



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras
cérvicouterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual
activa de los cantones Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará,
de la provincia del Azuay. 2013-2014

TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LCDA. EN LABORATORIO CLÍNICO

Autores:

Diana Veronica Barbecho Coraisaca
Martha Viviana Caiminagua Iñaguazo
Mayra Elizabeth Viñanzaca Lopez

Director

Dr. José Antonio Cabrera Vicuña

Asesor

Dr. José Antonio Cabrera Vicuña

Cuenca - Ecuador

Marzo 2015

RESUMEN

OBJETIVO:

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 Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará de la Provincia del Azuay.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Fue un estudio epidemiológico, observacional de corte transversal, en una muestra aleatoria de 154 mujeres. Para la identificación de los genotipos se utilizó la técnica de la PCR en tiempo real, en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca y para las lesiones del cuello uterino, el examen de Papanicolaou.

RESULTADOS:

La prevalencia del VPH fue de 23,4%; los genotipos de alto riesgo oncogénico identificados fueron: 66, 16, 68, 35, 39, 58, 59, 31, 53, 56, 18, 26, 33, 45, 52, 73 y 82; y los de bajo riesgo: 54, 6, 40, 43, 44 y 61. Estas prevalencias fueron más frecuentes en los grupos de 20 – 29 años y 30 – 39 años. Apenas en 4,2% de la población estudiada tienen los genotipos virales presentes en las vacunas (Gardasil y Cervarix) que el Ministerio de Salud Pública se encuentra aplicando en el país. No se encontraron factores de riesgos estadísticamente significativos, seguramente debidos al reducido tamaño de la muestra ya que la investigación se realizó solamente en 5 de los 14 cantones de la provincia del Azuay.

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

ABSTRACT

OBJECTIVES

The objective of this research was to determine the prevalence of human papillomavirus virus (HPV) with high and low genotypes oncogenic risk and its relationship with risk factors in women living in the cantons Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucara of the Province of Azuay.

MATERIALS AND METHODS

Cross-sectional study was conducted, the study sample was randomly selected. The identification of genotypes was performed PCR assay in real time, in the laboratory of Molecular Biology, in the Faculty of Medical Sciences at the University of Cuenca and by the Pap test performed by doctors of health centers cervix status was assessed.

RESULTS

HPV prevalence was 23.4%; genotypes high oncogenic risk identified were: 66, 16, 68, 35, 39, 58, 59, 31, 53, 56, 18, 26, 33, 45, 52, 73 and 82; and low risk: 54, 6, 40, 43, 44 and 61. These prevalences were more frequent in the group of 20-29 years and 30 - 39 years. Just 4.2% of the study population have viral genotypes present in the vaccine (Gardasil and Cervarix) that the Ministerio de Salud Publica is implemented in the country. No statistically significant risk factors were found, probably due to the small sample size since the research was done on only 5 of the 14 counties in the province of Azuay

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

Contenido

INTRODUCCION	15
1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
3 JUSTIFICACIÓN	19
2 FUNDAMENTO TEORICO.....	19
4. OBJETIVOS.....	37
4.1Objetivo General:	37
4.2 Objetivos Específicos:	37
5 METODOLOGÍA.....	37
5.1 Tipo y diseño general del estudio.....	37
5.2 Muestra y Universos	38
5.3 Criterios de inclusión y exclusión	38
5.4 Variables del estudio	39
5.5 Métodos, técnicas y procedimientos	39
5.6 Análisis estadístico	43
5.7 Aspectos éticos.....	44
6 RESULTADOS.	44
6.1 Tabla N°1	44
6.2 Tabla N° 2	45
6.3 Tabla N°3	46
6.4 Tabla N° 4	46
6.5 Tabla N° 5	47
6.6 Tabla N° 6.....	47
6.7 Tabla N° 7	48
6.8 Tabla N° 8	48
6.9 Tabla N° 9	49
6 DISCUSIÓN.....	51
7 CONCLUSIÓN.....	52
8 RECOMENDACIONES	54
9 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	54
10 ANEXOS	59



Universidad de Cuenca
Cláusula de derecho de autor

Diana Veronica Barbecho Coraisaca, 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 Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará, de la provincia del Azuay. 2013-2014”**, 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 Lcda. 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



Diana Veronica Barbecho Coraisaca

C.I: 010568943-4



Universidad de Cuenca
Cláusula de propiedad intelectual

Diana Veronica Barbecho Coraisaca, 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 Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará, de la provincia del Azuay. 2013-2014"**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.



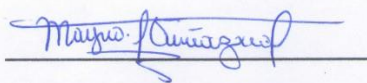
Diana Veronica Barbecho Coraisaca

C.I: 0010568943-4



Universidad de Cuenca
Cláusula de derecho de autor

Mayra Elizabeth Viñanzaca López, 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 Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará, de la provincia del Azuay. 2013-2014”**, 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.



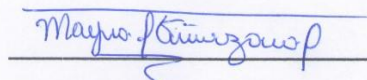
Mayra Elizabeth Viñanzaca López

C.I:0105609317



Universidad de Cuenca
Cláusula de propiedad intelectual

Mayra Elizabeth Viñanzaca López 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 Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará, de la provincia del Azuay. 2013-2014”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.



Mayra Elizabeth Viñanzaca López

C.I:0105609317



Universidad de Cuenca
Cláusula de derecho de autor

Martha Viviana Caiminagua Iñaguazo, 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 Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará, de la provincia del Azuay. 2013-2014”**, 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.



Martha Viviana Caiminagua Iñaguazo
C.I: 1724123516



Universidad de Cuenca
Cláusula de propiedad intelectual

Martha Viviana Caiminagua Iñaguazo 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 Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará, de la provincia del Azuay. 2013-2014”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.



Martha Viviana Caiminagua Iñaguazo
C.I: 1724123516

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada primero a Dios por darme la oportunidad de llegar hasta este momento y darme el mejor regalo del mundo mi familia; a mis abuelitos, Lucia y Lucio, por motivarme desde pequeña a no darme por vencida y siempre confiar en mí, a mis padres, Blanca y José, y hermano, Christian, su apoyo incondicional me ha permitido sobrellevar todas las dificultades que se me han presentado a lo largo de mi formación profesional y por ser ese pilar fundamental en mi vida, por ultimo a mis maestros por compartir sus conocimientos y sembrar en mí el amor a mi carrera. Un paso más en mi formación profesional, más no el último.

Diana Verónica Barbecho Coraisaca.



DEDICATORIA

Primero a Dios, a mi madre y a mis hermanos por estar siempre a mi lado, apoyándome incondicionalmente; con mucho amor y cariño les dedico todo mi esfuerzo y trabajo puesto para la realización de esta tesis.

Martha Viviana Caiminagua Iñaguazo.

DEDICATORIA

Mi proyecto de tesis lo dedico a Dios, porque es quien guía mis pasos día a día, cuidándome y ayudándome a levantar luego de cada tropiezo, a mis padres quienes han velado siempre por mi bienestar tanto en el estudio como en la vida cotidiana y junto a mis hermanos quienes han sido un apoyo incondicional para cada reto de mi vida.

Mayra Elizabeth Viñanzaca López

AGRADECIMIENTO

Al finalizar un trabajo tan laborioso y lleno de dificultades es merecedor expresar nuestro más sincero agradecimiento al Dr. José Cabrera, nuestro director y asesor de tesis, por el apoyo brindado.

También agradecemos a quienes de manera indirecta nos han apoyado en la culminación de nuestra tesis, nuestras queridas pacientes y los médicos del Ministerio de Salud de los diferentes cantones.

Diana, Viviana y Mayra.

INTRODUCCION

Esta investigación tuvo como objetivo detectar los diferentes tipos de VPH en la población femenina de los cantones: San Fernando, Santa Isabel, Girón, Camilo Ponce Enríquez y Pucará 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 VPH y un desarrollo de cáncer de cuello de útero.

La infección por el virus del papiloma humano representa una de las enfermedades de transmisión sexual más comunes y se asocia directamente con los condilomas, lesiones escamosas intraepiteliales y malignas anogenitales, que incluyen el carcinoma de cérvix, vaginal, vulvar y anal (Murillo, y otros 2010). Actualmente se ha identificado más de 200 serotipos de VPH que infectan la región anogenital, también se han descrito otros tipos de infecciones como la orofaríngeas y amigdalitis (Serena, y otros 2011).

En nuestro país se han realizado pocos estudios relacionados con la prevalencia de los distintos genotipos de VPH en las mujeres en edad fértil, razón por la cual es importante conocer su prevalencia y establecer medidas preventivas y de diagnóstico oportuno evitando así aumentar la morbilidad. Para la detección temprana del cáncer cervicouterino, 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, 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 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca (DIUC) denominado “Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvicouterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones de la provincia del Azuay. 2013-2014”, que se realiza en los 14 cantones de la provincia del Azuay. De igual manera, la metodología se desprende el 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

Está comprobado que la infección por el virus del papiloma humano (VPH) es una de las infecciones de transmisión sexual más frecuentes y actualmente se considera a ese virus como el agente causal del carcinoma cérvicouterino (Hernández, Giron y colab 2005). Se han descubierto hasta el momento más de 200 genotipos de VPH; de acuerdo a su potencial oncogénico, divididos en tipos de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, asociados con cáncer cérvicouterino y lesiones intraepiteliales escamosas de bajo y alto grado (LIEbg y LIEag) y genotipos de bajo riesgo: 6, 11, 42, 43, 44, 54, 61, 70 asociados con verrugas genitales (De Guglielmo y colab. 2008)

Los principales factores de riesgo para la infección por VPH en mujeres son: edad, raza no blanca, 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 2007).

El cáncer cervical es un problema sanitario relevante en los países subdesarrollados. 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 ineficientes y/o ineficaces. Anualmente en el mundo mueren 274.000 mujeres a

causa del cáncer cérvicouterino que es el segundo en frecuencia en la población femenina a nivel mundial, después del cáncer de mama. (Arias , y otros 2010).

Investigaciones semejantes a la realizada, muestran que existe una diferente prevalencia del VPH entre un país y otro, así como la presencia de diferentes tipos de virus en la población afectada. En Pinar del Río- Cuba se encontró que la frecuencia de infección con VPH, aunque variable, oscilaba alrededor del 38 % (IC al 95 % entre 32.5 y 43.8 %) (Sanabria 2004).

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%) (15). 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 con los partidores MY09/11 utilizada en el estudio. Ello permitió estimar una prevalencia de infección por VPH de 24% (26/108) en las mujeres con citología ASCUS (Lagunas y Carola 2004).

