



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN - MANAGUA

**Instituto Politécnico de la Salud**

**“Luis Felipe Moncada”**

**Departamento de Bioanálisis Clínico**

**Seminario de Graduación para optar al título de:**

**Licenciatura En Microbiología**

**TEMA:**

***DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS***

**SUB TEMA:**

***VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO***

**Autores:**

- Br. Magally Aracelly Muñoz Reyes
- Br. Fátima Gabriela Saballos Vado

**Tutora:** Lic. Kenia García Rosales

Licenciada en Microbiología

Managua, abril 2019.

## **DEDICATORIA**

*A Dios, nuestro padre celestial por ser el principio y el fin de nuestro existir, por habernos dado la sabiduría y fortaleza para poder llegar a cumplir una meta más en nuestras vidas y ser nuestro refugio en los momentos más difíciles que nos ha tocado vivir durante este tiempo.*

*A nuestros padres que siendo pilares fundamentales en nuestras vidas nos han apoyado, acompañado, motivado, incentivado y a través de todo su esfuerzo durante esta larga jornada nos dieron palabras de aliento para continuar con nuestra formación académica.*

*A nuestros amigos y compañeros de clases por haber compartido muchos momentos de tristeza, desesperación, alegrías, fracasos y victoria juntos apoyándonos a lo largo de nuestros estudios y a todos aquellos que por diversas circunstancias no pudieron alcanzar este objetivo junto a nosotros en especial a B.N.R.S y G.A.G.G.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Agradecemos a Dios primeramente por la salud brindada, la vida y la sabiduría para hacer posible la realización y culminación de este trabajo investigativo.*

*A nuestros padres, familiares y amigos, por todo su apoyo incondicional y emocional durante nuestra formación personal y profesional.*

*A nuestra tutora Lic. Kenia García Rosales por el tiempo, apoyo y conocimientos brindados durante todo el proceso de dicha investigación.*

*A todos ellos, Gracias...*

## ***VALORACIÓN DEL TUTOR***

El presente trabajo contiene información científica actualizada, considero es un valioso aporte bibliográfico dada la relevancia de la temática en la actualidad. Elaborado con mucho entusiasmo y esfuerzo de sus autores.

Por lo antes expuesto, a través de la presente y en calidad de tutora hago constar que el trabajo documental con el **Tema: “Diagnostico microbiológico de las enfermedades infecciosas”** y **Subtema: “Virus del papiloma humano”** presentado por las bachilleras *Magally Aracelly Muñoz Reyes* y *Fátima Gabriela Saballos Vado*, reúne los requerimientos establecidos para ser presentado al comité de evaluación.

---

Lic. Kenia García Rosales  
Departamento de Bioanálisis Clínico  
Tutora

## **RESUMEN**

El objetivo de la presente investigación fue analizar el diagnóstico del virus del papiloma humano, además se exponen las generalidades del virus del papiloma humano, los factores de riesgo relacionados con el desarrollo o evolución de la infección por VPH a cáncer de cuello uterino, así como una descripción de los métodos diagnósticos y se analizaron los genotipos de alto riesgo más frecuentes encontrados en Nicaragua del 2016-2018. Se realizó un estudio documental descriptivo, la información fue recolectada de fuentes secundarias como artículos de revista, páginas web, libros y monografías que estuvieran relacionados con el VPH. A partir del análisis de la información se concluyó que el virus del papiloma humano presenta más de 170 genotipos clasificados en bajo y alto riesgo, estos últimos causantes del cáncer cervicouterino, que a pesar de los avances en el diagnóstico aun presenta un desafío en países en vías de desarrollo debido a los múltiples factores de riesgo como la edad de inicio de relaciones sexuales, tabaquismo, paridad, respuesta inmune, edad, alimentación, entre otros. En cuanto al diagnóstico para identificación están las pruebas citológicas como papanicolau y biopsia y las pruebas moleculares para detección del ADN viral como la PCR que permite además genotipificar al virus.

Los estudios realizados en Nicaragua durante el 2016-2018 encontraron que los genotipos de VPH 16 y 18 de alto riesgo son los precursores de las lesiones asociadas al cáncer de cuello uterino lo que coincide con la literatura donde se registra que estos son los más frecuentes a nivel mundial. Sin embargo, no basta con adquirir un tipo de VPH de alto riesgo para llegar a desarrollar cáncer cervicouterino, si no, que hay muchos factores que predisponen a las mujeres a sufrir estas transformaciones malignas. Por lo tanto, es importante promover el estudio de esta patología y actualizarse sobre dicho tema con el propósito de desarrollar medidas preventivas, implementar los métodos de diagnóstico complementarios como la PCR para disminuir los rangos de morbimortalidad por esta causa en nuestro país.

## INDICE

<b>1. Introducción</b> .....	1
<b>2. Justificación</b> .....	3
<b>3. Objetivos</b> .....	4
<b>4. Desarrollo del subtema</b> .....	5
<b>4.1. Generalidades del Virus Del Papiloma Humano (VPH)</b> .....	5
4.1.1. Estructura.....	5
4.1.2. Genoma. ....	5
4.1.3. Clasificación. ....	6
4.1.4. Ciclo de replicación. ....	7
4.1.5. Fisiopatología. ....	8
<b>4.2. Factores de riesgo asociados al cáncer de papiloma humano</b> .....	12
4.2.1. Edad. ....	12
4.2.2. Inicio de Relaciones sexuales. ....	12
4.2.3. Uso de anticonceptivos orales. ....	13
4.2.4. Múltiples parejas sexuales.....	13
4.2.5. Paridad.....	14
4.2.6. Tabaquismo. ....	14
4.2.7. Co-infecciones. ....	15
4.2.8. Respuesta inmune. ....	15
4.2.9. Factores ambientales y socioeconómicos.....	16
<b>4.3. Métodos de diagnóstico del virus del papiloma humano</b> .....	16
4.3.1. Pruebas Citológicas.....	17
4.3.2. Pruebas moleculares.....	22
<b>4.4. Frecuencia de los genotipos de alto riesgo de VPH detectados en Nicaragua del 2016- 2018</b> .....	29
<b>5. Diseño metodológico</b> .....	36
<b>6. Conclusiones</b> .....	38
<b>7. Referencias bibliográficas</b> .....	39
<b>Anexos</b> .....	44

