos proteicos, ya que la ARN polimerasa encargada de la transcripción se une con menor afinidad al ADN metilado del VPH (Cordero 2008).

Las infecciones virales son frecuentes en pacientes con deficiencias inmunológicas que se manifiesta con linfopenia y alteración de la relación entre los linfocitos B y T y la quimiotaxis de los neutrófilos está

disminuida. Estas alteraciones inducen trastornos en la sucesión de los pasos necesarios para que las respuestas inmune celular y humoral sean (Rodríguez 2014).

Otro factor asociado con la aparición y progresión del cáncer son las concentraciones alteradas de glucosa en la sangre ya que se ha demostrado que las células cancerígenas tienen un metabolismo energético diferente respecto de las células sanas. Además, los tejidos cancerígenos tienen incremento en la glicólisis anaeróbica, ruta metabólica que utiliza la glucosa como combustible para obtener ácido láctico (Navarro 2011).

Vacunas para VPH

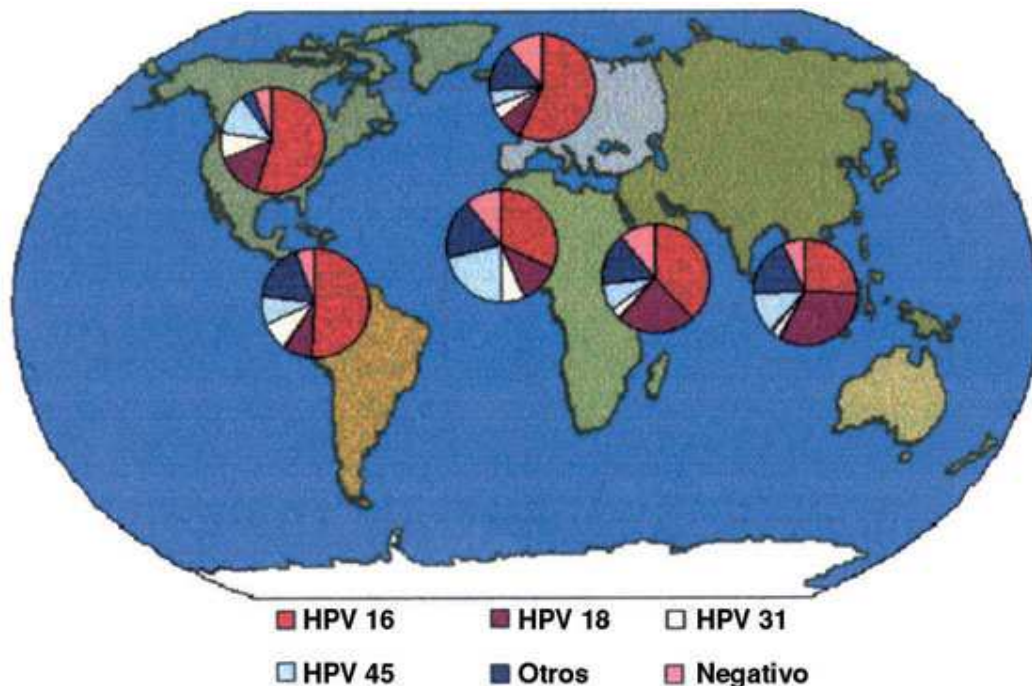
Actualmente se conocen dos vacunas Gardasil® que actúa sobre los genotipos 6, 11, 16 y 18 y Cervarix® que actúa sobre los genotipos 16 y 18 para prevenir la infección de VPH aprobadas por la FDA (Food and Drug Administration). Estas vacunas solo actúan sobre cierto tipos de VPH (Gardasil®: 6, 11, 16 y 18 y Cervarix 16 y 18) razón por la cual no protegen contra todos los genotipos que pudieran causar cáncer de cuello uterino. Siendo recomendable que mujeres que reciban la vacuna sigan realizándose exámenes selectivos de detección de cáncer de cuello uterino (Instituto Nacional del Cáncer 2011).

Datos epidemiológicos

La mayor prevalencia de VPH de alto riesgo oncogénico se encuentra en África y América Latina y son los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 58, 59; siendo el 16 el más frecuente en el mundo, excepto Indonesia y Argelia donde el 18 es más común. El 45 es más frecuente en África Occidental y los tipos 33, 39 y 59 se hallan en Centroamérica y Sudamérica (Rivera 2002).

Grafico No 6

Distribución mundial de tipos de VPH en cáncer cervical invasor



Fuente: Rivera René, Aguilera J, Larraín A. 2002.

El cáncer de cuello uterino es el segundo cáncer más común del mundo en mujeres, después del cáncer de seno, con aproximadamente 490.000 casos nuevos y 270.000 muertes cada año, 85% de las cuales ocurren en países en vías de desarrollo.

En Colombia es la segunda causa de cáncer en la mujer, después del cáncer de mama, y la tasa, ajustada por edad de mortalidad es de 10 muertes por 100.000 mujeres.

Diferentes estudios han permitido demostrar en forma indiscutible una relación causal entre la infección por el virus papiloma humano y el cáncer cérvicouterino, de hecho se ha establecido como causa necesaria para el desarrollo de la enfermedad. Estudios de seguimiento en mujeres que han adquirido el VPH muestran que la mayoría de ellas (80%) han eliminado la infección a los 18 meses. Solo un pequeño porcentaje de infecciones se

manifiesta clínicamente y resulta en lesiones precancerosas, cáncer o lesiones benignas.

El resultado final de una infección por VPH, está determinado por el tipo de VPH, por la respuesta inmune del huésped y por otros cofactores.

La prevalencia es mayor en mujeres menores de 25 años, y disminuye paulatinamente hasta llegar a los niveles más bajos en la cuarta o quinta década. En algunos estudios se ha observado un segundo pico después de la quinta década, que es muy común en la mayoría de los países latinoamericanos (Camacho 2013).

En muestras probabilísticas de diferentes partes del mundo, se aprecian diferentes prevalencias de la infección por VPH en mujeres de la población general, siendo más elevadas en los países de Latinoamérica - Colombia (15%), Chile (14%), Argentina (17%) y Costa Rica (16%) - y África -Nigeria (28%) - que en Asia - Vietnam (11% y 2%) y Tailandia (6%), mostrando los países europeos las prevalencias más bajas - Suecia (7%), y España (3%) (Molano 2002) (De San José 2003).

En otros estudios encontramos que la prevalencia de la infección por VPH en mujeres chilenas (14,0%) es similar a la descrita en otros países de América Latina; en México, 14,5%; Costa Rica, 16,0%; y Colombia, 14,8%, pero más alta que en muchas partes de Europa (2,12%) y Asia (13, 14%) (Ferrecio 2005).

En el Hospital Clínico Regional Valdivia de las 108 muestras cervicales analizadas, el 24% (26/108) fue positiva para infección por VPH y el 76% (82/108) negativas, según la técnica de PCR utilizada en el estudio lo cual permitió estimar una prevalencia de infección por VPH de 24% (26/108) en las mujeres con citología ASCUS. (Lagunas 2004)

En La Plata, Argentina en 718 hisopados y/o biopsias cervicales, el 21.2% fueron muestras normales, 11.6% con atipias de significado incierto (ASCUS), 13.9% con condilomas, 38,9% lesiones intraepiteliales de bajo grado (LGSIL), 11,5% lesiones intraepiteliales de alto grado (HGSIL) y 2,9% carcinomas de células escamosas (SCC) (Abba 2003).

En el Ecuador la prevalecía del cáncer de cuello uterino se ha mantenido sin una reducción significativa durante los últimos 20 años. Según el INEC en el año 2008 se detectaron a nivel nacional 304 casos de muerte por cáncer de cuello uterino. Durante el año 2008 se detectaron 1224 nuevos casos de cáncer de cuello uterino, y desde el año 2005 la incidencia aumentó en un 60% (INEC 2009).

En el Hospital Metropolitano de Quito Ecuador en base al antecedente limitado de estudios en el país sobre genotipo del papiloma virus humano en lesiones ginecológicas, se investigó a 124 de las mujeres, adultas de 18 a 55 años de edad, mestizas (hispanas), que nacieron y viven en Quito. Se encontraron 23 genotipos diferentes 84/104 positivos para VPH (67,7%); 32/124 casos fueron negativos (25,8%); y, en casos de 8/124 (6,5%) no se ha podido determinar la existencia o falta de VPH. El genotipo viral más común fue 6 (8,8%), seguido por el 66 (4,8%) y 16, 31, 44 tipos (2,4% cada uno). Tipos de 11, 34, 35, 54, 59, 62 y 67 mostró una frecuencia equivalente a 1,6% para cada uno. Los tipos restantes mostraron una frecuencia de 0,8%. Los genotipos de alto riesgo más comunes fueron el 16 y 31 y de bajo riesgo el 6. Se encontró muy baja prevalencia de VPH 18 y VPH16 (González 2009).

En el 2006 SOLCA investigó en la ciudad de Cuenca-Ecuador a 70 pacientes con lesiones de cérvix uterino mediante la técnica de PCR. Los resultados mostraron un 55,71% (39 casos) de casos positivos para DNA viral. El rango de edad estuvo comprendido entre los 39-48 años. De los 39 casos, 22 fueron positivos para DNA viral de alto grado (31.43%); para grado intermedio 13 casos (18.57%); y bajo grado 4 (5.71%). En los de alto grado

(31,43%) el tipo 16 fue el de mayor frecuencia. La alta incidencia de VPH de alto riesgo oncogénico sugiere que debe considerarse la determinación del DNA viral como un método complementario en las pacientes con diagnóstico citológico de ASCUS (Picón 2006).

Un posterior estudio a 500 mujeres con vida sexual activa de la Ciudad de Cuenca Ecuador concluyó que la prevalencia del VPH fue del 50,3%, de los cuales el 35,9% correspondió a los genotipos del papiloma virus de alto grado oncogénico y el 14,3% para los de bajo grado. La prevalencia de las alteraciones citológicas fue del 16%. Estas prevalencias fueron más frecuentes en los grupos de 30 a 39 años y 40 a 50 años (Cárdenas 2014).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Determinar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus de alto y bajo grado oncogénico humano, en muestras cérvico uterinas de mujeres con vida sexual activa que residen en los cantones El Pan, Guachapala, Nabón, Oña, Sevilla de Oro y Sigsig de la provincia del Azuay, utilizando el método de la PCR; relacionarlos con las lesiones intraepiteliales, detectadas mediante el estudio citopatológico (Papanicolaou), y con los factores de riesgo para las lesiones pre malignas y malignas de cuello uterino 2013-2014.

4.2. Objetivos Específicos

1. Detectar y tipificar al Papiloma Virus Humano de alto y bajo grado oncogénico, en muestras cérvico uterinas de mujeres con vida sexual activa en 6 cantones de la provincia del Azuay según la técnica de la PCR. Genotipos de alto riesgo: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82 y genotipos de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70; y correlacionarlos con las lesiones intraepiteliales detectadas mediante estudio citopatológico (Papanicolaou).
2. Determinar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus de alto y bajo grado oncogénico humano de acuerdo a grupos de edad de las mujeres investigadas.
3. Correlacionar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus de alto y bajo grado oncogénico humano con los genotipos presentes en las dos vacunas existentes en el mercado local.
4. Correlacionar los genotipos del VPH con los factores de riesgo para las lesiones pre malignas y malignas del cuello uterino.