En un estudio realizado por la Universidad Autónoma De México (UNAM), en este estudio se usó una muestra de 2.000 mujeres de 9 países con diagnóstico confirmado de carcinoma escamoso de cérvix, así como 2,000 controles, el cual fue realizado con el fin de establecer la clasificación epidemiológica de los diferentes tipos de VPH que colonizan el tracto genital humano; este estudio reveló los siguiente resultados: En el caso de los pacientes, los tipos virales más frecuentes fueron: 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 y 35; mientras que en el caso de los controles, los más prevalentes fueron los tipos: 16, 18, 45, 31, 6, 58, 35 y 33. En conclusión, fue propuesto que 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” (Lizano, Carrillo y Contreras, Infección por Virus del Papiloma Humano: epidemiología, historia natural y carcinogénesis 2009)

En el Ecuador la prevaecía 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). El cáncer del cuello del útero es un grave problema de salud en el país y región. En los últimos 10 años se ha incrementado la mortalidad por esta causa, realidad directamente vinculada a los escasos programas de detección oportuna y tratamiento de esta patología (González y Sánchez 2009).

Un estudio realizado en Ecuador, en 250 mujeres, identificó VPH 16 y 18 en coinfección en lesiones intraepiteliales de alto grado; se identificó al VPH 16 en lesiones de bajo grado; este estudio concluye que la PCR tiene el potencial para proporcionar información epidemiológica importante en muchas zonas de escasos recursos de los países en desarrollo (Cecchini y y colab 2011).

En un estudio realizado en Cuenca-Ecuador en el 2006, se investigó 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 , y otros 2006).

En el “Quinto Informe de Incidencia de Cáncer en el Cantón Cuenca” de SOLCA, publicado en diciembre del 2007, se expresa que considerando todos los cánceres femeninos la incidencia, en el cantón Cuenca, del 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 % constituye la primera causa de cáncer en el cantón (SOLCA 2007).

En otra investigación realizada en la ciudad de Cuenca, con 500 mujeres en edad fértil se encontró una prevalencia de los genotipos del papiloma virus de alto grado oncogénico fue del 35,9% y para bajo grado el 14,3%. La prevalencia de las alteraciones citológicas, Papanicolaou, fue del 16%. Estas prevalencias fueron más frecuentes en los grupos de 30 a 39 años y 40 a 50 años. Por inferencia, la cobertura de la vacuna Cervarix sería del 8% y para el Gardasil del 13%. Fueron factores de riesgo los relacionados con el número y frecuencia de relaciones sexuales, número de compañeros sexuales. (Cardenas , Cabrera y Campoverde 2014).

Desde 1986 es posible determinar mediante pruebas de laboratorio de biología molecular, con la técnica PCR (Reacción En Cadena de la Polimerasa), los genotipos de alto riesgo oncogénico que predisponen con alta probabilidad a desarrollar el cáncer cérvicouterino 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, con los resultado de esta investigación y al usar una muestra aleatorizada, nos permite generalizar los resultados para implementar de mejor forma las normas de detección temprana, diagnóstico y tratamiento de este cáncer.

El control periódico de una mujer con altos factores de riesgo para cáncer cérvicouterino, anomalías citológicas o de una lesión intraepitelial de bajo y alto riesgo, evitará o minimizará el desarrollo del cáncer cérvicouterino, con el aporte de la identificación de los genotipos del papiloma virus humano, mediante la técnica de PCR, prueba de oro de diagnóstico para papiloma virus.

3 JUSTIFICACIÓN

Con este trabajo, hemos contribuido, a conocer la prevalencia de los genotipos del VPH, existente en la provincia que junto a otras investigaciones realizadas en otras ciudades del país, ayudara al Ministerio de Salud Pública en la toma de decisiones para mejorar los servicios de salud e implementar acciones preventivas, de diagnóstico y tratamiento de esta manera se logra cumplir con el Plan Nacional del Buen Vivir de acuerdo con el objetivo 3 “Mejorar la calidad de vida de la población” que en su inciso 3.2 argumenta “Ampliar los servicios de prevención y promoción de la salud para mejorar las condiciones y los hábitos de vida de las personas. Al lograr mejorar la atención primaria en salud se disminuirá la alta morbilidad y mortalidad por cáncer cérvicouterino en las mujeres de nuestro país y ciudad.

En el presente estudio; 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 cinco 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). Una vez terminado el informe, 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 que fueron beneficiadas con este proyecto y de este modo, en los casos necesarios, se realicen los tratamientos adecuados, de acuerdo con las normas y protocolos del MSP.

2 FUNDAMENTO TEÓRICO

EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

Datos históricos

Antes al Virus del Papiloma Humano sólo se lo asociaba con los condilomas genitales. En la década de los 60 se pensaba que sólo existía un tipo viral y que la naturaleza del epitelio infectado era probablemente la responsable de las características morfológicas y el comportamiento de las verrugas. En el año 2008, el médico alemán Harald zur Hausen recibió el Premio Nobel de Medicina por el descubrimiento de VPH como una causa de cáncer cervical. Con el desarrollo de la biología molecular, y de la de reacción en cadena de polimerasas (PCR) en 1996 se habían caracterizado 77 tipos, clasificados de acuerdo a su localización en el cuerpo humano, secuencia genómica y carácter oncogénico. En 1999 habían sido bien estudiados y completamente secuenciados 85 genotipos y aproximadamente 120 nuevos genotipos parcialmente secuenciados. Actualmente se conocen 216 tipos (Carrillo, y otros 2003)

TIPOS DE VPH:

Los virus de papiloma humano se dividen en dos grandes grupos dependiendo en relación a su patogenia oncológica o lesiones cancerígenas: alto y bajo riesgo (Lizano, Carrillo y Contreras, Infección por Virus del Papiloma Humano: epidemiología, historia natural y carcinogénesis 2009).

➤ Virus Papiloma Humano de Bajo Riesgo

Son aquellos cuyo riesgo de provocar cáncer es bajo y son el VPH 6, 11, 40, 42, 53, 54 y 57. Los tipos de VPH los más comunes se incluyen los tipos 6 y 11 que usualmente causan verrugas benignas llamadas también condiloma acuminado y cresta de gallo y ocasionalmente, se asocian con lesiones no invasivas.

➤ Virus Papiloma Humano de Alto Riesgo

Son los que se encuentran con mayor frecuencia asociados en los casos de cáncer de cuello uterino e incluyen el VPH 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58. De estos tipos el VPH 16 y el 18 son, sin duda, los más importantes dado que se encuentran con más frecuencia vinculados al cáncer cérvicouterino. (10) El VPH-16 es el tipo que aparece, fundamentalmente en los tumores invasivos y en los de alto grado de malignidad; el VPH-18 se relaciona con el carcinoma pobremente diferenciado y con un mayor compromiso de los ganglios linfáticos (Leon y Bosque Diego 2005).

Aunque algunos autores los clasifican en tres niveles de riesgo, incluyendo en el grupo de alto riesgo los VPH 16 y 18, en el de mediano riesgo los tipos 31, 33, 35, 51, 52 y 58 y en el de bajo riesgo los tipos 6, 11, 42, 43 y 44. Estos autores mantienen la hipótesis de que los tipos de alto riesgo están presentes en menos de 30% de los NIC I (displasias ligeras), mientras los mismos están asociados

en 90% de los casos con NIC II (displasias moderadas) y NIC III (displasias severas) (Mandato P, y otros 2003).

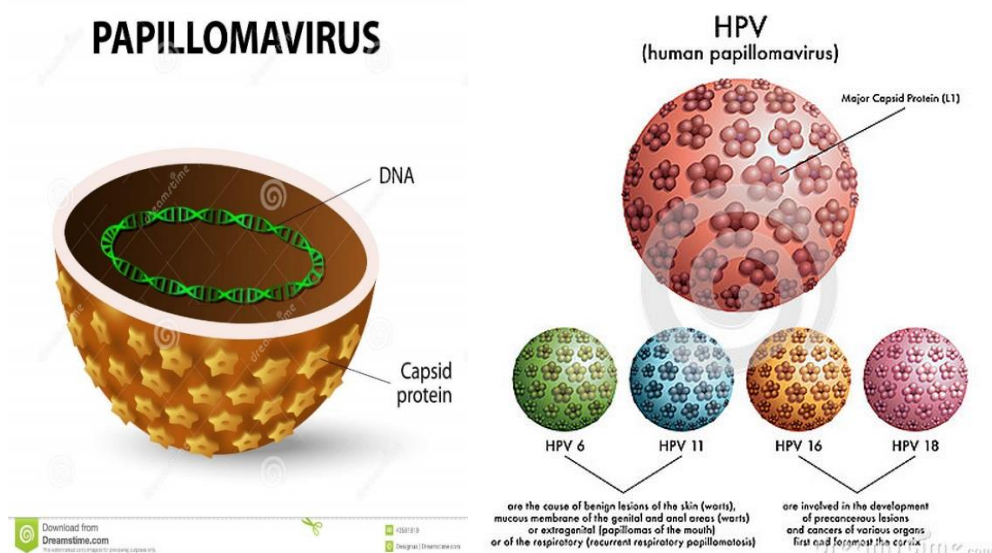
CARACTERÍSTICAS DEL VPH

El virus del papiloma humano (VPH) o papilomavirus, son un grupo heterogéneo de virus que constituyen la subfamilia Papovavirinae y junto con la subfamilia Polyomavirinae forman la familia Papovaviridae; son partículas icosaédricas sin envoltura, con un diámetro aproximado de 55 nm, que contienen un genoma de ADN de doble cadena, circular, covalentemente cerrado, de 7.500 a 8.000 pares de bases y se completa con histonas celulares (Mandato, y otros 2003). Su estructura anatómica se puede observar en (Grafico N°1)

La cápside viral es de simetría icosaédrica sin envoltura y está formada por dos proteínas: La proteína L1 o mayor y la proteína L2 o menor. El genoma del VPH, es ADN circular de doble cadena con un tamaño de 8 kb. Funcionalmente el genoma del VPH se puede dividir en 3 regiones diferentes: Una región temprana E (Early), una región tardía L (Late) y región larga de control LCR (Long Control Región) (Lizano, Carrillo y Contreras Paredes, Infeccion por Virus del Papiloma Humano: Epidemiología, historia natural y carcinogenesis. 2009).