## 1. Introducción

La referencia histórica del Virus del papiloma humano remonta al año de 1983 cuando el científico alemán Dr. Harald Zur Hausen junto a su equipo de investigadores descubrieron por primera vez que el cáncer de cérvix era producido por el virus del papiloma humano.

En el año 2008 el científico alemán recibió el premio nobel Fisiología/Medicina por su hallazgo investigativo que tuvo una duración aproximada de una década debido a que desde el año 1970 este había propuesto que el virus de papiloma humano desempeñaba un papel importante en el cáncer cervical en una época en la cual todos los estudios se enfatizaban en el virus del herpes, sin embargo a pesar que enfrente diversas dificultades con los colegas que lo contradecían, logró comprobar que el virus es capaz de producir una alteración de las células que las transforma en cancerosas, identificando en los tumores la presencia de su material genético probando así el estrecho vínculo que existe entre el virus y el cáncer cervical. (Etcheverry, 2009)

Cabe señalar que, a finales de la década de 1970, se contaba ya con la tecnología de ADN, que se utilizó para aislar el genoma de los VPH identificados en las verrugas. Mediante ensayos de hibridación y restricción demostraron que los virus que aislaron de las diferentes muestras clínicas no eran todos idénticos, así que se procedió a clasificarlos por tipos en 1, 2, 3, 4 y así de forma sucesiva, según se iban descubriendo nuevos subtipos del virus. (Ochoa, 2014)

En la actualidad la utilización de las pruebas moleculares se ha venido desarrollando como métodos complementarios a la citología cervical debido a que contribuyen al diagnóstico temprano y direccionamiento hacia el tratamiento adecuado, estas pruebas permiten detectar e identificar la presencia y actividad de los VPH-AR presentes. (Arriagada, 2006)

Esta historia cada día avanza un poco más, con la utilización de las vacunas representa beneficios potenciales para disminuir la incidencia de lesiones precursoras e invasoras de cáncer de cuello uterino, disminuir la aparición de verrugas genitales y otros cánceres relacionados con el virus VPH, como los de vulva, vagina, pene y ano. Existen 2 tipos de vacunas actualmente disponibles, la bivalente que protege contra los genotipos oncogénicos 16 y 18 (Cervarix®) y la tetravalente

que adicionalmente a los genotipos 16 y 18 inmuniza contra los genotipos 6 y 11, responsables del 90% de las verrugas genitales (Gardasil®). (Nazzal & Cuello, 2014)

## 2. Justificación

El virus del papiloma humano (VPH) causa del cáncer de cuello uterino, ocupa el cuarto lugar entre los tipos más comunes de cáncer que afectan a mujeres y prácticamente todos los casos de cáncer de cuello de útero (el 99%) están vinculados con la infección genital por el VPH, que es la infección vírica más común del aparato reproductor. (OMS, 2017)

Según la (OMS, 2017) el VPH como enfermedad infecciosa, cuyos genotipos virales de alto riesgo, son los causantes de aproximadamente el 70% de los cánceres de cuello uterino a nivel mundial. En Nicaragua este cáncer representa una mortalidad de 18.3 defunciones por 100,000 mujeres, esto hace que se considere de gran relevancia, volviéndose una necesidad importante estar actualizado sobre los hallazgos de las investigaciones realizadas en Nicaragua acerca de los genotipos circulantes, por tal motivo el objetivo del estudio es analizar los genotipos del Virus del Papiloma Humano detectados en Nicaragua durante 2016- 2018, del mismo modo que analizar el diagnóstico de este (centro nacional de equidad de genero y salud reproductiva , 2016)

Además, aportar información actualizada sobre los aspectos fundamentales del VPH que permita enriquecer el conocimiento de los estudiantes y profesionales de la salud, de igual manera pueda servir como antecedente de investigaciones futuras.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo General**

Analizar el diagnóstico del Virus del Papiloma Humano.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

1. Mencionar las características del virus del papiloma humano.
2. Presentar los factores de riesgo asociados al virus del papiloma humano.
3. Describir los métodos para el diagnóstico del virus del papiloma humano.
4. Exponer la frecuencia de los genotipos de alto riesgo de VPH detectados en Nicaragua, 2016- 2018.