5. METODOLOGÍA

5.1. Tipo y diseño general del estudio

Considerando que esta propuesta formo parte de un proyecto de investigación financiado por la DIUC, que se realizó en los 14 cantones de la provincia del Azuay, tuvimos que sujetarnos a los aspectos metodológicos del proyecto. A continuación describiremos los elementos metodológicos adaptados al formato de protocolo establecido por la Comisión de Asesoría de Trabajos de Investigación (CATI), teniendo en cuenta que lo único que vario fue el tamaño de la muestra.

Se realizó un estudio epidemiológico, observacional, de tipo transversal.

5.2. Universo y muestra

El universo para el proyecto en su conjunto, constituyen 53.102 mujeres en etapa reproductiva que residen en las zonas urbanas de los 14 cantones de la provincia del Azuay. Para nuestro estudio se consideró la población femenina seis de los catorce catones: El Pan, Guachapala, Nabón, Oña, Sevilla de Oro y Sigsig.

La muestra para el proyecto en general, se calculó teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

Población de mujeres de 17 a 50 años de los 14 cantones: 53.102

Prevalencia: 10%

Nivel de confianza: 95%

Precisión: 5%

La muestra global mínima calculada fue de 371 mujeres en edad reproductiva. Los investigadores resolvieron realizar el estudio 500 mujeres para los 14 cantones, teniendo en cuenta los factores de riesgo asociados.

El tamaño de la muestra distribuido para los seis cantones fue el siguiente:

- Sigsig:	69 personas
- Nabón:	39
- Sevilla de oro:	14
- Oña:	9
- Guachapala:	8
- <u>El pan:</u>	<u>7</u>
Total:	146

La población que se estudió representó una muestra probabilística estratificada, en virtud de que, para la selección de las mujeres, se consideró, en primer lugar, una selección aleatoria de sectores del área urbana de los mencionados cantones; en segundo lugar, se aleatorizaron las manzanas y viviendas; en tercer lugar a las mujeres en edad reproductiva de cada vivienda. Cuando las mujeres seleccionadas al azar no estaban presentes, no podían participar por las razones expuestas en los instructivos, o simplemente no deseaban participar, se procedió a seleccionar a la mujer de la siguiente vivienda, en el sentido de las manecillas del reloj; esto, según los instructivos que constan en el protocolo.

5.3. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión. Fueron incluidas en el estudio las mujeres que cumplieron con los siguientes criterios:

- Mujeres que fueron designadas por aleatorización, que residían en la zona urbana de uno de los 6 cantones de la provincia del Azuay,
- Con edades comprendidas entre los 17 a 50 años.
- Que ya hayan tenido relaciones sexuales.
- De cualquier condición social y étnica.

- Que expresaron su deseo de participar en la investigación y que firmaron reflexivamente el consentimiento informado.

Criterios de exclusión. Fueron excluidas del estudio aquellas mujeres que presentaron las siguientes condiciones:

- Estar embarazada.
- Que se encontraban menstruando, presentaban hemorragia uterina o que su condición de salud no permitiera una exploración ginecológica para la toma de muestra cérvico uterina.
- Aquellas que se negaron a participar en la investigación.

5.4. Variables del estudio

Para el estudio se consideraron como variables independientes a los factores de riesgo para infección por VPH, tales como: inicio de las relaciones sexuales, años de vida sexual, número de compañeros sexuales, pareja masculina con varias parejas, número de partos, ingesta prolongada de anticonceptivos hormonales, exceso de peso u obesidad.

Entre las variables dependientes se incluyeron: el Virus del Papiloma Humano en cérvix uterino, sus genotipos diagnosticados a través de la prueba PCR en tiempo real y el estado del cuello uterino detectadas mediante Papanicolaou.

Como variables de control se consideraron aquellas que forman parte de las características sociodemográficas como el lugar de residencia, edad, estado civil, ingreso mensual personal y en pareja y nivel educativo.

La operacionalización de las variables consta en anexos.

5.5. Métodos, técnicas y procedimientos

5.5.1 Selección de las mujeres

Para la aleatorización se utilizó como referentes los planos del centro urbano de los cantones en los que constan los sectores y dentro de ellos las manzanas y viviendas.

El número de mujeres seleccionadas fue proporcional a la población femenina de cada uno de los cantones de ese grupo etario. Para esto nos basamos en los datos que se disponen y pertenecen al último censo nacional del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), del año 2010.

Para motivar la participación de las mujeres designadas, se realizó previamente una campaña de información sobre el cáncer cérvico uterino, su relación con la infección por el papiloma virus y la necesidad de que acudan al control médico para que se realicen el examen de Papanicolaou y de la PCR, para la detección oportuna del cáncer y la detección temprana del VPH. Esta promoción se realizó por los órganos de difusión colectiva del cantón, emisoras, prensa escrita y en el hospital o centro de salud cantonal respectivo.

Se identificó en cada domicilio a la persona designada por aleatorización para ser investigada.

Para ingresar al estudio la mujer debía cumplir con los criterios de inclusión, en caso de negarse se elegía a otra mujer que habite en la misma vivienda o en otro departamento de la misma casa; cuando no fue posible contar con la participación de las mujeres de la vivienda aleatorizada o en casos de terrenos baldíos o propiedades no habitadas se procedió a seguir con la vivienda continua en el sentido de las manecillas del reloj.

Para lograr la participación de las mujeres aleatorizadas se desarrolló una estrategia que consistió en una visita por parte de los autores de este estudio para brindarle información sobre los objetivos de la investigación, las condiciones de su participación, los beneficios personales y sociales de la misma; luego del diálogo y una vez establecido el compromiso de participación, se entregó una cita para la consulta ginecológica y la toma de la muestra cérvico uterina en las entidades de salud mencionadas, en esa cita se especificó el día y la hora para la atención.

En el momento en el que la paciente acudió a la toma de la muestra se procedió a obtener la firma en el consentimiento informado y la entrega de las papeletas de pedido Biología Molecular y Citopatología (Ver anexo 2).

Todas estas acciones fueron supervisadas por el Director e investigadores del proyecto.

La Dirección Provincial de Salud del Azuay designó, para cada cantón, a un ginecólogo o médico para que realice la toma de las muestras cérvico-uterinas, quienes además procedieron a receptar la información, de acuerdo con el formulario diseñado para la encuesta de la investigación, en el formulario constan las preguntas relacionadas con las variables del estudio.

Los resultados, tanto de los exámenes citológicos como de detección de los genotipos del VPH fueron entregados a las mujeres a través de los profesionales de la salud con quienes consultan. Para los casos en los cuales los resultados de los exámenes antes mencionados resultaron positivos, se dialogó con el personal médico para que se proceda de acuerdo con las Normas y Protocolos del Ministerio de Salud Pública. Los procedimientos para la referencia y contrareferencia, constan en la misma hoja de consentimiento informado que la mujer investigada firmó.

5.5.2 Procedimientos y Técnicas

Los exámenes selectivos de detección de cáncer de cérvix o cuello uterino incluyeron la prueba de Papanicolaou y la prueba de detección del virus del papiloma humano, por medio de PCR en tiempo real.

El ginecólogo o médico designado realizó la toma de células cervicales, para lo cual utilizó la siguiente técnica:

Aplicación de un espéculo vaginal estéril para visualizar el cuello uterino. En casos excepcionales de retiró el exceso de mucosidad del orificio externo del cuello uterino y de los alrededores del exocérnix con una torunda de algodón o de dacrón. Se desechó la torunda que sirvió para la limpieza, cumpliendo con los protocolos de bioseguridad. Luego se continuó con los siguientes pasos:

Paso 1. Introducción del cepillo (citobrush) en el endocérnix entre 1 y 1,5 cm desde el orificio externo del cuello uterino hasta que las cerdas exteriores más cortas del cepillo toquen el exocérnix. Hacer girar el cepillo tres veces por completo en sentido contrario a las agujas del reloj. No introduciendo completamente el cepillo en el canal cervical. Terminado el procedimiento se retiró el cepillo del canal cervical evitando que las cerdas toquen la parte exterior del tubo o cualquier otro objeto.

Paso 2. Introducción de la punta del cepillo en el fondo del tubo de transporte. Se partió el bastoncillo en la marca del borde, de tal manera que el cepillo quede dentro del tubo. Se procedió a tapar el tubo de transporte, ajustando hasta que se escuche un chasquido.

Paso 3. Para el examen citopatológico se tomó una muestra con espátula de Ayre y cito brush y se extendió en una placa, la cual fue fijada para su preservación.

Luego se transportó el vial o tubo, al terminar la obtención de las muestras hasta el laboratorio de biología molecular de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. El envase fue trasladado al laboratorio, con una temperatura de entre 15° a 30°C, que es la habitual en la provincia del Azuay, y que corresponde a la recomendación del vial utilizado. La placa para el estudio de Papanicolaou se transportó conjuntamente con el vial.

5.5.3 Identificación del genotipo del VPH

La detección y tipificación del Papiloma Virus Humano de alto y bajo riesgo oncogénico, en las muestras mencionadas, se realizó en el laboratorio de biología molecular del Centro de Postgrado de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca, que cuenta con la infraestructura necesaria para la aplicación de la PCR en tiempo real.

El personal de los laboratorios de Citología y Biología Molecular, conjuntamente con los estudiantes investigadores fuimos los encargados de realizar los exámenes mencionados.

HPV28 Anyplex™ II es un ensayo in vitro cualitativo para la detección de los virus del papiloma en citología de base líquida y muestras de frotis cervicales.

La detección de HPV28 Anyplex™ II consta de dos reacciones de PCR (A set y set B). Es un ensayo múltiple que permite la amplificación simultánea de ADN de alto riesgo y virus del papiloma humano de bajo riesgo.

VPH28 Anyplex™ II es una tecnología patentada de Seegene y se basa en una tecnología TOCETM que hace posible la detección de múltiples patógenos en un solo canal de fluorescencia.

La detección es un ensayo de PCR multiplex en tiempo real que permite la amplificación simultánea, detección y diferenciación de ácidos nucleicos de

19 tipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82) y 9 tipos de bajo riesgo del VPH (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70), así como de control interno (CI).

5.5.4 Procedimiento

Para el aislamiento de los ácidos nucleicos (DNA Mini Kit QIAGEN) se cumplió con los siguientes procedimientos:

- 200 ul de muestra + 20 ul de proteinasa + 200 ul de tampón AL
 - Vórtex durante 15 segundos y luego incubar 56 °C durante 10 minutos
 - Añadir 200 l de etanol
 - Vórtex durante 15 segundos
- Aplicar todo el lisado en la columna y centrifugar 8000 rpm durante 1 min
- Colocar la columna en un tubo de recogida de 2 ml limpio
 - Añadir 500 l de tampón AW1 y centrifugar 8000 rpm durante 1 min
 - Colocar la columna en un tubo de recogida de 2 ml limpio
 - Añadir 500 l de tampón AW2 y centrifugar 14.000 rpm durante 3 min

Para la realización del PCR en tiempo real, realizamos:

Preparación de PCR Mastermix para cada diferente número de reacciones.