Grafico No .1

Estructura atómica de los Papilomavirus y Virus del Papiloma Humano



Fuente: Rob3000. Dreamstime.com

El virus del Papiloma Humano infecta epitelios y mucosas, algunos tipos pueden causar verrugas o papilomas, los cuales son tumores benignos (no cancerosos); mientras que otros pueden generar infecciones subclínicas, que pueden dar lugar a cáncer cervical, de vulva, vagina y ano en mujeres, o cáncer de ano y pene en hombres (Leon y Bosque Diego 2005) (CDC 2013)

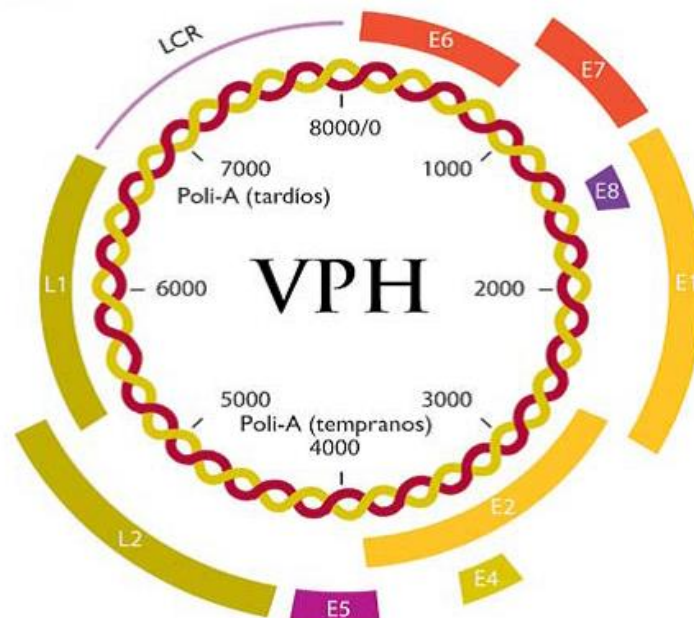
Estructura molecular del VPH

El virus del papiloma Humano es un virus de ADN circular de doble cadena, el cual se divide en tres regiones:

- Una región temprana E (Early) la cual codifica para las proteínas virales (E1, E2, E4, E5, E6 y E7), necesarias para la replicación del ADN viral, la regulación de la transcripción y la transformación e inmortalización celular
- Una región tardía L (Late), que codifica para las proteínas estructurales (L1 y L2) son importantes y requeridas para ensamblar el virión.
- Una región reguladora conocida como región larga de control LCR (Long Control Región), que contiene la secuencia de ADN que permite el control de la replicación y expresión del genoma viral (Lizano, Carrillo y Contreras, *Infección por Virus del Papiloma Humano: epidemiología, historia natural y carcinogénesis* 2009) Ejemplo de la organización del genoma viral se muestra en (Grafico N°2)

Grafico 2

Estructura Molecular del Virus del Papiloma Humano: Organización del genoma de VPH



Fuente: *The Health's Professionals HPV HAND-BOOK, I: Human Papillomavirus and cervical cáncer.2004. The European Consortium for Cervical Cancer education. Tyaloy & Francis Group.*

Cerca de 100 distintos VPH han sido molecularmente clonados y secuenciados. A continuación se describen las proteínas que lo constituyen.

Proteínas codificadas por la región E.

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 (López y Lizano 2006) (ESCOBAR 2010)

- **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 (Lizano, Carrillo y Contreras Paredes, Infección por Virus del Papiloma Humano: Epidemiología, historia natural y carcinogenesis. 2009) (ESCOBAR 2010).

Proteínas codificadas por la Región L

- **La Proteína L1**, conocida como la proteína mayor, con un tamaño aproximado de 55 kDa y ocupando el 80% del total de la proteína viral, 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

- **La Proteína L2** llamada también proteína menor de VPH, con un tamaño de 70 KDa, participa en el proceso de encapsidación mediante el reclutamiento de pentámeros de L1 y del genoma viral, importante en la infección por VPH ya que facilita la penetración de los viriones y el crecimiento celular de los VPH (López y Lizano 2006).

Historia natural del cáncer cérvicouterino

Los pasos en el desarrollo de cáncer de cuello uterino involucran 4 pasos: 1) la infección por HPV; 2) persistencia; 3) progresión a lesiones precancerosas y 4) fase de invasión. De no presentarse la etapa invasiva, el proceso puede ser reversible. (Escobar 2010).

La infección por VPH esencialmente es una enfermedad de transmisión sexual. De esta manera, tanto hombres como mujeres están involucrados en la cadena epidemiológica de la infección, pudiendo ser acarreadores asintomáticos, transmisores y también víctimas de la infección por VPH (Lizano, Carrillo y Contreras, Infección por Virus del Papiloma Humano: epidemiología, historia natural y carcinogénesis 2009).

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).

La historia natural del cáncer cérvicouterino la progresión gradual de una serie de etapas secuenciales en que las células del cérvix presentan ciertas anormalidades 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 (Woodman, Collins y Young 2007).

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.

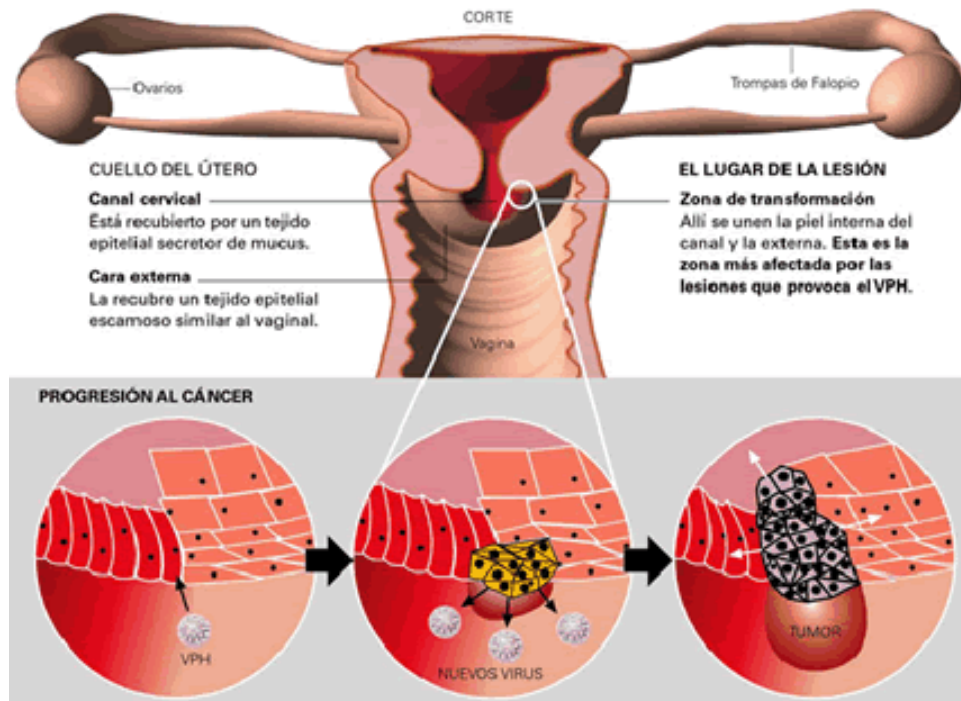
Ciclo de vida de VPH

El ciclo de vida de infección productiva, que da lugar a los condilomas o verrugas y lesiones intraepiteliales de bajo grado, posee tres pasos fundamentales

- 1.- Establecimiento de la infección en la capa basal
- 2.- inducción de proliferación y amplificación del genoma viral en la capa suprabasal
- 3.- Ensamblaje y liberación de partículas virales en la capa granular del epitelial (Reina, Muñoz y Sánchez 2008) Ver gráfico N° 3

Grafico N° 3

De la infección por HPV al cáncer cérvicouterino.



Fuente: Taringa.net

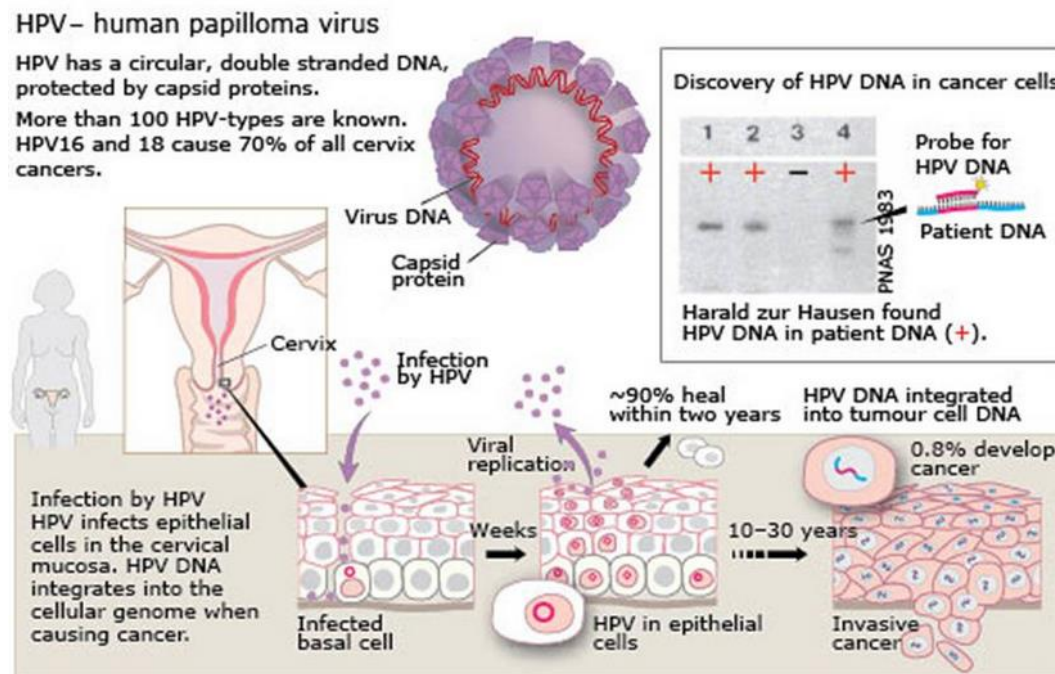
Inicialmente, el virus invade las células basales mediante los proteoglicanos de heparán sulfato con ayuda de la integrina $\alpha 6$ y utiliza la capacidad replicativa de esta célula, para replicar el ADN viral que se mantiene en forma de plásmido en el núcleo de la misma. Las proteínas E1 y E2 son 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, Muñoz y Sánchez 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, Muñoz y Sánchez 2008) ver gráfico N°4.

Gráfico N° 4

Replicación del Virus del Papiloma Humano en el cuello del útero.



Fuente: <http://imagenesparamifacebook.net/wp-content/uploads/2014/03/papiloma2.jpg>

Factores de riesgo

Es conocido que el VPH es el principal agente etiológico del cáncer cérvicouterino, sin embargo, la presencia de otros factores tanto exógenos como endógenos pueden incrementar en asociación con el virus el riesgo de desarrollar esta enfermedad. Estos factores pueden ser clasificados en tres grupos:

- 1) Factores del hospedero:** comportamiento sexual (uso de preservativo, número de parejas sexuales, inicio de la vida sexual) y la paridad, el status hormonal, factores genéticos y otros relacionados con la respuesta inmunitaria de la paciente.
- 2) Factores medio-ambientales o exógenos:** uso de contraceptivos orales, tabaquismo, dieta, trauma cervical, y coinfecciones con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y otros agentes de transmisión sexual.

3) Factores del virus: el tipo viral, coinfección con otros tipos y variantes, carga viral e integración (Shenal, y otros 2013) (Aguilar Fabre, y otros 2008).

Comportamiento sexual: están relacionados con 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, con llevando 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 Fabre, y otros 2008).

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 (Ovideo, y otros 2004).

Paridad: 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 escamo columnar 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 González, Pérez Piñero y Sarduy Nápoles 2014)

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 Ortiz y Morfin Maciel 2012)

Los factores hormonales pueden actuar como cofactores ya que los AHO pueden provocar un aumento en la incidencia de ectropión cérvicouterino, 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 (Sotelo Ortiz y Morfin Maciel 2012)

Fumar: 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 Serrano, y otros 2004)

Consumo de Drogas: 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 2007).