## 4. Desarrollo del subtema

### 4.1. Generalidades del Virus Del Papiloma Humano (VPH)

Los virus del papiloma humano comprenden un grupo de virus pequeños no envueltos con genoma de ADN de doble cadena, los cuales tiene afinidad por los tejidos epiteliales y mucosos estos pueden producir diferentes patologías entre ellas tenemos verrugas, condilomas que están asociadas con los procesos cancerígenos. (Santos, Marquez, Reyes, & Vallejos, 2015)

#### 4.1.1. Estructura.

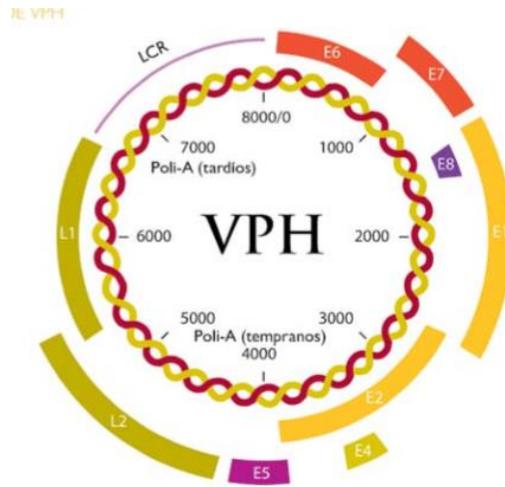
Santos et al. (2015), refiere que el virus no posee envoltura con un diámetro entre 50 – 55 nm y presenta una cápside de simetría icosaédrica compuestas por 72 subunidades llamadas capsomeros. La cápside está formada por dos proteínas estructurales: la proteína principal L1 constituye más del 75% del contenido proteico muestra propiedades antigénicas específicas y proteína menor L2 es aparentemente específica.

#### 4.1.2. Genoma.

El genoma este constituido por una molécula de ADN de doble cadena circular y se encuentra dividido en 3 regiones: región larga de control (LCR), región temprana(E) y región tardía (L). las últimas regiones deben su nombre al momento en el que se expresan durante el ciclo de replicación. (Figura 1)

- LCR, también conocida como upstream regulatory región (URR) o región no codificadora, representa 15% del genoma viral. Es responsable de la regulación de la replicación viral y controla la transcripción de algunas secuencias de la región E.
- Región E es un largo segmento que representa alrededor del 45% del genoma viral. Codifica proteínas involucradas en la transcripción viral (E2), la replicación del DNA viral (E1 y E2), la proliferación celular (E5, E6, E7), la transformación celular (E6, E7) y posiblemente en su infectividad (E4).

- La región L comprende 40% del genoma viral. L1 codifica la proteína principal de la cápside, L2 codifica la proteína menor de la cápside. (Carballal & Oubiña, 2014)



*Figura 1.* El genoma del VPH es una molécula de circular que se divide en 3 regiones: región larga de control (LCR) no contiene región codificadora, la región temprana(E) contiene genes de E1 a E8y región tardía (L) que contiene a los genes L1 y L2.

Fuente: (Saavedra & Lizano, 2014)

#### 4.1.3. Clasificación.

Según Santos et al. (2015), los papilomavirus forman una familia denominada Papillomaviridae, la cual contiene hasta el año 2013, un total de 170 miembros reconocidos como papilomavirus humanos. Los miembros están agrupados en 16 géneros, los cuales son nombrados con una letra griega como prefijo y con la terminación papillomavirus. Por ejemplo: Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus, etcétera.

En el género Alphapapillomavirus hay 15 especies, entre ellas el virus de papiloma humano 16, que, como hemos mencionado, tiene variedades genéticas que pueden ser nombradas con un número diferente

Los papilomavirus humanos que infectan la mucosa del tracto genital están ubicados en el género Alphapapillomavirus han sido divididos en dos grupos: los de bajo riesgo, que se asocian principalmente con verrugas genitales benignas y los de alto riesgo, que presentan un alto potencial oncogénico y son los agentes etiológicos del cáncer cervicouterino. (ver anexo 1)

En un trabajo multinacional (de nueve países) en 2003 se analizaron muestras de cáncer cervical de 1918 mujeres, con las cuales se propuso la clasificación epidemiológica de VPH de alto o bajo riesgo, de acuerdo con la presencia de tipos determinados en las muestras analizadas. Básicamente se propusieron 15 tipos de VPH como de alto riesgo: (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82); tres tipos como de probable alto riesgo (26, 53 y 66) y 12 como de bajo riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108).

#### **4.1.4. Ciclo de replicación.**

Carballal & Oubiña ( 2014), afirman que el virus puede penetrar a través de microabrasiones y así acceder a las capas basales del epitelio. Debido a que estas células son las únicas células del epitelio que son capaces de dividirse por lo cual constituye el blanco obligatorio del virus para inducir a lesiones persistentes.

La introducción de los viriones en la célula es iniciada por la interacción de la proteína L1 con heparán-sulfato y sindecano 3 en la superficie celular. Según Santos et al., una vez Ingresado y descapsidado, el genoma viral junto a la proteína L2 migra hacia el núcleo celular. Así se establece la infección que puede ser latente o productiva.

##### *Infección Latente.*

Posteriormente de la inoculación el genoma es transcrito en una serie de procesos complejos que involucra la presencia de múltiples promotores, patrones diversos de modificación del ARNm (splicing), así como una producción diferenciada de los mismos entre distintas células.

El genoma viral se replica solo cuando la célula basal infectada se divide y lo hace en forma autónoma siendo distribuido de forma homogénea en las células hijas y manteniendo un bajo número de copias. La E1 y la E2 son de las primeras proteínas en expresarse, lo cual genera un control en el número de copias del genoma viral episomal (no integrado al genoma celular). Esas proteínas se mantienen entre 20 y 100 copias por célula. Ambas forman un complejo para reclutar la maquinaria de polimerización celular y factores accesorios para la replicación del genoma.