- Colocar alícuotas de 15 ul de la PCR Mastermix en 0,2 ml de perfil bajo, blancas 8 tubos por tira.
- Añadir 5 ul de ácido nucleico de cada muestra para PCR Mastermix
- Para evitar las burbujas de aire, se mezclan todos los reactivos con cuidado.
- Iniciar inmediatamente la PCR utilizando el siguiente programa.

La Configuración del equipo de PCR en tiempo real consistió en:

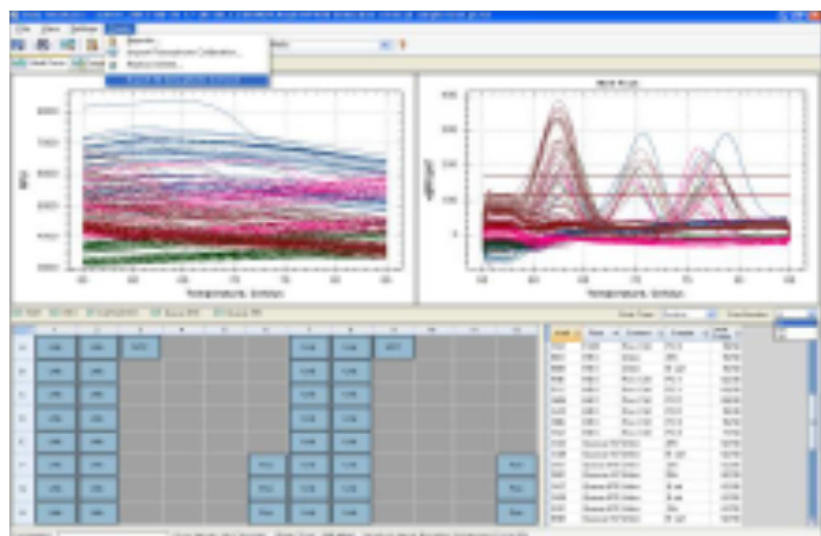
1. Pre-configuración de Análisis de Datos

Dorys Karina Galarza Banegas
Mercedes Catalina Torres Calle
José Stalin Ortiz Mejía

2. Crear carpeta especificada para guardar los datos.
3. Exportar todos los datos de las hojas de datos a Excel desde el menú Herramientas.
4. Guardar el resultado en la carpeta designada "1".

Grafico No 7

Resultado de pico de fusión



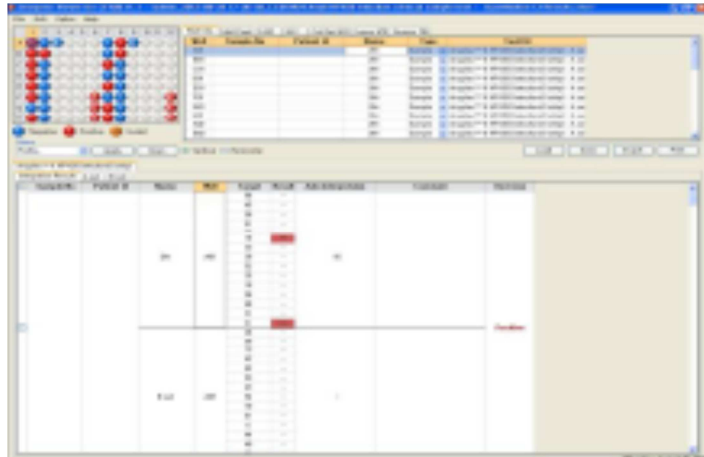
Fuente: Seegene AnyplexTM II HPV28 Detection.2014

Pre-configuración de Análisis de Datos

- Abra el programa Seegene Viewer en la pantalla.
- Clic en Abrir para encontrar el archivo guardado en la carpeta designada "1".
- Aplicación de Seegene Visor Arrastre los pocillos de muestra.
- Clic en la columna de menú y seleccione AnyplexTM II Detección de HPV28.
- Clic en Aplicar.
- Compruebe el resultado para cada pozo.

Grafico No 7

Resultado de la prueba CFX96TM en Seegene Visor.



Fuente: Seegene AnyplexTM II HPV28 Detection.2014

5.6. Análisis estadístico

Tanto los datos registrados en el formulario general como en los de los exámenes de laboratorio, fueron introducidos en una base de datos del Excel 2010, para ello se contó con la colaboración de un especialista en bioestadística.

Para el análisis descriptivo de las variables de control se utilizó frecuencias y porcentajes.

Se realizó un análisis cruzado de porcentajes entre el tipo de lesión cérvico uterina con la presencia de VPH de alto o bajo riesgo, para ver en qué grupo el porcentaje es mayor.

Para determinar la prevalencia del HPV y los diferentes genotipos, se dividió el número de muestras positivas para el total de muestras analizadas y multiplicamos por cien. Con el propósito de conocer la prevalencia de VPH y los diferentes genotipos en los grupos de edad, se realizó un análisis

cruzado de porcentajes. Para valorar la asociación de los genotipos con los factores de riesgo, se utilizó el Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza al 95%.

5.7. Aspectos éticos

Esta investigación (refiriéndonos al proyecto en su conjunto), se realizó aplicando los principios de la Declaración de Helsinki y a las leyes y reglamentos del país, que confiere mayor protección al individuo. Se consideraron los principios señalados en la Guía para la Buena Práctica Clínica y Lineamiento Tripartita de la ICH. Se procedió a conseguir el visto bueno del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca para la realización de la investigación, se aplicó un documento para la firma del Consentimiento Informado y los resultados obtenidos fueron utilizados con extrema confidencialidad precautelando los derechos de las pacientes.

6. RESULTADOS

6.1. Características demográficas y socioeconómicas de las mujeres participantes

Tabla No 1.
Características demográficas y socioeconómicas de 146 mujeres de seis cantones de la provincia del Azuay, 2013 – 2014.

Cantón de residencia	No	%
Sigsig	69	47,26
Guachapala	8	5,48
Nabón	39	26,71
Oña	9	6,16
El Pan	7	4,79
Sevilla de Oro	14	9,59
Edad		
20 – 29	44	30,14
30 – 39	46	31,51
40 – 50	56	38,36
Estado civil		
Soltera	24	16,44
Casada	94	64,38
Divorciada	2	1,37
Viuda	3	2,05
Unión libre	23	15,75
Ingreso mensual personal		
< 340	109	74,66
340 – 680	24	16,44
> 680	13	8,90
Ingreso mensual pareja		
< 340	83	56,85
340 – 680	41	28,08
> 680	22	15,07
Educación		
Ninguna	1	0,68
Primaria	55	37,67
Secundaria	69	47,26
Superior	21	14,38

Fuente: Base de datos
Elaboración: los autores

Todas las 146 mujeres entrevistadas, que fueron seleccionadas de manera aleatoria, respondieron las preguntas del formulario, luego de la firma del consentimiento informado.

En virtud del tamaño de la población y de la muestra calculada, cerca de la mitad de las mujeres (47%) fueron encuestadas en el cantón Sigsig, le siguen las que viven en Nabón (26%), Sevilla de Oro (9%), Oña (6%), Guachapala (5%) y El Pan (4%). El grupo de mujeres mayores de 40 años de edad fueron las que más participaron (38%), en menor porcentaje están las de 30 a 39 años (31%) y con no mucha diferencia las menores de 30 años (30%). Seis de cada diez mujeres son casadas, el 16% solteras, en porcentaje similar viven en unión libre (15%) y muy pocas son viudas (2%) y divorciadas (1%). La mayoría de las mujeres entrevistadas tienen muy bajos ingresos, esto es menos de un salario básico, tanto personal (74%) como en pareja (56%); entre uno y dos salarios básicos gana individualmente el 16%; y en pareja 28%; más de dos salarios mínimos alcanzan a nivel personal el 8% y en pareja el 15%. Cerca de la mitad de las participantes han alcanzado el segundo nivel de estudios formales; algo más de la tercera parte, la primaria; una de cada siete posee estudios superiores; y, muy pocas son analfabetas (ver tabla 1).

6.2. Genotipos de VPH identificados y su relación con las lesiones del cuello uterino

Genotipo de VPH de alto y bajo riesgo según tipo de lesión cérvico uterina en mujeres con vida sexual activa de seis cantones de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Tipo de lesión	VPH alto riesgo		VPH bajo riesgo		VPH negativo		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%
Inflamatoria- Infecciosa	25	96,15	11	84,62	98	91,59	134	91,78
ASC-US y LIE de bajo grado	1	3,85	2	15,38	9	8,41	12	8,22
Total	26	100,00	13	100,00	107	100,00	146	100,00

Fuente: Base de datos

Elaboración: los autores

En la tabla 2 podemos apreciar que 9 de cada diez mujeres presentan lesiones inflamatorias e infecciosas y el 8,22% ASC-US y LIE de bajo grado. Las mujeres con VPH de alto riesgo oncogénico presentan un mayor porcentaje (96%) de lesiones inflamatorias e infecciosas, con respecto a las que tienen VPH de bajo riesgo (84%) y las que reportan examen de VPH negativo (91%). En tanto que las mujeres con VPH de bajo riesgo presentan casi el doble de ASC-US y LIE de bajo grado que aquellas con examen negativo y casi cinco veces más que las que tienen VPH de alto riesgo (ver tabla 2).

6.3. Prevalencia de genotipos de VPH

Tabla No 2.

Prevalencia de genotipos del VPH en mujeres con vida sexual activa de seis cantones de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

VPH positivo	No	%
Si	39	26,71
No	107	73,29
Genotipo de VPH		
16	2	1,37
18	0	0,00
26	0	0,00
31	1	0,68
33	1	0,68
35	0	0,00
39	5	3,42
45	3	2,05
51	0	0,00
52	2	1,37
53	4	2,74
56	0	0,00
58	2	1,37
59	4	2,74
66	2	1,37
68	3	2,05
69	1	0,68
73	1	0,68
82	0	0,00
6*	1	0,68
11*	0	0,00
40*	0	0,00
42*	7	4,79
43*	1	0,68
44*	1	0,68
54*	4	2,74
61*	3	2,05
70*	1	0,68

*Genotipos de bajo riesgo oncogénico

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

De acuerdo con los datos expuestos en la tabla 3, la prevalencia del VPH encontrada en los seis cantones, Sigsig, Guachapala, Nabón, Oña, El Pan y Sevilla de Oro fue de 26,71%.

En cuanto a los genotipos de alto riesgo oncogénico encontrados, en orden de prevalencia, están: el 39 (3,42%), 53 y 59 (2,74%), 45 y 68 (2,05%), 16,

52, 58, 66 (1,37%), 31, 33, 69 y 73 (0,68%). Los genotipos de bajo riesgo oncogénico identificados, así mismo en orden de prevalencia, fueron: el 42 (4,79%), 54 (2,74%), 61 (2,05%), 6, 43, 44 y 70 (0,68%).

6.4. Genotipos del VPH y edad de las mujeres

La prevalencia del VPH encontrada según grupos de edad y por orden de magnitud, tenemos en primer lugar, 30% en el grupo de 30 a 39 años; en segundo lugar 27% en el de 20 a 29 años; y en tercer lugar 23% en el de 40 años y más (ver tabla 4).