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 efectivas, un ejemplo claro es en las pacientes con infección por HIV se han observado más lesiones pre-malignas y malignas (Rodríguez González, Pérez Piñero y Sarduy Nápoles 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 (Gil de Miguel y colab 2013)

Datos epidemiológicos

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.

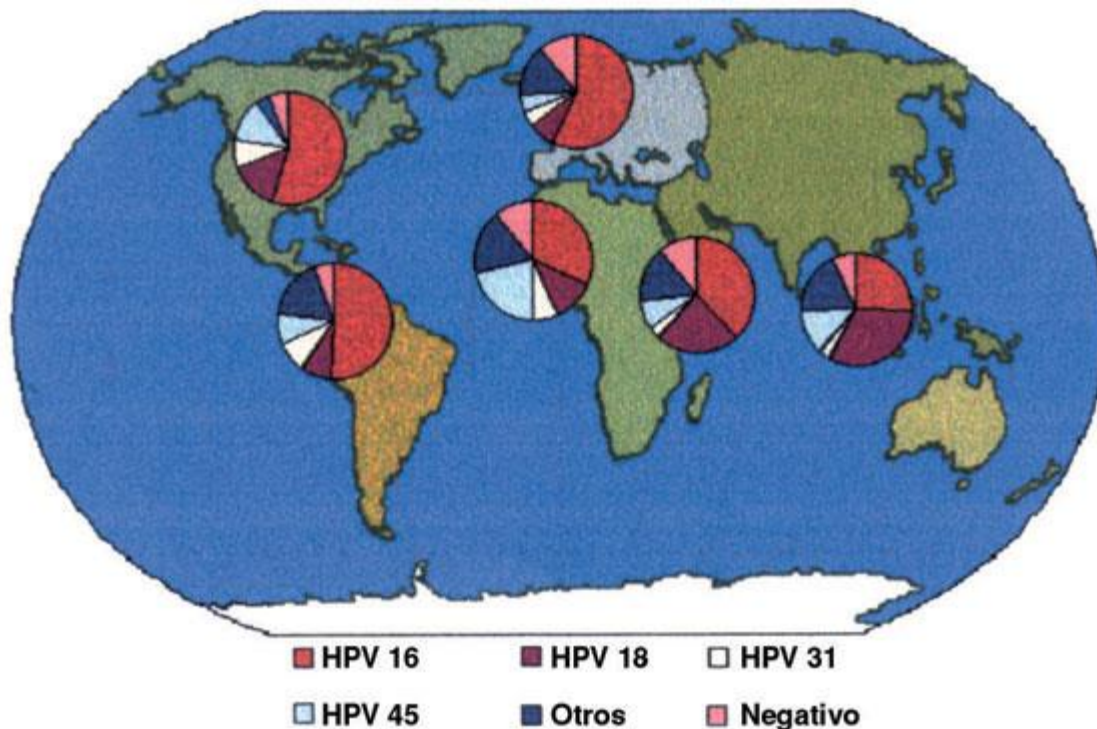
La prevalencia es mayor en mujeres menores de 25 años, y disminuye paulatinamente hasta llegar a los niveles más bajos en la cuarta o quinta década. En algunos estudios se ha observado un segundo pico después de la quinta década, que es muy común en la mayoría de los países latinoamericanos (Camacho,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

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 Z, Aguilera T y Larraín H 2002); ver gráfico N° 3

Grafico N° 3

Distribución mundial de tipos de VPH en cáncer cervical invasor



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

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%) (Sanjosé y Garcia 2006)

En el Hospital Clínico Regional Valdivia, Chile, 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 y Carola 2004).

En una investigación realizada en Chile con una muestra de 1.100 mujeres. Se encontraron 164 infecciones por VPH (en 122 mujeres infectadas); fueron más frecuentes los tipos alto riesgo que los de bajo riesgo (106 versus 58 infecciones). Noventa (54,9%) infecciones involucraron a un solo tipo de VPH. Los tipos genotipos de alto riesgo más comunes, en orden de frecuencia, fueron

VPH 16, 56, 31, 58, 59, 18, y 52, que corresponden al 82,8 % (48 de 58) de las infecciones únicas por VPH de Alto riesgo y al 75,5% (80 de 106) del total de infecciones Alto Riesgo (únicas y múltiples). En total, 122 mujeres estaban infectadas con VPH dando una prevalencia cruda de 12,8% (IC 95%). La prevalencia de VPH estandarizada para la población mundial fue 14,0% (IC 95%) (Catterina, y otros 2005).

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 , Gómez y Golijow 2003).

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 84/124 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 y Sánchez 2009).

Se investigó a mujeres con lesiones cervicales que viven en Ecuador. Un total de 71 casos, de los cuales 31 casos (43,7%) fueron VHP positivos. Entre los casos positivos, los genotipos más comunes fueron VPH 16 (64,5%) y VPH 81 (29%) seguido por VPH 31, 53, 56 y 58, en orden decreciente de prevalencia. Diecisiete (85%) VPH-16 aislados fueron clasificados como europeo y tres (15%) como variante 1 africano sobre la base de nucleótidos presente dentro de la secuencia de MY09/MY11 L1. Los resultados sugieren que el VPH 16 tiene una muy alta prevalencia entre las mujeres con lesiones cervicales en Ecuador; por lo tanto, una vacuna de VPH-16 base eficaz debe impedir el desarrollo de cáncer cervical en una gran proporción de las mujeres ecuatorianas (Tornesello ML 2009)

En Santa Elena, Guayas-Ecuador por el Departamento de Medicina de la Universidad de Indiana realizó, un estudio para determinar VPH con la prueba de reacción en cadena de polimerasa (PCR). Se estudiaron 302 participantes con una edad promedio de 37,7 años (rango de 18 a 78 años). Los serotipos más frecuentemente detectados, fueron: 16, 52, 58 y 59, 62, 71, 72 y 83. El número de parejas sexuales fue positivamente asociado con la detección de

cualquier tipo de VPH. Concluyen manifestando que se necesitan más estudios para determinar si estos resultados son representativos de todas las mujeres ecuatorianas y para determinar si el cáncer cervical en las mujeres ecuatorianas es causado por los mismos tipos de VPH encontrados en las muestras recogidas con los hisopos obtenidos en este estudio (Brown , y otros 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 , y otros 2006).

Un posterior estudio a 500 mujeres con vida sexual activa de la Ciudad de Cuenca Ecuador, 2014, 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 (Cardenas , Cabrera y Campoverde 2014).

VPH como causante del Cáncer Cérvicouterino.

Algunos VPH, como los que causan las verrugas comunes que crecen en las manos y en los pies, no se transmiten fácilmente. Sin embargo, más de 40 tipos de VPH se transmiten sexualmente, y se transmiten con mucha facilidad por medio de contacto genital, causando algunos de ellos cáncer cervical y otros tipos de cáncer. Estos se dicen VHP de alto riesgo, oncogénicos o carcinogénicos. Otros tipos de VPH que se transmiten sexualmente parecen no causar cáncer y se llaman de VPH de bajo riesgo.

Aunque las infecciones por VPH son muy comunes, casi todas aparecen sin síntomas y desaparecen sin tratamiento alguno en el transcurso de unos pocos años. Las infecciones persistentes por VPH de alto riesgo pueden causar anomalías en las células. Si no se tratan las zonas que tienen anomalías celulares, las cuales se llaman lesiones, pueden algunas veces convertirse en cáncer.

Algunos tipos de VPH de bajo riesgo de transmisión sexual pueden causar que aparezcan verrugas alrededor de los genitales o del ano. La mayoría de las verrugas genitales (conocidas técnicamente como condilomas acuminados) son

causadas por dos tipos de virus del papiloma humano, el VPH-6 y el VPH-11. Las verrugas pueden aparecer varias semanas después del contacto sexual con una persona infectada por VPH, o es posible que se tarden varios meses o años en aparecer; o puede ser que nunca aparezcan.

Las infecciones persistentes por VPH se consideran ahora como la causa prácticamente de todos los casos de cáncer cervical. El cáncer cervical es diagnosticado en cerca de medio millón de mujeres cada año en el mundo, y cobra 250 000 vidas anualmente. Se ha calculado que la infección por VPH representa aproximadamente 5% de todos los cánceres en el mundo.

Además, el hecho que una mujer infectada por VPH padezca cáncer cervical parece depender de una variedad de factores (edad, inicio a temprana edad de relaciones sexuales, ETS, tabaquismo, multiparidad, inmunodepresión o toma de anticonceptivos orales) que actúan juntos con las infecciones por los tipos de VPH de alto riesgo

Tener muchas parejas sexuales es un factor de riesgo de infección por VPH. Pero, la mayoría de las infecciones por VPH desaparecen por sí solas sin causar alguna anomalía. Sin embargo, aun entre mujeres que presentan cambios anormales en las células cervicales por un tipo de infección persistente por los VPH de alto riesgo, la probabilidad de que se forme el cáncer cervical es poca, aun cuando no se dé tratamiento a las células anormales. Como regla general, en cuanto más graves sean los cambios celulares anormales, mayor será el riesgo de padecer cáncer.

Métodos de Diagnóstico del Cáncer Cérvicouterino:

El diagnostico precoz debido a la lenta evolución de la enfermedad y la accesibilidad de células del cérvix para su estudio, permite tener tiempo y herramientas para detectar y erradicar la enfermedad, lo que hace que el cáncer cérvicouterino sea una neoplasia prevenible (Concha 2007)

Entre las principales herramientas que se disponen para su diagnóstico están:

- La citología cérvicovaginal
- La colposcopia
- La histopatología
- Las pruebas moleculares para detectar ADN de papilomavirus humano

Estudio Citopatológico (PAPANICOLAOU)

Concepto: La prueba de Papanicolaou (llamada así en honor de Georgios Papanicolaou, médico griego que fue pionero en citología y detección temprana de cáncer), también llamada citología exfoliativa o citología vaginal.

Los exámenes selectivos de detección de cáncer de cérvix constituyen una parte importante del cuidado médico regular de la mujer. Es una forma de detectar células del cérvix anormales, incluso lesiones precancerosas del cérvix, así como también cánceres cervicales en etapa temprana.

Tanto las lesiones precancerosas como los cánceres de cérvix en etapa temprana se pueden tratar con mucho éxito. Se ha comprobado que los exámenes selectivos de detección rutinarios de cáncer de cérvix reducen considerablemente tanto el número de cánceres nuevos de cérvix que son diagnosticados cada año como las muertes por esta enfermedad.

El propósito principal de hacer exámenes selectivos de detección con la prueba de Papanicolaou es detectar células anormales que pueden convertirse en cáncer si no son tratadas. La prueba de Papanicolaou puede también encontrar estados no cancerosos, como infecciones e inflamación. Puede también encontrar células cancerosas. En las poblaciones que se hacen exámenes de detección con regularidad, la prueba de Papanicolaou identifica la mayoría de las células anormales antes de que se conviertan en cáncer.