### *Infección productiva.*

El virus según Santos et al., comienza a replicarse en forma independiente de la división celular y produce un alto número de copias mediante la expresión de los genes tempranos, en la capa basal del epitelio. En la capa suprabasal la expresión de los genes E1, E2, E5, E6 y E7 contribuye al mantenimiento del genoma viral e induce la proliferación celular, incrementando el número de células susceptibles de ser infectadas, lo cual redundará en una mayor producción viral.

El virus inicia la expresión de los genes tardíos en las capas intermedias y superficiales mediante la síntesis de las proteínas de la cápside viral. El ensamblaje de los genomas y las cápsides da lugar a las partículas virales completas o viriones, por lo que esta forma de infección resulta altamente transmisible. El VPH convive con la célula que infecta mientras va ocurriendo la maduración natural del epitelio, este se va multiplicando. Finalmente, la descamación de estas células conteniendo viriones del VPH sirve como vector de transmisión de la infección.

Al respecto Carballal & Oubiña (2014), nos dicen que la infección productiva se manifiesta morfológicamente con la aparición de los signos citopáticos característicos (Coilocitosis, hiperplasia, acantosis, disqueratosis) y clínicamente con el desarrollo de las lesiones proliferativas.

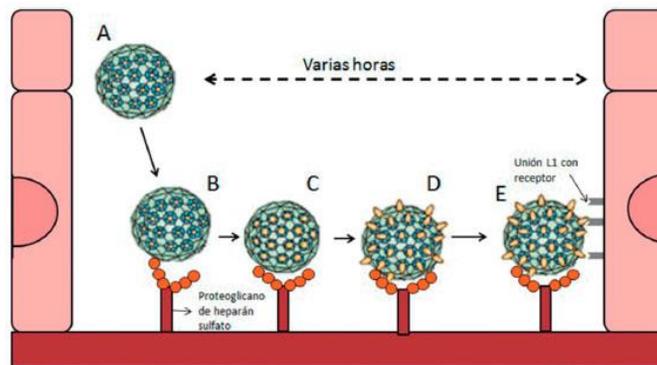
#### **4.1.5. Fisiopatología.**

El ciclo de infección del VPH va en estrecha relación con la forma de diferenciación de su hospedador natural, el queratinocito, pero la expresión de altos niveles de proteínas virales y el ensamblaje viral ocurren exclusivamente en las capas superiores, es decir, en el estrato espinoso y en el epitelio granuloso del epitelio escamoso. (Grillo, Martínez, & Morales, 2008)

El VPH penetra las células supra basales del epitelio cervical donde por transcripción y represión viral de sus genes tardíos L1 y L2 que son los inmunógenos más poderosos que el VPH sintetiza, le permite al virus escaparse del reconocimiento y la vigilancia inmune del huésped.

Como el VPH infecta queratinocitos no puede alcanzar los órganos linfoides regionales y las células de Langerhans a cargo de la inducción de la inmunidad de células T dependientes una vez infectadas con VPH no demuestran la expresión genética viral, la impresión de células T antivirales dependen de la presentación cruzada de antígenos virales por las células de Langerhans. (Alfaro & Fournier, 2013)

Al ingresar a la zona basal, el virión expone la porción N-terminal de la proteína L2 debido a un cambio conformacional de la misma, la cual le permitirá adherirse a los proteoglicanos de heparán sulfato expuestos en la membrana basal del cuello uterino. Luego, se realiza un clivaje de la proteína L2 utilizando una furina celular o una convertasa celular, exponiendo como resultado la molécula de unión con el queratinocito, la cual se presume es la proteína L1 de la cápside viral. Posteriormente, la proteína L1 realiza un cambio de forma que le permite su unión a un receptor que se considera es el complejo integrina  $\alpha 6\beta 4$  en la membrana del queratinocito permitiendo su entrada por medio de mecanismos como endocitosis mediada por clatrina, endocitosis caveolar, endocitosis independiente de clatrina o caveolas. Posteriormente el virión infectará a los queratinocitos epiteliales basales, llevando a cabo su proceso de replicación y transformando los queratinocitos en coilocitos (células infectadas) (figura 2) (Rincon, Morales, & Rincon, 2017)



*Figura 2.* Proceso de infección del virus del papiloma humano en el cuello uterino. A) Entrada del virión a la zona basal del epitelio. B) Unión del virión con los proteoglicanos de heparán sulfato disponibles en la membrana basal. C y D) Cambio conformacional de las proteínas L1 (espículas amarillas) para facilitar su unión al receptor. E) Unión del virión con el queratinocito basal.

Fuente: (Rincon, Morales, & Rincon, 2017)

La ignorancia del huésped por la infección de VPH permite que este virus replique su ciclo y de paso a VPH persistente, donde expresa las proteínas E1 y E2 asociadas a la replicación y transcripción del ADN viral. Poco después de la infección, la replicación de los episomas virales parece ser independiente del ciclo celular y se producen aproximadamente de 50 a 100 copias por célula. Se cree que la célula deja este estado primitivo para transformarse en una célula proliferativa del epitelio. En esta etapa la expresión viral es mínima, la expresión de los oncogenes virales E6 y E7 están bajo un control muy estricto, por lo que sus transcritos son escasamente detectables. Cuando el queratinocito entra al estatus de diferenciación, sale del ciclo celular e inicia

un aumento masivo en la expresión de los genes virales, formándose al menos 1000 copias de virus por célula, con abundante expresión de los genes tempranos E6 y E7 y la expresión de genes tardíos, es decir partículas virales completas.

Mientras va ocurriendo la maduración natural del epitelio, el virus se va multiplicando, las proteínas tempranas E6 y E7 que son proteínas de transformación, son capaces de inducir la proliferación de las células basales y para-basales, provocando la proliferación benigna.