Tabla No 3.

Prevalencia de VPH por grupos de edad, en mujeres con vida sexual activa de seis cantones de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Grupos de edad	20 – 29		30 - 39		40 y más	
	No	%	No	%	No	%
Si	12	27,27	14	30,43	13	23,21
No	32	72,73	32	69,57	43	76,79
Total	44	100,00	46	100,00	56	100,00

Fuente: Base de datos
Elaboración: los autores

Al analizar la distribución de los porcentajes de los diferentes tipos del VPH por grupos de edad, tenemos que los genotipos de alto grado oncogénico 16, 31 y 33 están presentes únicamente en las mujeres de entre 20 a 29 años de edad. Los genotipos 39, 45, 52 y 53 se encontraron en los grupos etarios de 30 a 39 y en las de 40 años y más. Los genotipos 58, 66 y 68 están presentes en los grupos de 20 a 29 y en las de 30 a 39 años. El genotipo 59 fue identificado en los tres grupos etarios. El genotipo 69 fue hallado en el grupo de 40 años y más. El genotipo 73 está presente únicamente en el grupo de 30 a 39 años (ver tabla 5).

Tabla No 4.
Prevalencia de genotipos de VPH por grupos de edad, en mujeres con vida sexual activa de seis cantones de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Grupos de edad	20 – 29		30 - 39		40 y más		Total	
Genotipo	No	%	No	%	No	%	No	%
16	2	4,55	0	0,00	0	0,00	2	1,37
18	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
26	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
31	1	2,27	0	0,00	0	0,00	1	0,68
33	1	2,27	0	0,00	0	0,00	1	0,68
35	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
39	0	0,00	2	4,35	3	5,36	5	3,42
45	0	0,00	2	4,35	1	1,79	3	2,05
51	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
52	0	0,00	1	2,17	1	1,79	2	1,37
53	0	0,00	3	6,52	1	1,79	4	2,74
56	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
58	1	2,27	1	2,17	0	0,00	2	1,37
59	1	2,27	1	2,17	2	3,57	4	2,74
66	1	2,27	1	2,17	0	0,00	2	1,37
68	2	4,55	1	2,17	0	0,00	3	2,05
69	0	0,00	0	0,00	1	1,79	1	0,68
73	0	0,00	1	2,17	0	0,00	1	0,68
82	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
6*	0	0,00	0	0,00	1	1,79	1	0,68
11*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
40*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
42*	1	2,27	2	4,35	4	7,14	7	4,79
43*	0	0,00	0	0,00	1	1,79	1	0,68
44*	0	0,00	0	0,00	1	1,79	1	0,68
54*	2	4,55	1	2,17	1	1,79	4	2,74
61*	2	4,55	1	2,17	0	0,00	3	2,05
70*	0	0,00	1	2,17	0	0,00	1	0,68
Ninguno	30	68,18	28	60,87	39	69,64	97	66,44
Total	44	100	46	100	56	100	146	100

*Genotipos de bajo riesgo oncogénico

Fuente: Base de datos

Elaboración: los autores

Los genotipos de bajo grado oncogénico que se encontraron fueron: el 6, 43 y 44 en el grupo de 40 años y más; el 42 y el 54 en los tres grupos de edad; el 61 en los grupos de 20 a 29 y de 30 a 39 años de edad. No se puede afirmar que existen diferencias significativas debido al escaso tamaño de la muestra para realizar este análisis (ver tabla 5). Los genotipos que se

encontraron en mayor porcentaje están el 42 (4,79%) y el 39 (3,42%), le siguen el 53 (2,74%), 59 (2,74%), 54 (2,74%), 45 (2,05%), 68 (2,05%) y 61 (2,05%); y con menos de 2% están el 16, 52, 58, 66, 31, 33, 69, 73, 6, 43, 44 y 70 (ver tabla 5).

6.5. Factores asociados al VPH

Tabla No 5.

Factores de riesgo asociados con VPH en mujeres con vida sexual activa de seis cantones de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Factores de riesgo	Con VPH		Sin VPH		OR	IC 95%	
Edad primera rel sexual	No	%	No	%			
< 20	29	30,21	67	69,79	1,73	0,76	3,90
20 - 25	8	18,60	35	81,40	0,53	0,22	1,27
> 25	2	28,57	5	71,43	1,10	0,20	5,93
Años de vida sexual							
< 5	1	12,50	7	87,50	0,37	0,04	3,10
5 - 10	11	27,50	29	72,50	1,05	0,46	2,39
> 10	27	27,55	71	72,45	1,14	0,51	2,51
Número comp sexuales							
1	27	23,89	86	76,11	0,54	0,23	1,26
2	7	29,17	17	70,83	1,15	0,43	3,04
3	5	62,50	3	37,50	5,09	1,15	22,45
> 3	0	0,00	1	100,00	-	-	-
Pareja masculina con varias parejas sexuales							
Si	7	46,67	8	53,33	2,70	0,91	8,05
No	28	28,00	72	72,00	1,23	0,55	2,77
No sabe	4	12,90	27	87,10	0,33	0,11	1,04
Número de embarazos							
0	5	16,13	26	83,87	0,45	0,16	1,29
1	8	26,67	22	73,33	0,99	0,40	2,47
2	12	34,29	23	65,71	1,62	0,71	3,69
3 y más	14	28,00	36	72,00	1,10	0,51	2,37
Anticonceptivos hormonales							
Si	11	22,92	37	77,08	0,74	0,33	1,65
No	28	28,57	70	71,43	1,34	0,60	3,00
Exceso de peso/obesidad (IMC 25 y +)							
Si	30	27,03	81	72,97	1,06	0,45	2,54
No	9	25,71	26	74,29	0,93	0,39	2,22

Fuente: Base de datos

Elaboración: los autores

Dorys Karina Galarza Banegas
Mercedes Catalina Torres Calle
José Stalin Ortiz Mejía

De acuerdo con los datos de la tabla 6, las mujeres que han iniciado su vida sexual antes de los 20 años, tienen el 73% más de probabilidad de infección por VPH que las mujeres de los otros grupos de edad, pero la asociación no es estadísticamente significativa (OR 1,73; IC 95% 0,76 – 3,90)

Las mujeres con más de 10 años de vida sexual presentan un 14% más de probabilidad de infectarse con VPH con respecto a las que tienen menos de 10 años, pero tampoco dicha probabilidad es significativa (OR 1,14; IC95% 0,51 – 2,51).

Cuando analizamos el número de compañeros sexuales, los datos nos muestran que las mujeres con tres compañeros sexuales tienen cinco veces más probabilidad de tener VPH que el resto de mujeres con 1, 2 o más de 3 parejas sexuales, siendo esta asociación estadísticamente significativa (OR 5,09; IC 95% 1,15 - 22,45).

Las mujeres que tuvieron parejas masculinas con muchas compañeras sexuales, tienen casi tres veces más probabilidad de infectarse con VPH con respecto a las que no tiene este tipo de parejas, pero esta asociación no es estadísticamente significativo (OR 2,70; IC 95% 0,91 – 8,05)

Las mujeres que han tenido dos embarazos presentan un 60% más de probabilidad de infectarse con VHP, con respecto a aquellas que no han tenido hijos y también con aquellas que han tenido un solo hijo, ó tres y más hijos; pero esta asociación no es estadísticamente significativa (OR 1,62; IC 95% 0,71 – 3,69).

Las mujeres que ingieren anticonceptivos hormonales presentan un 26% menos de probabilidad de infectarse con VPH, pero esta asociación no es significativa (OR 0,74; IC 95% 0,33 – 1,65).

En cuanto al estado nutricional, tenemos que las participantes con exceso de peso y obesidad tienen un 6% más de probabilidad de infectarse con HPV

en relación con las mujeres que no presentan este problema, pero esta probabilidad no es significativa (OR 1,06; IC 95% 0,45 - 2,54).

6.6. Genotipos del VPH encontrados en la población estudiada y genotipos presentes en las vacunas utilizadas en el Ecuador

El Ministerio de Salud Pública, como parte de la estrategia nacional de salud para la prevención del cáncer uterino, mediante el Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI), ha adquirido 1,4 millones dosis de vacunas para ser administradas a la población femenina de 9, 10 y 11 años que acuden a escuelas públicas y privadas, a partir del mes de mayo de 2014, con el propósito de reducir la incidencia y mortalidad por cáncer cérvico-uterino en las mujeres. Esta campaña se ha emprendido seguramente sobre la base de estudios realizados en otros países, pero ahora, con los resultados de investigaciones actualizadas como la nuestra, el MSP se preocupará de adquirir las vacunas de acuerdo con los genotipos encontrados en la población.

Las vacunas disponibles en el mercado son: GARDASIL (Merck Sharp & Dome) y CERVARIX (GlaxoSmithKline). La primera sirve para prevenir cáncer producido por 4 tipos de VPH (6, 11, 16, 18) y la segunda, por dos tipos (16 y 18); pero según el presente estudio, no son dichos virus los más frecuentes, así la prevalencia encontrada fue de 1,37% para el genotipo 16 y 0,68% para el genotipo 6; los genotipos 18 y 11 no fueron detectados en la población estudiada.

7. DISCUSION

En esta investigación participaron mujeres con vida sexual activa, mayores de 20 años de edad, en su mayoría casadas, con deficientes ingresos mensuales y bajos nivel educativo, que residen en los cantones Sigüig, Guachapala, Nabón, Oña, El Pan y Sevilla de Oro, de la provincia del Azuay. Según la literatura revisada, la mayoría de investigaciones realizadas en el Ecuador en su mayoría han sido efectuadas en los hospitales de SOLCA (García 2006; Picón 2006; SOLCA Núcleo de Cuenca 2007; Brown 2009), en otros servicios de salud (González 2009; Vivar 2013; Bedoya 2013) y muy pocos en mujeres de poblaciones abiertas y de manera aleatorizada (Cárdenas 20014), como el nuestro. Precisamos esta situación con el propósito de anticipar que los datos referenciales no siempre serán con muestras de población, sino con mujeres atendidas en los servicios de salud.

En cuanto a la prevalencia del VPH, en nuestro estudio el valor encontrado fue de 26,71%, resulta más alto que los resultados reportados en investigaciones realizadas en poblaciones similares de otros países de América Latina como Chile (14%), Colombia (15%), Argentina (17%) y Costa Rica (16%), así como de otros continentes como Vietnam (11% y 2%), Tailandia (6%), Suecia (7%), y España (3%); pero es menor que la prevalencia encontrada en algunos países de África como Nigeria (28%) (Molano 2002; De Sanjosé 2003).