Las muestras utilizadas para esta prueba se toman de tres sitios:

- Endocérnix, que es el orificio que comunica con el útero.
- Cérvix, que es la parte más externa del útero, y que comunica directamente con la vagina.
- Vagina

Informe de una citología Cérvicouterino: sistema Bethesda

El sistema Bethesda se creó en el 2001, cuyo objetivo fundamental fue utilizar una terminología uniforme y flexible con alta reproducibilidad que refleje una perfecta correlación cito-histológica y que aporte la mayor información posible para ser utilizada en protocolos para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento idóneo para la paciente

El Sistema Bethesda se divide en las siguientes secciones:

1. Tipo de espécimen: convencional (PAP- Frotis) Fase Liquida (PAP NET)
2. Calidad del espécimen. Satisfactoria – Insatisfactoria
3. Categorías generales (opcional)
4. Otros.
5. Anormalidades de las células epiteliales.
6. Pruebas auxiliares.
7. Interpretación.
8. Notas y sugerencias.

Categorización general:

- Negativa para lesión intraepitelial o malignidad.
- Anormalidad en células epiteliales.
- Otros.

1.- Negativa para lesión o malignidad, se debe reportar:

Debe especificarse el tipo de lesión identificada. Estas son:

a. Microorganismos:

- Tricomonas vaginalis.
- Hongos.
- Cambios de la flora vaginal normal sugestiva de vaginosis bacteriana.
- Consistente con Actinomyces sp.
- Efectos citopáticos por virus del Herpes simple.
- Otros.

b. Otros hallazgos no neoplásicos:

Cambios celulares reactivos asociados:

- Inflamación
- Radiación.
- DIU.
- Regeneración.
- Células glandulares post-histerectomía.
- Atrofia.
- Células endometriales (después de los 40 años de edad).
- Otros.

2.- Anormalidades en células Escamosas: Debe especificarse el tipo de lesión identificada. Estas son:

a. Células escamosas atípicas (ASC).

- Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US).
- Células escamosas atípicas que sugieren Lesión de alto grado (ASC-H).

b. Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado - LEIBG, incluye VPH/displasia leve (NIC I).

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

El método PCR se recomienda especialmente para el diagnóstico clínico y sub clínico de compañeros de mujeres con condilomas genitales o lesiones pre malignas y malignas (Palma Lazcano 2006)

La reacción en cadena de la polimerasa, cuyas iniciales en inglés son PCR ("polymerase chain reaction"), con esta metodología se puede producir en el laboratorio múltiples copias de un fragmento de ADN específico, incluso en presencia de millones de otras moléculas de ADN. Como su nombre indica, se

basa en la actividad de la enzima ADN polimerasa que es capaz de fabricar una cadena de ADN complementaria a otra ya existente. Sus únicos requerimientos son que existan nucleótidos en el medio que son la materia base para fabricar el ADN (los nucleótidos de adenina, timina, citosina y guanina), y una pequeña cadena de ADN que pueda unirse a la molécula que queremos copiar para que sirva como cebadora (el cebador, en inglés "primer").

La sensibilidad de la técnica de PCR es muy alta pero presenta algunos inconvenientes, como son que no es una técnica cuantitativa y una relativamente alta probabilidad de obtener falsos positivos por contaminación. Para solventar este último problema se ha de optimizar la secuencia de los cebadores, así como la temperatura precisa para que estos se unan al ADN en la localización correcta y realizar una adecuada manipulación de los reactivos.

Por otra parte para solventar el problema de la cuantificación se han generado unas variaciones sobre el esquema inicial de la PCR, dando lugar a lo que se conoce como PCR cuantitativa o PCR en tiempo real.

El término en tiempo real se refiere a que la detección de los productos amplificados sucede en cada ciclo de la reacción. Por su parte, el término cuantitativo hace referencia a que es posible cuantificar la cantidad de ADN en la muestra, a diferencia de la PCR punto final en donde no es posible detectar en tiempo real ni cuantificar la secuencia blanco; las ventajas son que el producto de amplificación es monitoreado conforme transcurre la reacción sin que haya la necesidad de que sea manipulado en un gel de agarosa.

En conclusión la clave en la PCR cuantitativa es la posibilidad de detectar en tiempo real la amplificación de nuestro genoma de interés. Para llevar a cabo esta detección existen varios métodos pero casi todos basados en la utilización de otro fragmento de ADN (sonda) complementario a una parte intermedia del ADN que queremos amplificar. Esta sonda lleva adherida una molécula fluorescente y otra molécula que inhibe esta fluorescencia ("quencher"), de tal forma que sólo cuando la sonda es desplazada de su sitio por acción de la ADN polimerasa la molécula fluorescente se libera de la acción del "quencher" y emite fluorescencia al ser iluminada con un láser. La cuantificación de la fluorescencia emitida durante cada ciclo de la PCR será proporcional a la cantidad de ADN que se está amplificando. En general para que sea válida esta técnica requiere realizar en paralelo una curva patrón en las mismas condiciones para conocer la cantidad total de ADN que se está amplificando.

Debido a la elevada sensibilidad de la técnica, uno de los puntos más importantes a la hora de realizar una PCR en Tiempo Real, es la calidad del material de partida. Por ello, la extracción de los ácidos nucleicos de la muestra toma un papel crítico y fundamental. Aunque en los últimos años se han hecho grandes progresos en la simplificación de la extracción y purificación de los ácidos nucleicos bacterianos y virales de muestras clínicas, todavía no se ha

encontrado un método automático universal que se pueda utilizar con cualquier tipo de muestra.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General:

Determinar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus de alto y bajo riesgos oncogénico humano, en muestras cérvicouterinas de mujeres con vida sexual activa que residen en los cantones de la provincia del Azuay Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará , 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 premalignas 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 cérvicouterinas de mujeres con vida sexual activa en 5 cantones de la provincia del Azuay según la técnica de la PCR. Genotipos de alto riesgo: 16, 18, 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 riesgo 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 riesgo oncogénico humano con los genotipos presentes en las dos vacunas existentes
- 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 este 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 Trabajo 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 Muestra y Universos

Universo:

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 de cinco cantones de los catorce cantones: San Fernando, Girón, Santa Isabel, Pucara Y Ponce Enríquez

Muestra

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 catorce 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 en 500 mujeres para los catorce cantones, teniendo en cuenta los factores de riesgos asociados

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

- Girón: 31
- San Fernando: 10
- Santa Isabel: 44
- Pucara: 24
- Ponce Enríquez: 45

Total: 154

La población que se estudió representó una muestra probabilística, estratificada primero se realizó una selección aleatoria de los sectores que conforman el área urbana de los mencionados cantones; en segundo lugar se aleatorizaron las manzanas; en tercer lugar a las mujeres en edad reproductiva de cada vivienda. Cuando las mujeres seleccionadas de una vivienda al azar no estaban presentes, no podían participar por no cumplir con los criterios de inclusión o simplemente no deseaban participar, se procedió a seleccionar a las mujeres de la siguiente vivienda.

5.3 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de Inclusión: Fueron incluidas en el estudio las mujeres que cumplían con los siguientes criterios:

- Mujeres que sean designas por aleatorización, que residían en la zona urbana de los 5 cantones de la provincia del Azuay
- Con edades entre los 17 a 50 años, que hayan tenido relaciones sexuales

- De cualquier condición social, étnica,
- Que expresaron su deseo de participar en la investigación y firmaron reflexivamente el consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- Mujeres embarazadas.
- Mujeres que se encontraban menstruando, presentaban hemorragia uterina o que su condición de salud no permitiera una exploración ginecológica para la toma de muestra cérvicouterina.
- 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 (Ver Anexo 1)

5.5 Métodos, técnicas y procedimientos

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 cérvicouterino, 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.

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 cérvicouterina 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 4).

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 contra-referencia, constan en la misma hoja de consentimiento informado que la mujer investigada firmó. Ver Anexo N°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 se 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.

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.

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.

VPH28 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 VPH28 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.

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).

Procedimiento:

Extracción de ADN de muestras de endocérvix

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

Pre- PCR

Para la realización del PCR en tiempo real, realizamos:

Preparación de PCR Mastermix, calcular para el diferente número de muestras y controles.

TOM A	X1	TOM B	X1
HPV28 A TOM A	2.5 ul	HPV28 A TOM B	2.5 ul
Anyplex PCR Master Mix (con UDG)	2.5 ul	Anyplex PCR Master Mix (con UDG)	2.5 ul
Agua libre de DNA/RNasas	2.5 ul	Agua libre de DNA/RNasas	2.5 ul
ADN muestra/ controles positivo – negativo (por cada muestra)	2.5 ul	ADN muestra/ controles positivo – negativo (por cada muestra)	2.5 ul
Volumen total	10 ul	Volumen total	10 ul

- 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
- 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”.

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 Anyplex™ II Detección de VPH 28.
- Clic en Aplicar.
- Compruebe el resultado para cada pozo.

5.6 Análisis estadístico

Los datos registrados en el formulario de recolección de la información y el resultado de los dos exámenes de laboratorio, de cada mujer investigada, fueron introducidos base de datos del Excel 2010, se dispuso para ello de la colaboración de un médico con especialidad en Bioestadística. El modelo estadístico que se utilizó corresponde al de los estudios de prevalencia y correlación. Se determinó: frecuencias, porcentajes, para determinar la prevalencia del VPH de acuerdo a la edad. Se correlaciono las frecuencias de los diferentes genotipos del VPH con los genotipos de las dos vacunas existentes para evitar las infecciones malignas y benignas causadas por el papiloma virus

humano (Cervarix 16 y 18) y Gardasil (6,11, 16,18). Para valorar la relación de los genotipos con los factores de riesgo se utilizó el Odds Ratio (OR) y el intervalo de confianza del 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.

Para cumplir este propósito se procedió a recibir 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 de Consentimiento Informado y los resultados obtenidos fueron utilizados con extrema confidencialidad precautelando los derechos de las pacientes.

6 RESULTADOS.

6.1 Tabla N°1

Características demográficas y socioeconómicas de 154 mujeres de cinco cantones de la provincia del Azuay, 2013 – 2014.

CANTON DE RESIDENCIA	N°	%
GIRÓN	31	20,1
PONCE ENRÍQUEZ	45	29,2
PUCARA	24	15,6
SAN FERNANDO	10	6,5
SANTA ISABEL	44	28,6
Total	154	100
ESTADO CIVIL	N°	%
CASADA	79	51,3
DIVORCIADA	12	7,8
SOLTERA	28	18,2
UNIÓN LIBRE	34	22,1
VIUDA	1	0,6
Total	154	100
EDAD	N°	%
<= 20	0	0,0
21 – 29	46	29,9
30 – 39	65	42,2
> 40	43	27,9

Total	154	100
INGRESO MENSUAL PERSONAL	N°	%
<= 340	130	84,4
341 - 680	18	11,7
> 680	6	3,9
Total	154	100
INGRESO MENSUAL DE LA PAREJA	N°	%
<= 340	94	61
341 - 680	52	33,8
> 680	8	5,2
Total	154	100
EDUCACIÓN	N°	%
NINGUNO	6	3,9
PRIMARIA	66	42,9
SECUNDARIA	65	42,2
SUPERIOR	17	11
Total	154	100

Fuente: Base de datos. Elaboración: Los Autores

El 29,3% de las mujeres que participaron en el estudio residen en el cantón Ponce Enríquez como el más representativo de los cantones estudiados, el 6,5% corresponde al cantón San Fernando. El 42,2% corresponden al grupo etario de 30- 39 años, apenas el 1,9% fue menores de 20 años; el 51,3% son casadas; el 84,4% tiene un promedio de ingreso mensual por pareja de menos de \$340; el 42,9% una educación primaria y el 42,2% secundaria.