Según Carballal & Oubiña (2014), en una célula normal, la proliferación es regulada estrictamente por genes promotores del crecimiento, denominados proto-oncogenes, contrabalanceados por genes que restringen la proliferación celular, conocidos como genes supresores tumorales. Cualquier alteración sobre este equilibrio podría iniciar una cascada de eventos que resultaría en una progresiva transformación maligna.

En el caso de los VPH de alto riesgo (principalmente 16 y 18) las oncoproteínas E6 y E7 presentan la capacidad de unirse con elevada afinidad y degradar las proteínas celulares supresoras tumorales p53 y pRB, la pérdida funcional de los genes TP53 y RB conduce a resistencia a la apoptosis, causando el crecimiento celular no censurado después del daño del ADN, esto finalmente resulta en la progresión a la malignidad antes mencionada. (figura 3)

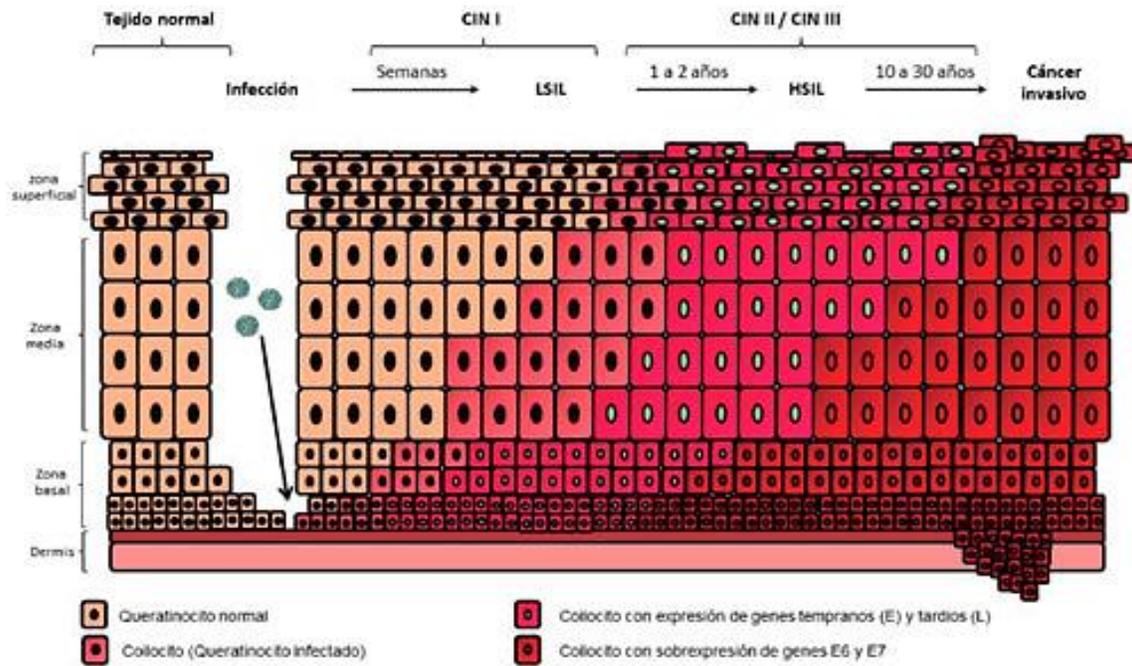


Figura 3. Progresión de la infección viral en el cuello uterino. La zona basal del cuello uterino es infectada por el VPH, el cual empezará a realizar su proceso de replicación e infección en las células adyacentes, durante este proceso el virus realiza la producción de sus proteínas oncogénicas codificadas en sus genes tempranos (E). Posteriormente el virus expresará sus genes tardíos (L) los cuales permiten establecer una infección crónica. A partir de este punto el proceso de carcinogénesis se puede clasificar por medio de la citología cervical como una lesión de bajo grado (LSIL) o CIN 1, la cual puede continuar a una lesión de alto grado (HSIL) o CIN 2/3 luego a cáncer in situ y finalmente terminará infiltrando la membrana basal del cuello uterino convirtiéndose en un cáncer invasivo.

Fuente: Rincón, et al. (2017)

La oncoproteína viral E6 también es capaz de estimular la telomerasa; la cual es una enzima de la célula que promueve la extensión de la porción final del cromosoma, con la incorporación de secuencias específicas; esto dificulta la finalización de la replicación del DNA, conduciendo a una proliferación celular indefinida. En las células somáticas normales, la telomerasa esta inactiva y los telómeros se van cortando en los sucesivos pasajes. Por el contrario, en las células germinales y tejidos neoplásicos, la telomerasa está activa, estabilizando la longitud del telómero. Algo similar sucede en las células infectadas con VPH de alto riesgo. Esto ha sugerido que la telomerasa estaría asociada a la infección por VPH, jugando un papel en la carcinogénesis (Carballal & Oubiña, 2014).