Entre los genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico que identificamos en las mujeres residentes en los seis cantones están: el 39, 53, 59, 45, 68, 16, 52, 58, 66, 31, 33, 69 y 73. Los genotipos de bajo riesgo oncogénico encontrados fueron: el 42, 54, 61, 6, 43, 44 y 70. En orden de prevalencia, todos los genotipos que se encontraron están: el 42 (4,79%) y el 39 (3,42%), le siguen el 53 (2,74%), 59 (2,74%), 54 (2,74%), 45 (2,05%), 68 (2,05%) y 61 (2,05%); y con menos de 2% el 16, 52, 58, 66, 31, 33, 69, 73, 6, 43, 44 y 70. Estos datos son diferentes a los resultados de otros estudios realizados en el país, posiblemente porque se efectuaron en ambientes intrahospitalarios; así tenemos que en el Hospital Metropolitano de la ciudad de Quito, el genotipo

más común fue el 6 (8,8%), seguido por el 66 (4,8%) y con los tipos 16, 31, 44 que alcanzan a un 2,4%; en tanto que los tipos 11, 34, 35, 54, 59, 62 y 67 mostraron un porcentaje equivalente a 1,6% para cada uno, y los tipos restantes mostraron una frecuencia de 0,8%. En el estudio de González también podemos apreciar una muy baja prevalencia del VPH18 solo o VPH16 y 18 juntos (González 2009). En Santa Elena, Guayas-Ecuador, los serotipos más frecuentemente detectados, fueron: 16, 52, 58 y 59, 62, 71, 72 y 83 (Brown 2009). En otro estudio realizado en Ecuador los genotipos más comunes fueron HPV 16 (64,5%) y VPH 81 (29%) seguido por VPH 31, 53, 56 y 58 (Tornesello 2009).

Con respecto a la prevalencia de VPH y la edad, en estudios realizados en otros países, la curva de ocurrencia presenta una tendencia de dos picos, uno en menores de 20 y otro en mayores de 60 años (Tonon 1999; Ferreccio 2005; Insaurralde 2008), en nuestro caso no participaron las menores de 20 años y la prevalencia del VPH encontrada fue, en primer lugar, en el grupo de 30 a 39 años (30%), en segundo lugar en el de 20 a 29 años (27%), y en tercer lugar en el de 40 años y más (23%).

Las vacunas utilizadas por el MSP servirían parcialmente para prevenir el cáncer producido por los tipos de VPH 6, 11, 16 y 18 que lo contienen, en razón de que en el presente estudio los únicos genotipos encontrados fueron el 16 en 1,37% y el 6 en 0,68% de las mujeres participantes. Los genotipos 18 y 11 no fueron encontrados.

Con respecto a los factores de riesgo, en la literatura varios autores plantean que se incrementa la probabilidad de infección por VPH cuando las mujeres tienen inicio temprano de las relaciones sexuales (Aguilar 2008), promiscuidad sexual (Oviedo 2004), la multiparidad (Rodríguez 2014), ingesta de anticonceptivos hormonales (Solís 2010), el hábito de fumar y la ingesta de bebidas alcohólicas (Ortiz 2004), el estado nutricional deficiente (Cordero 2008); en nuestro estudio el único factor asociado al VPH en forma estadísticamente significativa fue el número de compañeros sexuales.

8. CONCLUSIONES

- En conjunto, en los cantones Sigüig, Guachapala, Nabón, Oña, El Pan y Sevilla de Oro, existe una prevalencia del VPH de 26,71%.
- Entre los genotipos de alto riesgo oncogénico encontrados en los seis cantones, en un porcentaje inferior al 5% están: el 39, 53, 59, 45, 68, 16, 52, 58, 66, 31, 33, 69 y 73. Los genotipos de bajo riesgo oncogénico identificados, en porcentaje similar fueron: el 42, 54, 61, 6, 43, 44 y 70.
- La prevalencia de VPH en los grupos de 20 a 29, 30 a 39 y más de 40 años de edad oscila entre 23 y 30%, sin que exista una diferencia importante de la infección entre dichos grupos. Los genotipos de alto grado oncogénico 16, 31 y 33 están presentes únicamente en las mujeres de entre 20 a 29 años de edad; los genotipos 39, 45, 52 y 53 se encontraron en los grupos etarios de 30 a 39 y en las de 40 años y más; los genotipos 58, 66 y 68 están presentes en los grupos de 20 a 29 y en las de 30 a 39 años; el genotipo 59 fue identificado en los tres grupos etarios; el genotipo 69 fue hallado en el grupo de 40 años y más; y el genotipo 73, está presente únicamente en el grupo de 30 a 39 años.
- Según el examen de Papanicolaou, las mujeres con VPH de alto riesgo oncogénico presentan un mayor porcentaje (96%) de lesiones inflamatorias e infecciosas, con respecto a las que tienen VPH de bajo riesgo (84%) y las que reportan examen de VPH negativo (91%). En tanto que las mujeres con VPH de bajo riesgo presentan casi el doble de ASC-US y LIE de bajo grado que aquellas con examen negativo y casi cinco veces más que las que tienen VPH de alto riesgo
- El único factor de riesgo con el que está asociada la posibilidad de infección por VPH, en las mujeres en etapa reproductiva procedentes en los seis cantones del estudio, es el número de compañeros sexuales, pues en las mujeres con tres compañeros sexuales se incrementa en cinco veces la probabilidad de adquirir el VPH, entre 1 hasta 22 veces. Los demás factores como la edad de la primera relación sexual, años de vida sexual, parejas masculinas con varias parejas sexuales, el número

de partos, ingesta de anticonceptivos hormonales y el exceso de peso, si bien están asociados pero no de manera estadísticamente significativa.

- Las vacunas utilizadas por el MSP y disponibles en el mercado como son GARDASIL (Merck Sharp & Dome) y CERVARIX (GlaxoSmithKline), servirían parcialmente para prevenir el cáncer producido por los tipos de VPH 6, 11, 16 y 18 que lo contienen, en razón de que en el presente estudio los únicos genotipos encontrados fueron el 16 en 1,37% y el 6 en 0,68% de las mujeres participantes. Los genotipos 18 y 11 no fueron encontrados.

9. RECOMENDACIONES

- Se debería realizar mayor número de estudios de este tipo a poblaciones más amplias y en especial en edades más tempranas, como es en la adolescencia; esto en virtud de que el inicio de las relaciones sexuales se da en edades cada vez menores.
- Se podrían realizar nuevas investigaciones del VPH en poblaciones indígenas, dado que el acceso a los servicios de salud es limitado y los factores de riesgo también podrían ser diferentes.
- En virtud de que durante el proceso de desarrollo de este estudio han surgido nuevas preguntas de investigación, tales como ¿Cuál será la prevalencia y factores asociados de VPH en sangre, mucosa oral, uretra masculina?, ¿Cuál será la magnitud y la etapa de infección fetal por VPH?, ¿Habrán métodos de diagnóstico más sensibles, específicos y baratos para el diagnóstico temprano de VPH?, sería conveniente la consolidación de nuevos equipos de investigadores para contestar dichas interrogantes, entre otras en el campo del Laboratorio Clínico.
- También sería tiempo de emprender en proyectos de investigación que permitan determinar las estrategias más eficaces para la prevención de la infección por VPH y la promoción de la salud sexual y reproductiva, con base en los estudios más avanzados de Laboratorio.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abba, M; Gómez, M; Golijow Cd. Distribución de los genotipos del virus papiloma humano (VPH) en infecciones cervicales en mujeres de La Plata, Argentina. Revista Argentina de Microbiología. Sociedad Argentina de Microbiología, Buenos Aires, Argentina. Año: 2003. vol.35 p.74-79 Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v38n1/v38n1a05>
- Aguilar K, Ríos M, Hernández M, Aguilar F, Silveira P, Nápoles M. Papiloma viral humano y cáncer de cuello uterino. Rev Cubana Obstet Ginecol [revista en la Internet]. 2008 Abr [citado 2014 Oct 05] ; 34(1): Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138600X2008000100003&lng=es
- Bedoya C , Sanchez M , Cajas N , Molina D , Parrales J , Escobar S , Loja R , Chedraui P , Ramirez C , Espinoza J , Aleman Y , Limia C , Soto Y , Kouri V. Epidemiología molecular del virus de papiloma humano en mujeres de la región litoral del Ecuador, 2013. 8th Cuban Congress on Microbiology and Parasitology, 5th National Congress on Tropical Medicine and 5th International Symposium on HIV/aids infection in Cuba. Disponible en:
http://www.microbio_parasito_sida_med_tropical.sld.cu/index.php/microbiologia/2014/paper/view/679/0
- Brown C, Leon M., Muñoz K., Fagioni A., Amador L, Frain B. et al . Human papillomavirus infection and its association with cervical dysplasia in Ecuadorian women attending a private cancer screening clinic. Braz J Med Biol Res [serial on the Internet]. 2009 July [cited 2014 Oct 12] ; 42(7): 629-636. Available from:
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2009000700007&lng=en.](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2009000700007&lng=en) [http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2009000700007.](http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2009000700007)

- Camacho D, Reyes L, González G. Lesiones neoplásicas de cuello uterino en mujeres de una universidad Colombiana. Hacia promoci. Salud [serial online]. 2013 June [cited 2014 Oct 04] ; 18(1): 13-25. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012175772013000100002&lng=en.
- Cárdenas O, Cabrera J, Campoverde A. Prevalencia de genotipos del papiloma virus en mujeres de cuenca. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. Abril de 2014. Vol 32(1): 6-15
Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/20038>
- Chacón T, et al. ITS Y SIDA en adolescentes: descripción, prevención y marco legal. *Med. leg. Costa Rica* [online]. 2009, vol.26, n.2 [cited 2014-10-05], pp. 79-98 . Disponible en:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140900152009000200008&lng=en&nrm=iso>. ISSN 1409-0015
- Clifford G, Goncalves M, Franceschi S. Human papillomavirus types among women infected with HIV: A meta-analysis. *AIDS*.2006;Vol20:2337-2344. Disponible en:
http://www.hu.ufsc.br/projeto_hpv/Human%20papillomavirus%20types%20among%20women%20infected.pdf
- Cordero J. Cáncer de cuello de útero revisión de factores de riesgo. Revista médica Facultad de Ciencias Médicas de la Habana Hospital General Docente " Leopoldito Martínez San José de las Lajas. Cuba. 2008. Disponible en:
<http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEAAFAVVyFMhLAnZxE.php>
- De Sanjosé S, Almirall R, Lloveras B, Font R, Díaz M, Muñoz N, y cols. Cervical human papillomavirus infection in the female population in

- Barcelona, Sex Transm Dis. 2003 Oct;30(10):788-93. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14520179>
- Deluca, G. Alcalá, M. Lucero, D. Estudio citológico y molecular de infección por virus papiloma humano en aborígenes de la etnia Pilagá del Noroeste de Formosa.
Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/3-Medicina/M-027.pdf>. Abril 2014
 - De Guglielmo Z, Rodríguez A, Ávila M, Veitía D, Fernández A, Correnti M. Virus de papiloma humano y factores de riesgo en el desarrollo de cáncer cérvico uterino. Rev. venez. oncol. [revista en la Internet]. 2010 Mar [citado 2014 Oct 05] ; 22(1): 32-38. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-05822010000100004&lng=es.
 - Diestro M., Serrano M., Gómez-Pastrana Nieto F..Cáncer de cuellouterino: Estado actual de lasvacunasfrente al virus delpapilomahumano (VPH). Oncología (Barc.) [revista en la Internet]. 2007 Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352007000200002&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S0378-48352007000200002>.
 - Escobar M. Modelo de crecimiento de las variantes del virus del papiloma humano tipo 16. Tesis de investigación. Bogota-Colombia.2010
Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8835/1/2299852.2010.pdf>
 - Ethel-M, Claude Fauquet, Thomas R. Broker, Hans-Ulrich Bernard, HaraldzurHausen. Classification of papillamaviruses.Virology 324(2004). pp 17-24.