6.2 Tabla N° 2

Prevalencia del VPH en la población estudiada. Azuay 2013-2014.

VPH	N°	%
NEGATIVO	118	76,6
POSITIVO	36	23,4
Total	154	100,0

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La prevalencia del VPH fue del 23,4 % en la población en estudio.

6.3 Tabla N°3

Prevalencia del VPH de alto y bajo riesgo en la población estudiada. Azuay 2013-2014

VPH	N°	%
Bajo riesgo	3	1,9
Alto riesgo	33	21,4
Total	36	23,4

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La prevalencia del VPH de alto riesgo es de 21,4% y de bajo riesgo el 1,9%

6.4 Tabla N° 4

Prevalencia de genotipos de VPH de alto riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Girón, Santa Isabel, Pucara, Ponce Enríquez y San Fernando de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Genotipo de VPH	N°	%
16	4	11,1
18	1	2,8
26	1	2,8
31	2	5,6
33	1	2,8
35	3	8,3
39	3	8,3
45	1	2,8
51	0	0,0
52	1	2,8
53	2	5,6
56	2	5,6
58	3	8,3
59	3	8,3
66	6	16,7
68	4	11,1
69	0	0,0
73	1	2,8
82	1	2,8

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

De los genotipos de alto riesgo, el 66 es el de mayor prevalencia con el 16,7%, seguido por el 16 y 68 con un 11,1% y los genotipos 35, 39, 58 y 59 con el 8,3% cada uno.

6.5 Tabla N° 5

Prevalencia de genotipos de VPH de bajo riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Girón, Santa Isabel, Pucara, Ponce Enríquez y San Fernando de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Genotipo de VPH	N°	%
6	2	5,6
11	0	0,0
40	2	5,6
42	0	0,0
43	1	2,8
44	1	2,8
54	3	8,3
61	1	2,8
70	0	0,0

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

De los genotipos de bajo riesgo el 54 es de mayor prevalencia con el 8,3%, seguido por el 6 y 40 cada uno con el 5,6% y el genotipo 61 con el 2,8 %.

6.6 Tabla N° 6

Prevalencia del VPH en cada uno de los cantones estudiados: Girón, Santa Isabel, Pucara, Ponce Enríquez y San Fernando de la Provincia del Azuay 2013-2014.

CANTON DE RESIDENCIA	NEGATIVO		POSITIVO		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%
GIRÓN	27	87,1	4	12,9	31	20,1
PONCE ENRÍQUEZ	33	73,3	12	26,7	45	29,2
PUCARA	17	70,8	7	29,2	24	15,6
SAN FERNANDO	7	70,0	3	30,0	10	6,5
SANTA ISABEL	34	77,3	10	22,7	44	28,6
TOTAL	118	76,7	36	23,4	154	100,0

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

Hay una mayor prevalencia de los casos positivos para VPH en las mujeres del cantón San Fernando con el 30%, seguido de Pucara 29,2%, Ponce Enríquez 26,7%, Santa Isabel 22,7% y Girón 12,9%.

6.7 Tabla N° 7

Genotipo de VPH de alto y bajo riesgo según diagnostico citológico de secreción cérvicouterino en mujeres con vida sexual activa de los cantones Girón, Santa Isabel, Pucara, Ponce Enríquez y San Fernando de la provincia del Azuay 2013 – 2014

Diagnóstico Citológico	VPH bajo riesgo		VPH alto riesgo		Negativo		TOTAL	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Inflamatorio	3	2,9	21	20,6	78	76,5	102	66,2
Vaginosis	0	0,0	8	38,1	13	61,9	21	13,6
Metaplasia	0	0,0	1	33,3	2	66,7	3	1,95
ASC-US	0	0,0	2	11,8	15	88,2	17	11,0
LIE-BAJO GRADO	0	0,0	0	0,0	3	100,0	3	1,9
OTROS*	0	0,0	1	12,5	7	87,5	8	5,1
TOTAL	3	1,9	33	21,4	118	76,62	154	100,00

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

Los genotipos del VPH de alto riesgo se encuentran con mayor frecuencia (38,1%) en las vaginosis y en las Metaplasia (33,3 %) y no están presentes en las lesiones Intraepiteliales de bajo grado. Los genotipos del VPH de bajo riesgo se identificaron solamente en procesos inflamatorios.

6.8 Tabla N° 8

Prevalencia de VPH por grupos de edad, en mujeres con vida sexual activa de los cantones Girón, Santa Isabel, Pucara, Ponce Enríquez y San Fernando de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

VPH	Grupos de Edad									
	> 20		20 - 29		30 – 39		> 40		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
NEGATIVO	0	0.0	33	21,4	52	33,8	33	21,4	118	76,6
POSITIVO	0	0.0	13	8,4	13	8,4	10	6,5	36	23,4

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La prevalencia de VPH positivo por grupo de edad es: 8,4 % en el grupo etario de 20 - 29 y 30 - 39 años; y del 6,5% en mayores de 40 años

6.9 Tabla N° 9

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

Grupos de edad	<20		20 – 29		30 – 39		40 y más		Total	
Genotipo VPH	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%
16	0	0,00	1	1,92	2	2,82	1	2,27	4	2,40
18	0	0,00	1	1,92	0	0,00	0	0,00	1	0,60
26	0	0,00	1	1,92	0	0,00	0	0,00	1	0,60
31	0	0,00	1	1,92	1	1,41	0	0,00	2	1,20
33	0	0,00	0	0,00	1	1,41	0	0,00	1	0,60
35	0	0,00	1	1,92	1	1,41	1	2,27	3	1,80
39	0	0,00	1	1,92	1	1,41	1	2,27	3	1,80
45	0	0,00	1	1,92	0	0,00	0	0,00	1	0,60
51	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
52	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	2,27	1	0,60
53	0	0,00	1	1,92	1	1,41	0	0,00	2	1,20
56	0	0,00	1	1,92	1	1,41	0	0,00	2	1,20
58	0	0,00	0	0,00	2	2,82	1	2,27	3	1,80
59	0	0,00	1	1,92	1	1,41	1	2,27	3	1,80
66	0	0,00	3	5,77	1	1,41	2	4,55	6	3,59
68	0	0,00	0	0,00	3	4,23	1	0,00	4	2,40
69	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	2,27	0	0,00
73	0	0,00	0	0,00	1	1,41	0	0,00	1	0,60
82	0	0,00	1	1,92	0	0,00	0	0,00	1	0,60
6*	0	0,00	1	1,92	1	1,41	0	0,00	2	1,20
11*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
40*	0	0,00	1	1,92	0	0,00	1	2,27	2	1,20
42*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
43*	0	0,00	1	1,92	0	0,00	0	0,00	1	0,60
44*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	2,27	1	0,60
54*	0	0,00	1	1,92	2	2,82	0	0,00	3	1,80
61*	0	0,00	1	1,92	0	0,00	0	0,00	1	0,60
70*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Ninguno	0	0,00	33	63,46	52	73,24	33	75,00	118	70,66
Total	0	0	52	100	71	100	44	100	167	100

*Genotipos de bajo riesgo oncogénico.

Fuente: Base de datos. Elaboración: Los Autores

De los genotipos de alto riesgos, el 66 es el más frecuente de todos (5,77%) y está presente en el grupo etario de 20 – 29 años y en las mujeres mayores de 40 años (4,55%); le sigue el genotipo 68 (4,23%) en mujeres de 30 – 39 años y los genotipos 16 y 58 (2,82%) entre 30 – 39 años. De los genotipos de bajo riesgos el más frecuente es el 54 (2,82%) presente entre las edades de 30- 39 años

6.10 Tabla N° 10

Factores de riesgo asociados con VPH en mujeres con vida sexual activa de los cantones Girón, Santa Isabel, Pucara, Ponce Enríquez y San Fernando de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Factores de riesgo	Con VPH		Sin VPH		OR	IC 95%	
Edad de primera relación sexual	No	%	No	%			
< 20	30	83,33	89	75,42	1.62	0.61	4.30
20 – 25	6	16,67	21	17,80	0.92	0.34	2.44
> 25	0	0,00	8	6,78	-	-	-
Años de vida sexual							
< 5	6	16,67	17	14,41	1.18	0.43	3.28
5 – 10	8	22,22	24	20,34	1.11	0.45	2.76
> 10	22	61,11	77	65,25	0.83	0.38	1.84
Número de compañeros sexuales							
1	18	50,00	61	51,69	0.93	0.44	1.97
2	11	30,56	36	30,51	1.00	0.44	2.25
3	5	13,89	15	12,71	1.10	0.37	3.29
> 3	2	5,56	6	5,08	1.09	0.21	5.69
Pareja masculina con varias parejas							
Si	71	197,22	20	16,95	1.18	0.45	3.07
No	26	72,22	70	59,32	1.78	0.78	4.03
No sabe	3	8,33	28	23,73	0.31	0.88	1.09
Número de gestas							
0	3	8,33	5	4,24	2,05	0.46	9.05
1	9	25,00	20	16,95	1.63	0.66	3.96
2	9	25,00	31	26,27	0.93	0.39	2.20
3 y más	15	41,67	62	52,54	0.64	0.30	1.37
Anticonceptivos hormonales							
Si	20	55,56	72	61,02	0,79	0.37	1.69
No	16	44,44	46	38,98			
Exceso de peso (recordatorio)							
Si	19	52,78	44	37,29	1.87	0.88	3.99
No	17	47,22	74	62,71			

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

Los factores de riesgo con mayor significación estadística son: número de gestas (OR 2,05; IC 95% 0,46 – 9,05), pareja masculina con varios compañeros sexuales (OR 1,78; IC 95% 0,78 – 4,03), edad de la primera relación sexual (OR 1,62; IC 95% 0,61 – 4,30), años de vida sexual (OR 1,18; IC 95% 0,43 – 3,28), y número de compañeros sexuales (OR 1,10; IC 95% 0,37 – 3,29). Los factores

de riesgo sin significación estadística fueron: Anticonceptivos hormonales (OR 0,79).

6 DISCUSIÓN

En esta investigación participaron mujeres con vida sexual activa, mayores de 20 años de edad, en su mayoría casadas, con deficientes ingresos mensuales y bajo nivel educativo, que residen en los cantones Santa Isabel, Girón, Ponce Enríquez, San Fernando, Pucará, 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, (Picón , y otros 2006) (SOLCA 2007); en otros servicios de salud (González y Sánchez 2009); y muy pocos en mujeres de población abierta y aleatorizados (Cardenas , Cabrera y Campoverde 2014), como la presente investigación. Precisamos esta situación con el propósito de anticipar que las prevalencias del VPH obtenidas en las bibliotecas virtuales, no siempre son producto de investigaciones aleatorizadas, sino de estudios no aleatorizados, realizados en mujeres que llegan a la consulta externa de los servicios de salud.