La estrategia del virus es ensamblarse en una célula que estaba destinada a morir por causas naturales; no hay citólisis inducida por el virus, no hay necrosis y de ahí que no induzca

inflamación, lo cual dificulta la activación de las células dendríticas y del inicio de una respuesta inmune efectiva. Estas estrategias virales generan infecciones crónicas por largos periodos de tiempo sin que el huésped se entere. (Zaldivar, 2012)

#### **4.2. Factores de riesgo asociados al cáncer de papiloma humano**

Según Carballal & Oubiña (2014), cada año en el mundo se detecta 300 millones de casos nuevos de mujeres infectadas con VPH, se estiman 10 millones de estos con lesiones cervicales de alto grado, sin embargo, de estos casos sólo aproximadamente 500.000 progresan a cánceres invasores de cérvix. Esto quiere decir que, aunque se produzca una infección por un tipo de VPH de alto riesgo, se necesita la conjugación de otros factores para que ocurra la transformación maligna. Algunas de los factores a contribuir, son los siguientes:

##### **4.2.1. Edad.**

Uno de los factores principales para adquirir el cáncer cervicouterino es la edad, se ha observado que este se presenta de forma más común en edades avanzadas debido a la cronicidad por infección de genotipos cancerígenos de VPH. Un estudio elaborado en Perú acerca de factores de riesgo asociados al cáncer de cérvix, arrojó en sus resultados en cuanto a la edad que la de mayor frecuencia de pacientes con carcinoma escamoso estaba comprendido por féminas del grupo etario entre los 40 y 49 años, representando el 40% de la muestra. Le sigue el grupo etario de 50 a 59 años (22,9%), el grupo etario de 60 a 69 (15,2%), el grupo etario de 30 a 39 (10,5%), el grupo de 70 a más años de edad (8,6%) y finalmente de 20 a 29 (2,9%) (Aguilar & Galvez, 2017)

##### **4.2.2. Inicio de Relaciones sexuales.**

Otro factor asociado con la evolución de la infección por VPH a transformaciones malignas está relacionado en gran medida con el comportamiento sexual, uno de los principales es el inicio de relaciones sexuales a temprana edad debido a la inmadurez del epitelio cervical, las deficiencias de flujo cervical protector y la ectopia cervical. Un estudio realizado en Cuba demostró que este virus tuvo una mayor incidencia en féminas con inicio de vida sexual antes de los 16 años (62.6%) (Puentes, Haber, Reyes, & Salas, 2014). De igual manera Aguilar & Galvez (2017) llevaron a cabo un estudio en Perú que dio como resultado que más de la mitad de las pacientes en estudio (55,2%)

con diagnóstico de cáncer cervicouterino inició su vida sexual entre los 10 y 13 años de edad, el 23% entre los 18 y 19 años, el 8,6 % entre los 16 y 17 años, el 8,6% entre los 20 y 30 años y el 5,7% entre los 14 y 15 años de edad. Haciendo evidente una asociación estadística entre dicho factor y el CCU.

#### **4.2.3. Uso de anticonceptivos orales.**

El riesgo de cáncer de cérvix invasivo aumenta con la duración del uso de anticonceptivos orales, se sugieren que los efectos inmunosupresores de estos, aumentan la evolución de las lesiones precursoras para un cáncer cérvico-uterino, de modo que el uso durante 10 años o más se asoció a un aumento de aproximadamente el doble de riesgo comparado con las mujeres que nunca habían usado anticonceptivos orales. Sin embargo, este riesgo puede disminuir después de interrumpir el uso, pero sigue existiendo una elevación significativa del riesgo incluso después de 8 años o más de suspender el uso de anticonceptivos orales. En un estudio presentado en Perú, en el cual se evaluó el uso de métodos anticonceptivos y su asociación a resultados cervico-uterinos, se observa que en el grupo de usuarias con citología cérvico uterina anormal, un 48% usaba anticonceptivos orales combinados, 25% ampolla trimestral, 17% ampolla mensual, y 10% preservativos (Lopez, 2016). Presentando el mayor porcentaje las pacientes que usaban anticonceptivos orales.

#### **4.2.4. Múltiples parejas sexuales.**

Otro factor de riesgo muy importante asociado a desarrollo de cáncer cervicouterino es el alto número de parejas sexuales que facilita la adquisición de enfermedades de transmisión sexual incluyendo el VPH. En el 2014, Rodriguez et al, realizaron un estudio desarrollado en Cuba reflejo que el mayor porcentaje (67.2%) de mujeres que presentaban infección por este virus con genotipo de alto riesgo eran las que tenían 5 o más parejas sexuales durante su vida.

Un grupo bastante vulnerable son las trabajadoras sexuales, no solo por el hecho de tener múltiples parejas, si no, que la mayoría de estas tienen en conjunto otros factores de riesgo y conocimientos deficientes de las medidas de prevención en cuanto al cáncer cervicouterino. Así lo reflejó un estudio en Cuba efectuado en servidoras sexuales donde muestran que un 100 % de estas fuman cigarrillos, mientras que el 70 % tenía infecciones vaginales con flujo, en cuanto a

antecedentes familiares de VPH y uso de anticonceptivos, ambos factores evaluados resultaron con un porcentaje bajo de riesgo ya que solo un 10 % afirmó tener antecedentes familiares de cáncer cérvicouterino por VPH y uso de anticonceptivos orales. (Rocha et al., 2012)

#### **4.2.5. Paridad.**

Un estudio realizado en la habana dejo en evidencia que una gran cantidad de mujeres que presentaban el virus había tenido 3 o más partos (53.7%), mientras que las mujeres que no presentaban el virus solo tenían 1 o 2 partos (60.2%) Rodríguez et al. (2014). Este en conjunto con otros estudios semejantes, sugieren una asociación significativa entre esta característica y la infección del papiloma virus como factor de riesgo, por el hecho de tener más lesiones intra-epiteliales mientras más embarazados tenga la mujer.