Disponible

en:http://www.ff.ul.pt/~santoscostaq/santoscostaq/Hospital_da_Luz__O_p_erfil_do_HPV_files/Papiloma%20class.pdf.

- Ferreccio C. y colab. Prevalencia poblacional y distribución por edad del Virus Papiloma Humano entre mujeres en Santiago, Chile; Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Centro de Oncología Preventiva, Universidad de Chile, boletín de la escuela de medicina volumen 30 N°1 - AÑO 2 2005. Disponible en:<http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/20051/articulo6.pdf>
- García L, Burgos R, Ruiz J, Valle J, Egas D, Valle E. Detección molecular y genotipificación del virus del papiloma humano en el Instituto Oncológico Nacional ION-SOLCA del Ecuador. Rev. Medicina (Guayaquil); 11(2):114-117, jun. 2006. Disponible en: <http://rmedicina.ucsg.edu.ec/archivo/11.2/RM.11.2.03.pdf>
- González F, Sánchez D. HPV genotyping in anogenital abnormal samples of Ecuadorian women. Department of Medicine, Hospital Metropolitano, Quito, Ecuador. Cancer Biomark. 2009;5(4):225-32. PubMed PMID: 19729832. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19729832>
- Hernández C, Smith J, Lorincz A, Arreola E, Lazcano E, Hernández M. et al . Prevalencia de infección por virus de papiloma humano (VPH) de alto riesgo y factores asociados en embarazadas derechohabientes del IMSS en el estado de Morelos. Salud pública Méx [revista en la Internet]. 2005 Dic [citado 2014 Oct 05] ; 47(6): 423-429. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342005000600006&lng=es.
- INEC; Anuario de nacimientos y Defunciones. Ecuador. 2009. Disponible en:www.inec.gob.ec.

- INEC; Ecuador en cifras. Ecuador. 2010.
Disponible en: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-de-poblacion-y-vivienda/>
- Instituto nacional del cáncer. Hoja informativa. Vacunas contra los tipos de papiloma humano. Revision 29 de Diciembre 2011. Disponible en: www.cancer.gov/espanol/recursos/hojas-informativas/.../vacuna-VP
- Insaurralde A, Páez M, Mendoza L, Rodríguez I, Ruiz O, Kasamatsu E. Características clínico-demográficas de mujeres remitidas al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) para detección de HPV de alto riesgo oncogénico por Captura Híbrida II®. Mayo 2006-2007. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud, jun. 2008, vol.6, no.1, p.34-39. ISSN 1812-9528. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1812-95282008000100006&lng=es&nrm=iso. ISSN 1812-9528.
- Lagunas O, y colab. Genotipos de HPV y prevalencia de infección en las mujeres con citología ASCUS del Hospital Clínico Regional Valdivia. Universidad Austral de Chile. 2004. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fcb275i/doc/fcb275i.pdf>.
- Lizano M, Carrillo A, Contreras A. Infección por virus del Papiloma Humano: Epidemiología, Historia Natural y Carcinogénesis. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Mexico.2009. Disponible en: www.incan.org.mx/revistaincan/.../documentosPortada/1272302572.pdf
- López-Saavedra y Lizano-Soberón, Cáncer cérvicouterino y el virus del papiloma humano: La historia que no termina. Unidad de Investigación Biomédica en Cáncer. UNAM Cancerología 1 (2006): 31-55. Disponible en: <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/172193073.pdf>

- Máiz C. Cad Aten Primaria. El virus del papiloma humano. Vol. 15. pp 72-74. 2008. Disponible en:
http://www.agamfec.com/antiga2013/pdf/CADERNOS/VOL15/09A_Colabo_N15_1.pdf.
- Molano M, Posso H, Weiderpass E, van den Brule AJ, Ronderos M, Franceschi S y cols. Prevalence and determinants of HPV infection among Colombian women with normal cytology. Br J Cancer. 2002; 87: 324-33. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2364213/>
- Murillo Z, Suárez Y, Hineostroza L, Bedoya A, Sánchez G, Baena A. Conocimiento de los estudiantes y docentes de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia sobre la infección por el virus del papiloma humano. Rev. Fac. Nac. Salud Pública [serial on the Internet]. 2010 May [cited 2014 Oct 05]; 28(2): 125-131. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-386X2010000200004&lng=en.
- Navarro M, Martínez M, Santoyo F, Pita M. Glucosa, índice de masa corporal y lesiones pre neoplásicas en el cuello uterino. Ginecol Obstet Mex 2011;79(12):771-778 Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2011/gom1112b.pdf>
- Ortiz M., Uribe M., Díaz L., Factores de riesgo para cáncer de cuello uterino Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología Vol. 55 No.2 • 2004 • (146-160) Disponible en:
http://fecolsog.org/userfiles/file/revista/Revista_Vol55No2_Abril_Junio_2004/v55n2a07.PDF
- Oviedo G, Arpaia A, Ratia E, Seco N, Rodríguez I, Ramírez Z. Factores de riesgo en mujeres con infección del virus papiloma humano. Rev. chil.

- obstet. ginecol. [revista en la Internet]. 2004 [citado 2014 Oct 05] ; 69(5): 343-346. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262004000500002&lng=es.
- Picón G, Neira H, Sánchez I, Campoverde A, Cordero L, Ugalde J. Detección del ADN del virus del papiloma humano mediante PCR en pacientes con citología de ASCUS; instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca.2005-2006.Revista Oncología. Vol. 16. Cuenca. Ecuador. 2006.Disponible en:
http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=47681&id_seccion=1604&id_ejemplar=4835&id_revista=107
 - Ramírez T. Vacunación contra HPV. Revista médica de costa rica y Centroamérica LXXI (611) 529 - 532, 2014 Disponible en:
<http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/611/art28.pdf>
 - Reimers L, Anderson W, Rosenberg P, Henson D, Castle P. Etiologic Heterogeneity for Cervical Carcinoma byHistopathologicType, usingcomparativeageperiod-cohortmodels.Cancer EpidemiolBiomarkersPrev.2009; 18(3): 792-799. Disponible en:
www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19258470
 - Reina C, Muñoz R, Sánchez G. El estado del arte en las infecciones producidas por el virus del papiloma humano. Colombia Médica .Vol. 39(2),2008. 189-197. Disponible en:
<http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/576/923>
 - Rivera Z. René, Aguilera T. Jorge, Larraín H . Epidemiología de virus papilloma humano (HPV). Rev. chil. obstet. ginecol. [serial on the Internet]. 2002 ; 67(6): 501-506.
Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262002000600013>.

- Rodríguez D., Pérez J , Sarduy M . Infección por el virus del papiloma humano en mujeres de edad mediana y factores asociados. Rev. Cubana Obstet Ginecol. 2014;40(2)ginecología y salud reproductiva Disponible en:http://www.bvs.sld.cu/revistas/gin/vol40_2_14/gin09214.htm
- Serman F. Cancer cervicouterino: epidemiologia, historia natural y rol del virus papiloma humano. Perspectivas en prevencion y tratamiento. Rev. chil. obstet. ginecol. v.67 n.4 Santiago 2002. Disponible en:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262002000400011>
- SOLCA. Registro de Tumores Cuenca. Quinto informe: incidencia del cáncer en el cantón Cuenca. 1996-2004. Instituto del Cáncer SOLCA, Núcleo de Cuenca. Cuenca, 2007. Disponible en : http://www.institutodelcancer.med.ec/index_archivos/registro_tumores.htm
- Solís M, Aguayo F, Vargas M, Olcay F, Puschelklaus, Corvalán A et al . Factores de riesgo de alteraciones citológicas del cuello uterino en mujeres chilenas: Un estudio de casos y controles. Rev. méd. Chile [revista en la Internet]. 2010 Feb [citado 2014 Oct 04] ; 138(2) : 174-180. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010000200005&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872010000200005>
- Sotelo-J, Morfin-M. Beneficios del factor de transferencia en pacientes con virus del papiloma humano genital persistente. Rev Alergia Mex 2012; 59(3):97-106.Disponible en:
<http://www.medigraphic.com/pdfs/revalেমex/ram-2012/ram123a.pdf>
- Suárez E. Human papillomavirus and cervical cancer. Medwave 2008 May;8(4):e890 doi: 10.5867/medwave.2008.04.890 Disponible en: <http://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/Congresos/890>

- Tornesello M, y colaboradores. A pilot study on the distribution of human papillomavirus genotypes and HPV-16 variants in cervical neoplastic lesions from Ecuadorian women. *Infectious Agents and Cancer*, 4 (Suppl 2):P112009. Disponible en:
<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1750-9378-4-S2-P11.pdf>
- Tonon S, Picconi M, Zinovich J, et al. Human Papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with a high incidence of cervical carcinoma. *Inf. Dis. Obstet. Gynecol* 1999; 7:237-43.
- Vanegas V, Rubio A, Bedoya A, Sanchez I. Estructura molecular de virus y la vacuna contra el antígeno del papiloma humano 16 (VPH 16). *Acta biol.Colomb.* [revista en la Internet]. 12 2008 [citado 05 de octubre 2014]; 13 (3): 37-48. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2008000300003&lng=pt.
- Vargas V. Virus del papiloma humano. Aspectos epidemiológicos, carcinogénicos, diagnósticos y terapéuticos. *Ginecol. Obstet. Méx* 1996; Volumen 64(9): 411-417. Disponible en:
<http://bvssida.insp.mx/articulos/3625.pdf>
- Vivar, N. Estudio de prevalencia de los papiloma virus en el Hospital Carlos Andrade Marín.
Disponible:http://www.elcomercio.com/sociedad/Cancer-cuello-utero-cervical-PapilomaHumano-virus-VPH-HaradlZurHausen-diagnostico_0_947905235.html. Septiembre 2013.

ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de operacionalización de variables

Variable	Concepto	Dimensión	Indicador	Escala
<i>Características sociodemográficas</i>				
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de la entrevista.	Años cumplidos.	Fecha de nacimiento en la cédula de identidad	< 20 20 - 29 30 - 39 40 y +
Estado civil	Situación legal o de hecho de las personas determinada por sus relaciones de familia, provenientes del matrimonio o del parentesco, que establece ciertos derechos y deberes.	Relación familiar.	Formulario de recolección de datos	- Soltera - Casada - Divorciada - Viuda - Separada - Unión libre
Residencia	La persona que usualmente vive en la vivienda, siempre y cuando al momento de la entrevista tenga más de seis meses de vivir en uno de los cantones seleccionados para el estudio.	Ubicación geográfica.	Formulario de recolección de datos.	- El Pan - Guachapala - Nabón - Oña - Sevilla de Oro - Sigsig
Educación	Nivel de instrucción educativa que tiene la persona.	Estatus de educación formal.	Formulario de recolección de datos.	-Superior -Secundaria -Primaria -Centro de alfabetización -Ninguna.
Ingresos mensuales	Constituye la suma de la renta mensual que percibe cada uno de los miembros de la familia.	Estatus económico.	Formulario de recolección de datos.	< 340 340 - 680 > 680
<i>Factores de riesgo para infección por PVH</i>				
Edad de primera relación sexual	Edad en la que tuvo la primera relación sexual.	Conducta sexual.	Formulario de recolección de datos.	< 20 20 - 25 > 25

Años de vida sexual	Tiempo en años que mantiene relaciones sexuales, desde la primera vez	Conducta sexual.	Formulario de recolección de datos.	< 5 5 - 10 > 10
Número de compañeros sexuales	Número de personas del sexo masculino con las que ha tenido relaciones sexuales.	Conducta sexual.	Formulario de recolección de datos.	1 2 3 > 3
Compañeros sexuales de alto riesgo	Personas del sexo masculino con las que ha tenido relaciones sexuales quienes a su vez han tenido relaciones sexuales con prostitutas.	Conducta sexual.	Formulario de recolección de datos.	- Si - No - No sabe
Ingesta prolongada de anticonceptivos hormonales	Si ha recibido anticonceptivos hormonales vía oral, inyectable o implantes, por más de 5 años consecutivos.	Clínica	Formulario de recolección de datos.	- Si - No
Número de embarazos	Cantidad de embarazos que ha tenido. El embarazo entendido como el proceso de la reproducción que comienza con la implantación del cigoto en la mujer y termina en un parto o aborto.	Número total de embarazos	Formulario de recolección de datos.	- 1 -2 a 3 Más de 3
Exceso de peso u obesidad	Se determina cuando el Índice de Masa Corporal es igual o superior a 25.	Índice de masa corporal	Formulario de recolección de datos.	- Si - No
<i>Lesiones cervicales</i>				
Estado del cérvix y cuello uterino	Presencia o ausencia de células con alteraciones provocadas por el HPV y otros microorganismos causantes de lesiones inflamatorias, detectadas por Papanicolaou	Lesiones microscópicas características tipo coilociticas	Resultados de la prueba de Papanicolaou	- Normal (negativo) - Inflamatoria- Infecciosa - ASC-US y LIE de bajo grado - Cáncer

<i>Papiloma virus humano</i>				
Presencia papiloma virus humano (HPV)	Virus del papiloma humano con doble cadena de ADN, causantes de lesiones benignas y malignas del cuello del útero y factible de ser identificado mediante la PCR	Identificación del HPV	Reporte de las secuencias virales del HPV por PCR	-Virus presente -Virus ausente
Genotipos de papiloma virus humano.	Información genética del ADN del HPV	Identificación de genes del HPV	Reporte de la prueba PCR: observación de bandas de ADN en el gel de electroforesis .	-HPV de alto riesgo oncogénico: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82 -HPV de bajo riesgo oncogénico: 6,11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70

ANEXO 2 (CONSENTIMIENTO INFORMADO)

Consentimiento Informado

Para los investigadores

La Dirección de Investigaciones de la Universidad de Cuenca (DIUC) se encuentra desarrollando un Proyecto de Investigación cuya finalidad es determinar la frecuencia de las variedades del Papiloma Virus Humano que producen lesiones de alto y bajo grado en muestras del cuello del útero de mujeres en etapa reproductiva, de los cantones El Pan, Guachapala, Nabón, Oña, Sevilla de Oro y Sigsig de la provincia del Azuay.

Las mujeres que participarán en el estudio han sido seleccionadas de los diferentes cantones de la provincia del Azuay: si Ud. está de acuerdo en participar, debe firmar el consentimiento en este documento que miembros del equipo de investigación le entregarán; recibirá una cita para que uno de los médicos ginecólogos del proyecto, procedan a realizarle un examen ginecológico sin riesgo alguno para su salud y que tendrá como finalidad obtener una muestra de la secreción del cuello del útero, la misma que servirá para realizar un examen citopatológico llamado de Papanicolaou y un examen moderno, costoso y de alta tecnología conocido con el nombre de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Ambas pruebas determinarán si Ud. tiene o no el Virus del Papiloma causante del cáncer de cuello de útero. Al mismo tiempo el médico le hará algunas preguntas relacionadas con Ud. y su salud; la encuesta tendrá una duración de aproximadamente 5 minutos.

La participación en este estudio es estrictamente voluntaria, la información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación; en ningún momento se pedirá su nombre ya que la encuesta es anónima, no tendrán ningún costo, y los resultados de los análisis se entregarán personalmente en el consultorio, en fecha que el médico lo determine.

Los mencionados exámenes se realizarán en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente, puede retirarse del mismo en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma.

Si alguna de las preguntas durante la entrevista le parecen incómodas, y afectan a su sensibilidad, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Su participación le brindará a Ud. importantes beneficios ya que la investigación permitirá detectar si está libre de patología citológica o no tiene los virus causantes del cáncer del cuello uterino: en caso de tener resultados positivos para la enfermedad se le remitirá a un centro de colposcopia del Ministerio de Salud para confirmar el diagnóstico previo y realizar el tratamiento más adecuado.

Para la mujer

Acepto participar voluntariamente en esta investigación, he sido informada de los objetivos y metas de este estudio, que me realizarán un examen ginecológico para obtener una muestra de la secreción del cuello del útero para examen de Papanicolaou y de PCR; que el mencionado examen no implica riesgo alguno para mi persona, que los resultados me entregarán personalmente y que tendré que responder un cuestionario en una entrevista realizada en el consultorio médico; reconozco que la información que yo provea en el curso de esta investigación es estrictamente confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de los de este estudio sin mi consentimiento.

Por todo lo considerado procedo a dar mi consentimiento y para constancia del mismo, a continuación registro mi firma.

.....

Firma de la paciente

.....

Firma del Investigador

Fecha:.....

**ANEXO 3 (ENCUESTA)**

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
COORDINACIÓN ZONAL 6

**MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
COORDINACIÓN ZONAL 6**

**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN - DIUC**

**Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras
cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres
con vida sexual activa de los cantones de la provincia del Azuay. 2013-
2014**

Formulario de recolección de datos.

Fecha dd/mm/año: **Número de encuesta:**

1. Identificación y características demográficas:

1.1 Código de la persona entrevistada: 1.2 Cantón:

1.3 Edad en años cumplidos:

1.4 Estado Civil: Soltera ☐ Casada ☐ Divorciada ☐ Viuda ☐ Unión Libre ☐

1.5 Teléfono:

1.6 Domicilio:

Número

1.7 Lugar de nacimiento(debe ser en el cantón):

1.8 Años de residencia en el Cantón:

1.9 Peso Kg Talla: cm

1.10 Ingresos mensuales, paciente: dólares

1.11 Ingresos mensuales de la pareja: dólares

1.12 Educación: Número de años terminados: años

2. Factores de riesgo:

Antecedente de examen ginecológico, sin Papanicolaou:

Ninguno ☐ Último hace qué tiempo s

Antecedente de Papanicolaou:

Último hace que tiempo en años:

6 meses ☐ 1 año ☐ 2 años ☐ 3 años ☐ Más de 3 años ☐**Diagnóstico:** No recuerdo ☐**Antecedente o infección por HPV**Ha sido diagnosticada de infección por HPV mediante Papanicolaou? ☐ Sí☐ NoPor antecedentes clínicos: Si ☐ No ☐ Por colposcopia: Si ☐ No ☐

Diagnóstico y sugerencia del colposcopista

2.5 Lesiones citológicas indeterminadas y premalignas para HPV mediante técnica de papanicolaou.No ☐ Si ☐ ¿Cuál?:**CLASIFICACIÓN DE BETHESDA:**☐ **ASC-US** Atypical squamous cells of undetermined significance (atipias epiteliales de significado indeterminado)☐ **ASC-H** Atypical squamous cells – cannot exclude HSIL (atipias glandulares de significado indeterminado)☐ **L-SIL** Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (LGSIL)= (Sil de bajo grado)☐ **H-SIL** High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (HGSIL) = (Sil de alto grado, premaligno)☐ **AGC-NOS** Atypical Glandular Cells not otherwise specified☐ **AGC-NEOPLASTIC** Atypical Glandular Cells, suspicious for AIS or cancer☐ **AIS** Adenocarcinoma *in situ*Hace qué tiempo en meses: meses**BIOPSIAS. RESULTADOS (Histología):****CIN 1:** Infecciones transitorias por HPV ☐ **CIN 2 Y CIN 3:** Auténticas neoplasias ☐**Vacunación para HPV:** No: ☐ Si ☐ ¿Hace qué tiempo? MesesAños ¿Cuántas dosis?: 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ ¿Qué vacuna?

ParidadEdad del primer embarazo a término AñosGesta Para Abortos Cesáreas Ectópicos Mola Número de embarazos a término (completados) Número de embarazos no a término (no completados) **Desgarros cervicales durante el parto.** Desgarros cervicales: No ☐ Si ☐Sutura: Si ☐ No ☐**Antecedentes familiares de cáncer cervical.**No ☐ Sí ☐ Qué parentesco? Otro pariente ☐ Qué parentesco? **Antecedente de anticoncepción hormonal y/o uso actual:**No ☐ Si ☐Tabletas combinadas No ☐ Si ☐ ¿Cuántos meses en total? Tabletas solo con progestágeno: No ☐ Si ☐ ¿Cuántos meses en total? Ampollas de 1 mes: No ☐ Si ☐ ¿Cuántos meses en total?.....Ampollas de 3 meses: No ☐ Si ☐ ¿Cuántos meses en total?.....Implantes No ☐ Si ☐ ¿Cuál?:..... ¿Cuántos meses en total?.....**PRESERVATIVOS:** No ☐ Si ☐ Frecuentemente ☐ Ocasionalmente ☐ Por cuántos años? : **DIU.** No ☐ Si: ☐ Por cuántos años? : **Alimentación**En su dieta diaria consume usted pocos vegetales? (verduras, frutas, ensaladas, vegetales rojos, amarillos). No ☐ Si ☐**Exceso de peso.**Ha existido exceso de peso, según la paciente: No ☐ Si ☐ Qué tiempo en años Ha existido bajo peso, según la paciente: No ☐ Si ☐ Qué tiempo en años **Tabaquismo.** No ☐ Si ☐ Cuántos tabacos diarios Cuántos años

Alcohol: No ☐ Si ☐ Frecuentemente ☐ Ocasionalmente ☐ Tiempo en años

Uso de medicamentos e intervenciones

Uso de corticoides No ☐ Si ☐ ¿Cuántos meses?.....

Existe VIH-SIDA No ☐ Si ☐ ¿Hace qué tiempo del diagnóstico en meses?.....

Quimioterapia No ☐ Si ☐ ¿Cuántas sesiones?..... ..

Quimioterapia hace que tiempo la última sesión en meses.....

Radioterapia: No ☐ Si ☐ ¿Cuántas sesiones?.....

Radioterapia hace que tiempo la última sesión en meses.....

Diabetes No ☐ Si ☐ ¿Cuánto tiempo? en años.....

Enfermedades de transmisión sexual, secreción cervical persistente

Enfermedad de transmisión sexual. No ☐ Si ☐ ¿Cuál enfermedad de transmisión sexual?

Secreción cervical persistente No ☐ Si ☐ Tiempo en años.....