La prevalencia del VPH, en el estudio actual, es de 23,4 %, más alto que los 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 en otros países del mundo como Vietnam (2% y 11%), Tailandia (6%), Suecia (7%), y España (3%); pero es menor que la prevalencia encontrada en algunos países de África como Nigeria (28%) (Sanjosé y Garcia 2006)

Se identificaron los siguientes genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico: 66 (3,59%), 16 (2,4%), 68 (2,4%), 35 (1,8%), 39 (1,8%), 58 (1,8%) y con el 1,8% los siguientes 59, 31, 53, 56, 18, 26, 33, 45, 52, 73 y 82. Los genotipos de bajo riesgo: 54 (8,3%), 6 (5,6%), 40 (5,6%), 43 (2,8%), 44 (2,8%) y 61 (2,8%).

Estos datos son diferentes a los resultados de otros estudios realizados en el país, posiblemente porque no fueron aleatorizados en población general sino en pacientes con alteraciones del cuello uterino; 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 los genotipos 16, 31, 44 que alcanzan el 2,4%; en tanto que los genotipos 11, 34, 35, 54, 59, 62 y 67 alcanzaron apenas el 1,6% cada uno de ellos y los genotipos 18 tiene una baja prevalencia (González y Sánchez 2009). En Santa Elena - Ecuador, los tipos más frecuentemente detectados, fueron: 16, 52, 58 y 59, 62, 71, 72 y 83 (Brown , y otros 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 ML 2009)

Los genotipos que están presentes como en otros estudios a nivel nacional son los siguientes: 16, 31, 52, 53, 56, 58, 59, 66 y de alto riesgos y 6 bajo riesgo, considerados como los más frecuentes en la investigación realizada se logró identificar en común los siguientes genotipos: 66, 16, 58, 59 de alto riesgos y el genotipo 6 en los de bajo riesgos, pero también otros genotipos con un prevalencia significativa en la muestra analizada pero que no se encontraron en

los identificados a nivel nacional, entre ellos tenemos 35, 39 y 68 de alto riesgo y 40, 54 y 61 de bajo.

En el presente estudio, la prevalencia de infección por VPH en relación con los grupos etarios es del 8,4 % entre 20 - 29 y 30 - 39 años, mientras que el 6,5% en mayores de 40 años. En esta investigación no participaron mujeres menores de 20 años. 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 (Catterina, y otros 2005) (Mendoza, y otros 2012).

Los factores de riesgo para la infección por VPH con mayor significación estadística son: número de gestas (OR 2,05; IC 95% 0,46 – 9,05), pareja masculina con varios compañeros sexuales (OR 1,78; IC 95% 0,78 – 4,03), edad de la primera relación sexual (OR 1,62; IC 95% 0,61 – 4,30), años de vida sexual (OR 1,18; IC 95% 0,43 – 3,28), y número de compañeros sexuales (OR 1,10; IC 95% 0,37 – 3,29).

En la literatura investigada, varios autores plantean que se incrementa la probabilidad de infección por VPH cuando las mujeres tienen inicio temprano de las relaciones sexuales (Aguilar Fabre, y otros 2008), promiscuidad sexual (Ovideo, y otros 2004), la multiparidad (Rodríguez González, Pérez Piñero y Sarduy Nápoles 2014), ingesta de anticonceptivos hormonales (Cordero 2007), el hábito de fumar y la ingesta de bebidas alcohólicas (Ortiz Serrano, y otros 2004), el estado nutricional deficiente (Cordero 2007); en el presente estudio no se encontraron factores de riesgos estadísticamente significativo, seguramente debidos al reducido tamaño de la muestra en vista que la investigación se realizó solamente en 5 de los 14 cantones de la provincia del Azuay.

Los genotipos del VPH presentes en las vacunas que utiliza el MSP a nivel nacional para prevenir el cáncer del cuello uterino son: 6, 11, 16 y 18 (Gardasil) 16 Y 18 (Cervarix); en el presente estudio entre los genotipos encontrados está presente el 16 en apenas el 2,4% de las muestras cérvicouterinas, el 6 en 1,2% y el 18 en 0,6% de las mujeres participantes. El genotipo 11 no fue encontrado.

7 CONCLUSIÓN

1) Los resultados de la investigación confirman la hipótesis planteada, de que la infección por el papiloma virus humano es frecuente en las mujeres con vida sexual activa que habitan en los 14 cantones de la provincia del Azuay, puesto que el 23,4 %de mujeres lo padece; en tanto que en 5 de estos cantones: San Fernando la prevalencia del VPH es de 30,0 %, en Pucara 29,2%, Ponce Enríquez 26,7% y Santa Isabel 22, 7% y en Girón es de 12,9%.

2) Es motivo de preocupación que los genotipos de alto riesgo son más frecuentes (66,16, 68, 35, 39, 58 y 59) que los genotipos de bajo riesgo (54, 6, 40 y 61), lo cual debe alertar a las autoridades sanitarias para emprender acciones preventivas y a los investigadores para profundizar las investigaciones

en miras a identificar si los genotipos de alto riesgo encontrados son o no los causantes del cáncer cérvicouterino en las mujeres de la provincia

3) Los genotipos de bajo riesgo de mayor prevalencia a nivel mundial son el 6 y el 11; en el presente estudio, el genotipo 6 apenas se encuentra en el 5,6% de las mujeres, y el 11 no identificó; los genotipos de bajo riesgo más frecuentes son 54 (8,3%), 6 y 40 (5,6%), seguido de 61 (2,8%) Los genotipos de alto riesgo de mayor prevalencia a nivel mundial son el 16 y el 18; en la presente investigación, la prevalencia del genotipo 16 es de 11,1% y del 18 es de 2,8%. Son otros los genotipos de alto riesgo que tienen una mayor frecuencia en nuestro medio, el 66(16,7%), seguido de 16 y 68 (11,1%) y con una prevalencia inferior el 35, 39, 58 y 59 (8,3% cada uno).

4) Se encontró una mayor prevalencia de infección por PVH en las mujeres que residen en San Fernando (30,0%) en comparación con las que habitan en Pucara (29,2%) y en Ponce Enríquez (26, 7%) importante para considerar acciones de carácter preventivo.

5) Al comparar la relación entre la infección por VPH de alto riesgo con los grupos etarios, se observa que las mujeres de 20 a 29, tienen una prevalencia de 8,4%; de 30 a 39 de 8,4% y más de 40 años de 6,5%. Los genotipos 68, 16 y 58 se encontraron en los grupos etarios de 30 a 39 y el 66 es más frecuente en las de 40 años y más; los genotipos 35, 39 y 59 se encontraron en los tres grupos etarios; los genotipos 31, 53 y 56 fueron identificados en el grupo de 20 - 29 y 30 - 39; mientras que los genotipos 18, 26, 45 y 82 en el grupos de 20 – 29, los genotipos 33 y 73 en el grupo de 30 - 39 y el genotipo 52 fue identificado únicamente en el grupo de 40 y más.

6) El genotipo 16 que es de alto riesgo oncogénico está presente en las mujeres de todos los grupos etarios y el 18 solo se identificó en el grupo de 20 – 29 años; diferente a otras investigaciones consultadas ya que estos genotipos son considerados los más frecuente.

7) La relación entre la infección por VPH con la presencia de otros patógenos de transmisión sexual y las lesiones epiteliales es evidente ya que los virus de alto riesgo se encuentran presente en el 20,6% de las lesiones inflamatorias, en el 13,6% de las vaginosis y en el 11% de ASCUS. Hay investigaciones científicas a nivel mundial que demuestran que los patógenos al destruir la membrana celular, permiten el fácil ingreso del VPH al citoplasma y núcleo celular.

8) Al relacionar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus de alto y bajo grado oncogénico humano encontrado en las mujeres en estudio, con los genotipos presentes en las dos vacunas, CERVARIX (genotipo 16-18) y GARDASIL (genotipos 6,11,16 y 18) que se encuentra aplicando el MSP en el

país, se concluye que las dos vacunas apenas lograrían proteger al 4,2% de la población, a pesar de aquello hay que considerar en cambio que los genotipos 16 y 18 son los que están más frecuentemente ligados al cáncer cérvicouterino; son necesarias nuevas investigaciones para demostrar si los genotipos de alto riesgo encontrados en el presente estudio son los causantes del cáncer cérvicouterino en las mujeres de la provincia.

9) Muchos investigadores concluyen que los factores de riesgos para la infección por VPH entre otros son: el inicio temprano de las relaciones sexuales, promiscuidad sexual, multiparidad, ingesta de anticonceptivos hormonales, hábito de fumar, ingesta de bebidas alcohólicas, deficiente estado nutricional, todas ellas son variables investigadas en las mujeres de la provincia del Azuay, que si bien constituyen factores de riesgo, no son estadísticamente significativas, posiblemente debidos al reducido tamaño de la muestra, en vista que la investigación se realizó solamente en 5 de los 14 cantones de la provincia del Azuay.

8 RECOMENDACIONES

- ❖ Promover la Investigación de manera que se conozca la prevalencia del VPH a nivel nacional.
- ❖ Fortalecer la educación, capacitación, investigación y asistencia sobre VPH, cáncer cervical uterino y vacunación.
- ❖ Incentivar la realización de otros estudios con intervención educativa, de manera que se involucre directamente con la población, mejorando sus conocimientos para que tomen conciencia sobre su salud.
- ❖ Investigar los genotipos del VPH en biopsias del cuello del útero de mujeres con lesiones premalignas y malignas para relacionar con los genotipos de alto riesgo encontradas en el presente estudio.
- ❖ Sería conveniente realizar estudios en el sexo masculino ya que ellos son los portadores del VPH.

9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abba , Mc, M Gómez , y Cd Golijow. «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) 35, nº 74-79 (2003).
- Aguilar Fabre, K, M Aguilar Hernandez , F Aguila Vela de Oro, m Napoles , y M Napoles . «Papiloma Virus humano.» *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecologia* 34 (2008).