#### **4.2.6. Tabaquismo.**

Cuando una persona fuma, está expuesto a una gran cantidad de sustancias cancerígenas que son absorbidas por los pulmones y llevadas al torrente sanguíneo. Rodríguez et al. (2014), afirman: “Los componentes del humo tienen una acción carcinogénica atribuida a la nicotina y la cotinina disueltas en la sangre, que han sido detectadas en el cuello uterino y el moco cervical que inician la acción oncogénica del VPH producida por un efecto tóxico sobre las células del cérvix y estimulado por la inmunodepresión local que se produce”. esto quiere decir que una fémina que es fumadora tiene el doble de probabilidad de padecer cáncer de cuello uterino en comparación con las no fumadoras por las sustancias ya encontradas en su cuerpo.

El cigarrillo parece afectar negativamente la historia natural del VPH; la regresión las lesiones intra-epiteliales escamosas de bajo grado en un plazo de 2 años es significativamente más baja en las fumadoras que en las que nunca han fumado, sin embargo, la eliminación de la infección del VPH permanece como punto conflictivo, algunos autores mencionan que el cigarrillo no influencia la duración de la infección del VPH, pero otros reportan que retarda el aclaramiento o eliminación de la infección. El cigarrillo también afecta la sobrevida de las pacientes con cáncer cervicouterino invasivo. En un estudio se analizaron 226 mujeres con diagnóstico del cáncer ya mencionado y en este se encontró después de ajustar la edad, el estadio del cáncer, tipo histológico, raza, tratamiento recibido y habito de fumador, que hubo un 35% más de probabilidades de muerte por cualquier

causa y un 21% más de probabilidades de morir por el cáncer cervicouterino en las fumadoras activas al compararlas con las no fumadoras. (Nuñez, 2017)

#### **4.2.7. Co-infecciones.**

Las mujeres con co-infección por el VPH y otro agente de transmisión sexual, como *Chlamydia trachomatis* que actúa por inducción de inflamación crónica y metabolitos mutagénicos o virus-2 de herpes simple (HSV-2), tienen mayor probabilidad de presentar cáncer cervicouterino que las mujeres sin co-infecciones. Un análisis compartido de siete estudios de casos y testigos, que examina el efecto de la infección con HSV-2 en la etiología del cáncer invasivo del cuello uterino, encontró que entre las mujeres con seropositividad para el ADN de VPH, el HSV-2 se asociaba a un riesgo unas tres veces superior de presentar cáncer cervicouterino, después del ajuste para posibles variables de confusión.

#### **4.2.8. Respuesta inmune.**

Dentro de los factores del hospedador, la respuesta inmune mediada por células constituye la principal vía de control y eliminación de las infecciones por VPH, Además de la pérdida de inmunidad natural con la edad, en los individuos se expresan diferentes formas de los antígenos leucocitarios humanos (HLA), estos son los responsables de la amplia diversidad en la selección y presentación de péptidos correspondientes para un antígeno viral. Los HLA de un individuo en particular podrían influenciar el curso natural de la infección por VPH, haciendo que ocurra la regresión, persistencia o progresión de las lesiones cervicales. Algunos datos sugieren que algunos haplotipos HLA se encuentran más frecuentemente en pacientes con lesiones graves por lo que se consideran predisponentes (DR4 y DQ) mientras que otros detectados en mujeres con infecciones que no desarrollan lesiones graves se consideran haplotipos protectivos (HLA DR13 Y DQ2).

Las enfermedades de tipo inmunodepresoras son un factor fundamental para el desarrollo de una infección por VPH a cáncer cervicouterino, una de las principales es el VIH, en donde se manifiesta un incremento de lesiones pre-malignas y malignas. (Arevalo, Arevalo, & Villaroel, 2017)

De igual manera el estado nutricional se considera relevante, este puede influir en la progresión de la infección por VPH y algunos factores dietéticos pudieran relacionarse con la carcinogénesis. La

reducción de los antioxidantes en la dieta ha sido considerada como influyente en la infección. En la medida que la ingestión de alimentos con alto contenido en vitamina A, y especialmente en retinol, se asoció con la reducción de desgarros del epitelio que pueden producirse durante el parto y por sus propiedades antioxidantes parece que reducen el riesgo de infección. Los folatos, la vitamina B6, la vitamina B12 y la metionina también pueden ejercer algún efecto en la prevención del cáncer de cuello uterino. Rodríguez et al. (2014)

#### **4.2.9. Factores ambientales y socioeconómicos.**

Se considera que una baja condición socioeconómica es un factor de riesgo de numerosos problemas de salud, incluido el cáncer cervicouterino; en particular, en entornos de bajos recursos. Las mujeres con una baja condición socioeconómica a menudo tienen bajos ingresos, limitaciones para acceder a los servicios de atención de salud, nutrición deficiente y escasa concientización acerca de los temas de salud y de una conducta preventiva. Todos estos factores pueden hacerlas más proclives a enfermarse o a padecer enfermedades que pueden prevenirse, como el cáncer cervicouterino.

En uno de los estudios principales realizados en Nicaragua y tomados para analizar en esta investigación se muestra la positividad o negatividad del VHP en las pacientes según su escolaridad y en los resultados se muestra que el 60% de las mujeres con VHP positivo tenían solamente escolaridad primaria, 40% escolaridad secundaria y de nivel universitario no se encontraron mujeres positivas. Por lo tanto, el bajo nivel de escolaridad y la falta o la poca educación sexual y reproductiva que se imparte desde las escuelas primarias, secundarias y universidades incide en una manera tal, en que no se realicen chequeos médicos periódicos o creando malos hábitos sexuales, ya sea con una o varias parejas. (Perez, Vargas, & Zuniga, 2017)

#### **4.3.Métodos de diagnóstico del virus del papiloma humano**

(Saavedra & Lizano, 2014) afirman que los principales métodos utilizados para el diagnóstico son técnicas citológicas como el Papanicolaou que busca cambios celulares en el cuello uterino, sin embargo, se han venido desarrollando otros procesos moleculares que han sido de gran ayuda para la detección de los tipos oncogénicos del virus.