Uso de tampones. Si ☐ No ☐ **Uso de protectores.** Si ☐ No ☐

Edad de la primera relación sexual, en años.....

Número de años de vida sexual

Número de compañeros sexuales:.....

Pareja masculina con muchas parejas sexuales

No ☐ Si ☐ ¿Cuántas?..... No sabe ☐ No contesta ☐

Nombre del Ginecólogo o Médico que tomó la muestra.....

Firma del Ginecólogo o Médico.....

Firma de la paciente.....

ANEXO 4 (PAPELETA DE PEDIDO PARA BIOLOGIA MOLECULAR Y CITOPATOLOGIA)

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
COORDINACIÓN ZONAL 6

Universidad de Cuenca
Facultad de Ciencias Médicas
Dirección de Investigación - DIUC

SOLICITUD DE ESTUDIO CITOLÓGICO CERVICAL (PAPANICOLAOU).

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: *Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los 14 cantones de la provincia del Azuay. 2013-2014.*

Cantón:

Número del pedido.....

2 nombres y 2 apellidos de la paciente.....

Edad:..... Fecha de la solicitud:.....

Antecedentes clínicos y hallazgos:

.....
.....

Nombre del Médico que tomó la muestra.....

Firma.....

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
COORDINACIÓN ZONAL 6

Universidad de Cuenca
Facultad de Ciencias Médicas
Dirección de Investigación - DIUC

SOLICITUD DE ESTUDIO PARA BIOLOGÍA MOLECULAR

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: *Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los 14 cantones de la provincia del Azuay. 2013-2014.*

Cantón:

Número del pedido.....

2 nombres y 2 apellidos de la paciente.....

Edad:..... Fecha de la solicitud:.....

Antecedentes clínicos y hallazgos:

.....
.....

Nombre del Médico que tomó la muestra.....

Firma.....

ANEXO 5 (MAPAS DE LOS CANTONES ESTUDIADOS CON SU RESPECTIVA ALEATORIZACION).

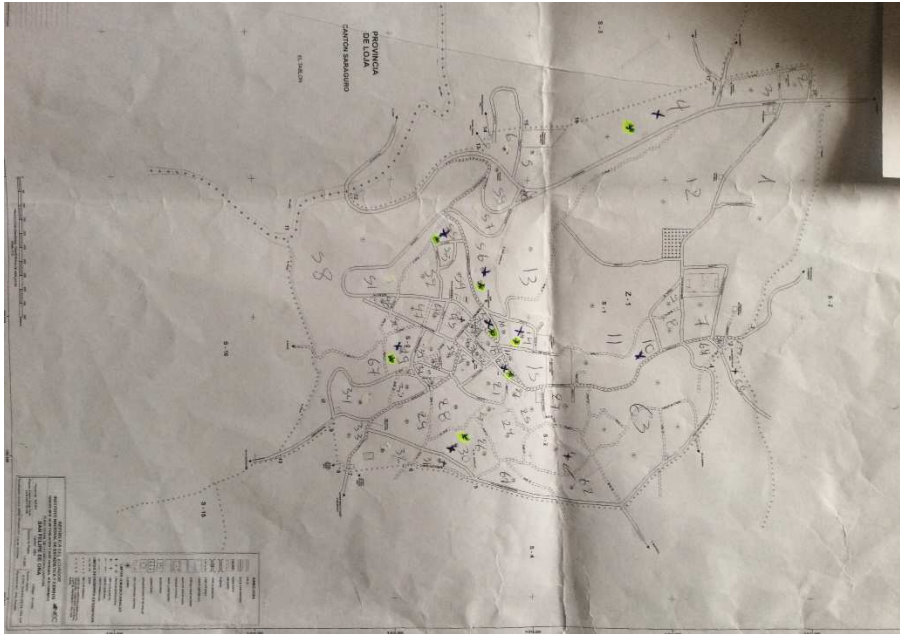
SIGSIG



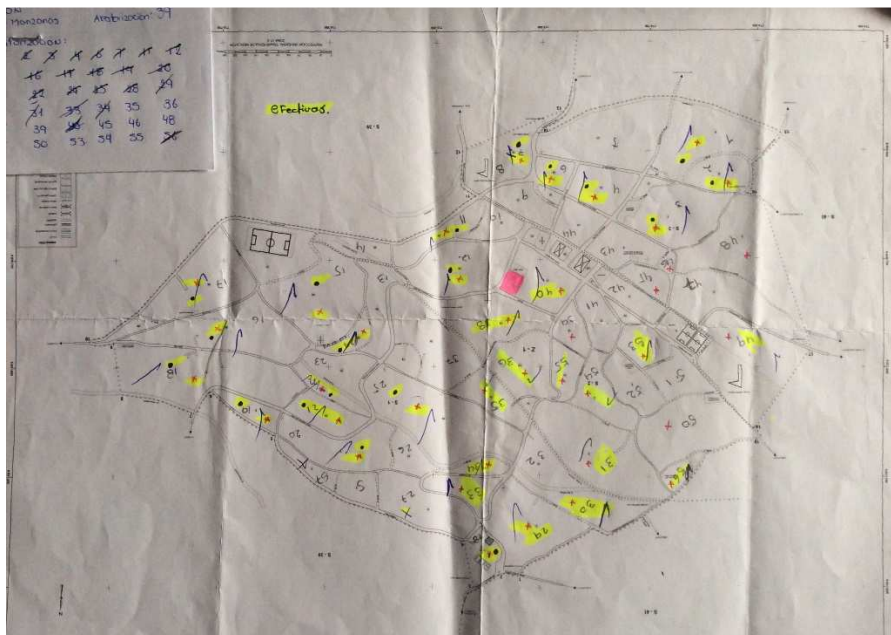
SEVILLA DE ORO



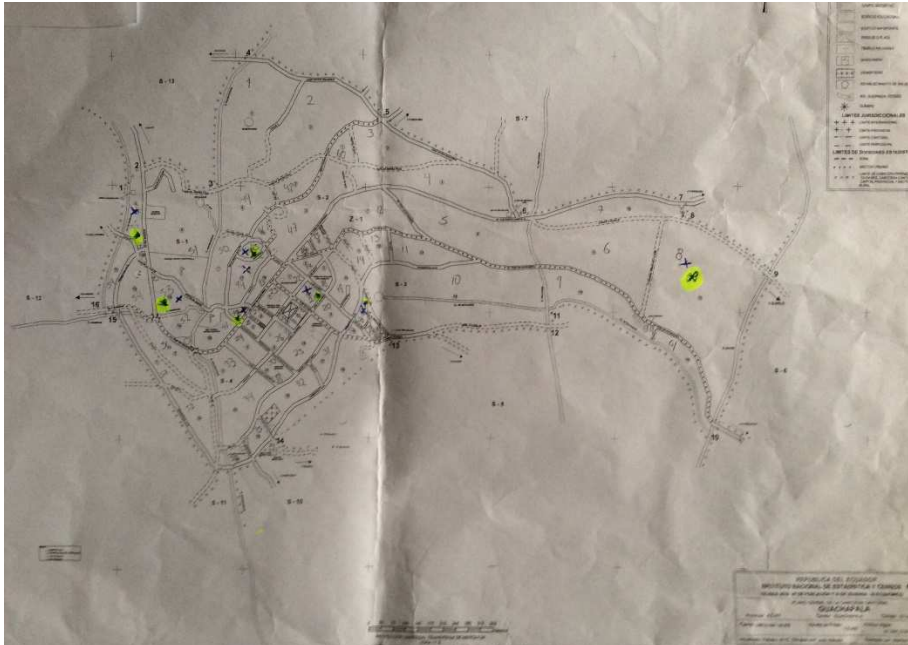
OÑA



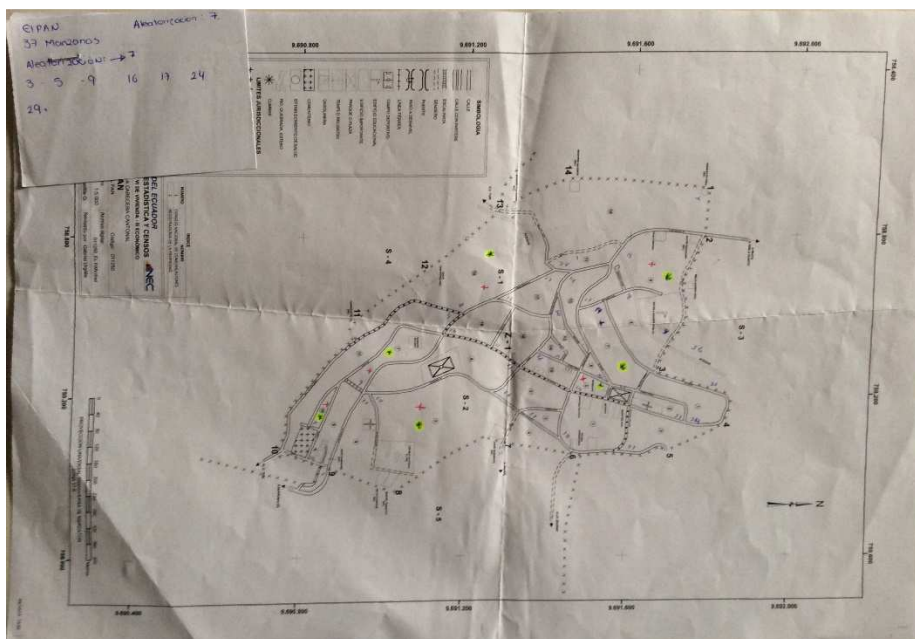
NABON



GUACHAPALA



EL PAN



ANEXO 6 (FOTOGRAFÍAS DE EL PROCESO DE UBICACIÓN DE PACIENTES, RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS).

Foto 1. Ubicación de los pacientes



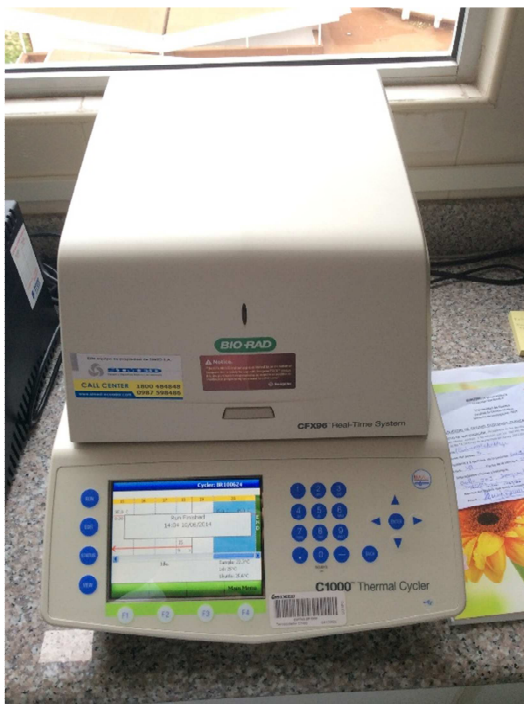
Fuente: Los autores

Foto 2. Recolección y procesamiento de muestras



Fuente: Los Autores

Foto 3. Termociclador CFX96 equipo utilizado para procesamiento de muestras, mediante la tecnica PCR real Time



Fuente: Los Autores