- Arias , Ana, y otros. «Hallazgos en la citología vaginal y colposcopia y su asociación con infección por HPV y otros factores de riesgo para cáncer de cérvix en mujeres atendidas en entidades de manizales .» *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 2010: 151-162.
- Brown , C, y otros. «Human papillomavirus infection and its association with cervical dysplasia in Ecuadorian women attending a private cancer screening clinic.» (Brazilian Journal Of Medical and Biological Research) 42, nº 629-636 (2009).
- Camacho, D, L Reyes Ríos, y G González Ruiz. «Lesiones neoplásicas de cuello uterino en mujeres de un Universidad de Colombia.» *Hacia la promoción de la salud* 18, nº 1 (2013): 13- 25.
- Cardenas , O, J Cabrera , y A Campoverde. «Prevalencia de genotipos de papiloma virus en mujeres en Cuenca.» *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca* 32, nº 1 (2014): 6-17.
- Carrillo, A, A Mohar, A Meneses, y M Frias-Mendiviil. «Utilidad en la combinación de oligonucleótidos universales para la detección del Virus del Papiloma Humano en cáncer cervicouterino y lesiones premalignas.» Editado por SCIELO. *Instituto Nacional de Salud Pública México INSP.MX*. 46 (2003): 8-11.
- Catterina, R, y otros. «Prevalenciapoblacional y distribución por edad del Virus Papiloma Humano entre mujeres en Santiago, Chile.» *Revista de la Universidad Pontificia de Chile, Facultad de Medicina* 30, nº 1 (2005): 34-39.
- CDC. *Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades*. 23 de Enero de 2013. <http://www.cdc.gov/std/spanish/stdfact-hpv-s.htm> (último acceso: 15 de Octubre de 2013).
- Cecchini, G, y y colab. «Cervical cancer screening programs in low-income communities. Experiences from Ecuador. Low cost detection of HPV infection in a developing country.2001.» *Pubmed.*, 2011.
- Concha , M. «Diagnostico y terapia del Virus del Papiloma Humano.» (Revista Chilena de Infectología.) 23, nº 209- 214 (2007).
- Cordero, J. «Factores de riesgo para el cáncer del cuello del útero.» *Ministerio de Salud Pública Filial de Ciencias Médicas de la Habana Hospital general docente Leopoldito Martínez San José de las Lajas*, 2007: 245-255.
- De Guglielmo, S, y colab. «Evaluación, mediante RCP, de la infección por el virus de papiloma humano en muestras de pacientes con diagnóstico clínico o citológico.» *Rev. Obstet. ginecol.* (Laboratorio de Microbiología Molecular - Instituto de Biomedicina, MPPS Universidad Central de Venezuela), 2008: 240 -247.
- Escobar, M. «MODELO DE CRECIMIENTO DE LAS VARIANTES DEL VIRUS DE PAPILOMA GENOTIPO 16.» *Trabajo de grado*. Bogotá, 2010.
- ESCOBAR, M. «MODELO DE CRECIMIENTO DE LAS VARIANTES DEL VIRUS DE PAPILOMA HUMANO TIPO 16.» *Universidad de Colombia* , 2010: 4-80.

- Gil de Miguel, A, y y colab. «Guía de Vacunas en la oficina de farmacia.» 2013.
- González, F, y D Sánchez. «HPV genotyping in anogenital abnormal samples of Ecuadorian women. Department of Medicine, Hospital Metropolitano, Quito, Ecuador.» *Cancer Biomarkers* 4, nº 4-5 (2009): 225-232.
- Hernández, C, Giron, y colab. «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.» *Ministerios De Salud Publica Mexico* 47, nº 6 (2005): 423-429.
- INEC. *Anuario de nacimientos y Defunciones*. 2009.
http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Poblacion_y_Demografia/Nacimientos_Defunciones/Publicaciones/Anuario_Nacimientos_y_Defunciones_2013.pdf.
- Lagunas, Otth, y y colab. Carola . «Genotipos de HPV y prevalencia de infección en las mujeres con citología ASCUS del Hospital Clínico Regional Valdivia.» *Universidad Austral de Chile*, 2004.
- Leon, G, y O. Bosque Diego. «Infeccion por Virus del papiloma Humano y Factores relacionados con la actividad sexual en la génesis del cáncer cervicouterino.» *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecologia (SciELO)* 31 (2005): 2-8.
- Lizano, M, A Carrillo, y A Contreras. «Infección por Virus del Papiloma Humano: epidemiología, historia natural y carcinogénesis.» *SciELO (Instituto Nacional de Cancerología INCAN)* 4 (2009): 205-210.
- Lizano, M, A Carrillo, y A Contreras Paredes. «Infeccion por Virus del Papiloma Humano: Epidemiología, historia natural y carcinogenesis.» *Instituto Nacional de Cancerología* 4 (2009): 205-216.
- López, A, y M Lizano. «Cáncer cérvicouterino y el Virus del Papiloma Humano: La historia que no termina.» *Instituto Nacional de Cancerología*, 2006: 25 - 55.
- Mandado, S, W Haedo, Bienvenido Gra Oramas, Carlos Domínguez Álvarez, Sacha Lazo Del Vallín, y Ángela Elvírez Gutiérrez. «Virus del Papiloma Humano y Presntacion de un caso de carcinoma esofágico relacionado con HPV.» *Revista Mexicana de Patología Clínica* 50, nº 1 (2003): 12-19.
- Mandato P, S, W Hoedo, B Gran Oramas, C Dominguez Alvarez, S Lazo Del Valiin, y A Elvirez Gutierrez. «Virus del Papiloma Humano: Actualicion y presentación de un caso clínico de carcinoma esofágico asociado a HPV.» *Revista Mexicana de Patologia Clinica (SciELO)* 50 (2003): 12-19.
- Mendoza, LP, y otros. «Características clínico-demográficas y tipificación del virus de papiloma humano en mujeres paraguayas con citologías negativas para lesión escamosa intraepitelial.» (Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asuncion) 10, nº 1 (2012): 46- 55.
- Murillo, Zenedy , Yuli Suárez, Liliana Hinestroza, Astrid M Bedoya, Gloria Sánchez, y Armando Baena. «Conocimiento de los estudiantes y docentes de la Escuela

- de Microbiología de la Universidad de Antioquia.» (Revista Facultad Nacional de Salud Pública.) 28, nº 2 (2010).
- Ortiz Serrano, R, C Uribe Pérez, L Díaz Martínez, y Y Dangond Romero. «Factores de riesgo para cáncer de cuello uterino.» *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología* , 2004: 146-160.
- Ovideo, G, A Arpaia, A Euclides , N Seco, I Rodriguez , y Z Ramirez . «Factores de riesgo en mujeres con infección del virus papiloma humano.» *Revista Chilena de Gineco Obstetricia* 69, nº 5 (2004): 343-346.
- Palma Lazcano , I. «Epidemiología del virus del papiloma humano.» (REVISTA PACEÑA DE MEDICINA FAMILIAR) 3, nº 4 (2006): 67 - 70.
- Picón , G, H Neira, I Sánchez, A Campoverde, L Cordero, y J Ugalde. «Detección del ADN del virus del papiloma humano mediante PCR en pacientes con citología de ASCUS; instituto del Cáncer SOLCA-2005-2006.» *Revista Oncología*. 16 (2006).
- Ramírez, K. «Vacunación contra el VPH.» *REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA*, 2014: 529-532.
- Reina, J, N Muñoz, y G Sánchez. «El estado del arte en las infecciones producidas por el virus del papiloma humano.» *Colombia Médica* 39, nº 2 (2008): 196-202.
- Rivera Z, R, J Aguilera T, y A Larraín H. «EPIDEMIOLOGIA DEL VIRUS PAPILOMA HUMANO (HPV).» *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología* 67, nº 6 (2002): 501-506.
- Rodríguez González, D, J Pérez Piñero, y M Sarduy Nápoles . *Infección por el virus del papiloma humano en mujeres de edad mediana y factores asociados*. 2014. http://www.bvs.sld.cu/revistas/gin/vol40_2_14/gin09214.htm.
- Sanabria, José Guillermo y colab. «Prevalencia del virus del papiloma humano en el cuello uterino. Pinar del Río.» *Dirección Provincial de Salud Pública, Facultad de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 2004.
- Sanjosé LLongeras , S, y A Garcia Garcia. «Virus del papiloma humano y Cáncer: Epidemiología y prevención.» *Monografías de la Sociedad Española de Epidemiología*. (Gráficas Enar, S.A.), 2006.
- Serena, E, R Bologna, A Nevarez, y A Rocha. «Prevalencia del VPH en el Proceso de Malignización de Lesiones de Vías Aérodigestivas Superiores.» *Scielo*, 2011: 5-12.
- Shenal, B, L Dusek , D Cibula , M Halasica , D Drial , y J Slama . «The relationship between the cervical and anal Human Papilloma Virus Infection in Women with Cervical Intraepithelial neoplasia.» *Journal Of Clinical Virology* 54 (2013): 2005-2013.
- SOLCA. «Quinto Informe de Incidencia de Cáncer en el Cantón Cuenca.» Cuenca , 2007.



Sotelo Ortiz , B, y B Morfin Maciel. «Efectividad del factor de transferencia en pacientes con virus del papiloma humano genital persistente.» *Revista Alegria Mexico* 59, nº 3 (2012): 97 - 106.

Tornesello ML, y colaboradores. «A pilot study on the distribution of human papillomavirus genotypes and HPV-16 variants in cervical neoplastic lesions from Ecuadorian women.» *Pudmed*, 2009.

Woodman Ciaran B J, Collins S I, Young L S. «The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues.» *Natrure reviews* 7 (2007): 11 - 22.

10 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.	- Santa Isabel - Girón - San Fernando - Ponce Enríquez - Pucara
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 coilocitíticas	Resultados de la prueba de Papanicolaou	- <i>Normal (negativo)</i> - Inflamatoria-Infecciosa - ASC-US y LIE de bajo grado - <i>Cáncer</i>
<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 Girón, Santa Isabel San Fernando, Pucara, Ponce Enríquez 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 APLICADA A LA PACIENTE

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

Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvicouterinas 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:

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: Calle.
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

Factores de riesgo:

Antecedente de examen ginecológico, sin Papanicolaou:

Ninguno ☐ Último hace qué tiempo años

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 ☐ No ☐

Por 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? Meses Años

¿Cuántas dosis?: 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ ¿Qué vacuna?

Paridad

Edad del primer embarazo a término Años

Gesta 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

GIRÓN



SAN FERNANDO



SANTA ISABEL



PONCE ENRIQUEZ



PUCARÁ



ANEXO 6.- FOTOGRAFIAS DEL PROCESO DE UBICACIÓN DE PACIENTES, RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



Foto 1. Ubicación de los pacientes

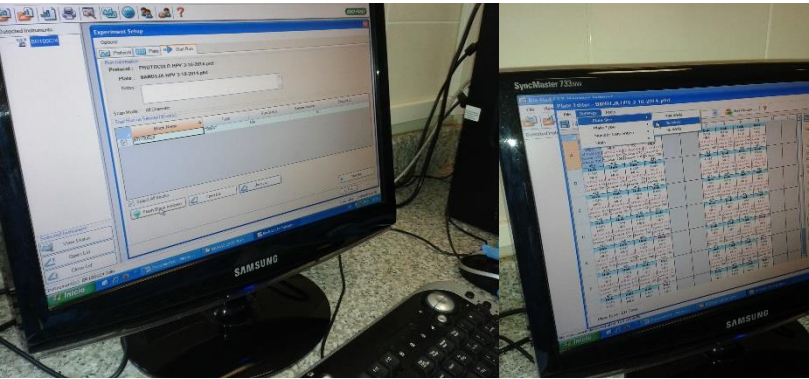
Fuente: directa



Foto 2. Recolección y procesamiento de muestras

Fuente: directa

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



Fuente: directa