Según la American Cancer Society (2017), las mujeres entre los 21 y 29 años deben hacerse la prueba de Papanicolaou cada 3 años para detectar cáncer y pre-cánceres de cuello uterino. Estas mujeres no deben hacerse la prueba de VPH junto con la prueba molecular, ya que el VPH es tan común en las mujeres de estas edades que no resulta útil hacer este tipo de pruebas. Del mismo modo recomendó que mujeres de 30 a 65 años pueden realizar pruebas moleculares en conjunto con el papanicolau cada 3 o 5 años para fortalecer el diagnóstico temprano del virus.

### **4.3.1. Pruebas Citológicas**

#### ***4.3.1.1. Papanicolau.***

La American Cancer Society (2017) , afirma que este examen consiste en observar cambios en las células descamadas o células anormales del cuello uterino. Las células se obtienen mediante cepillado o raspado ligero del cuello uterino que luego se envían a un laboratorio y se examinan al microscopio para ver si las células son normales o si se pueden observar cambios en ellas. La prueba de Papanicolaou es una excelente prueba para encontrar células cancerosas y células que se pudieran convertir en cáncer.

El sistema utilizado para describir los resultados de la prueba de Papanicolaou es el Sistema Bethesda, en el cual existen tres categorías principales, algunas de las cuales se dividen en sub-categorías: Negativo para lesiones intraepiteliales o cáncer, Anomalías de las células epiteliales.

#### *Negativo para lesiones intraepiteliales.*

Significa que no se detectaron lesiones intraepiteliales ni células malignas u otra anomalía, además se deben reportar otros hallazgos detectados como organismos ya sea hongos, *Trichomonas vaginalis*, cambios en la microbiota compatible con una vaginosis y cambios celulares compatibles con herpes, de igual forma en algunos casos se pueden encontrar cambios celulares reactivos asociados con inflamación, radiación entre otros.

#### *Anomalías de las células epiteliales.*

Esto significa que las células que recubren el cuello uterino o la vagina muestran cambios que pudieran ser indicativos de cáncer o de alguna afección precancerosa. Esta categoría se divide en varios grupos para las células escamosas y las células glandulares.

#### *Anomalías de células escamosas.*

En esta categoría observaran células escamosas atípicas (ASC) que pueden tener diferentes condiciones por esto se debe diferenciar de la siguiente manera:

Células escamosas atípicas de importancia incierta (ASC-US) que consta de células que lucen anormales, pero que no es posible saber si esto se debe a infección, irritación o es un pre-cáncer, aunque se requiere de más pruebas para confirmar.

Células escamosas atípicas en las que el alto grado de lesión intraepitelial escamosa (HSIL) no puede ser excluido (ASC-H): cuando las células parecen anormales, pero causa más preocupación que se trate de un posible pre-cáncer que requiera más pruebas y que podría necesitar tratamiento.

Lesiones intraepiteliales escamosas (SIL) se pueden encontrar de dos formas la SIL de bajo grado (LSIL) en la cual las células se ven ligeramente anormales y el SIL de alto grado (HSIL) en este caso las células se observan significativamente anormales son más propensas a convertirse en cáncer con el pasar del tiempo si no se recibe tratamiento.

Carcinoma de células escamosas: este resultado indica que la mujer tiene mayores probabilidades de padecer un cáncer invasivo.

#### *Anomalías de células glandulares.*

Células glandulares atípicas: cuando las células glandulares no lucen normales, pero tienen características que causan inquietud sobre la posible presencia de un cáncer.

Adenocarcinoma: es indicador de un cáncer a través de este se puede las células puede revelar si el adenocarcinoma comenzó en el endocervix, en el endometrio o en alguna otra parte del cuerpo

El grado de detección del método depende fundamentalmente de la capacidad técnica del personal de salud encargado de la toma del material citológico y de la capacidad diagnóstica del citopatólogo que examina el extendido en el laboratorio.

#### **4.3.1.2. Colposcopia.**

Según la OPS/OMS (2016), la colposcopia es un método que consiste en la observación directa del tracto genital inferior mediante un instrumento óptico llamado colposcopio. El colposcopio es

un instrumento designado para proveer iluminación y magnificación convenientes, que consiste básicamente en un par de binoculares o serie de lentes fijados a algún tipo de sistema de soporte.

En pacientes que presentan anormalidades el principal objetivo es identificar la lesión de donde han descamado las células anormales, así como determinar la ubicación de la lesión dentro de lo cual se especificara la extensión de la lesión, especificando límites internos y externos, con especial énfasis en la presencia o no de extensión al canal endocervical, de igual modo se intentara realizar una predicción histológica tomando biopsia dirigida de las áreas identificadas como anormales lo cual es muy importante la práctica de biopsias múltiples en la lesión para evitar omitir muestras de los puntos con mayor patología.

Las principales características para el diagnóstico colposcópico de neoplasia cervical son: la acetoblancura, los bordes y el contorno superficial de estas zonas, las características vasculares y los cambios cromáticos después de la aplicación de yodo.

En el caso de el NIC de bajo grado a menudo se observa como lesiones acetoblancas delgadas, planas, de bordes bien delimitados pero irregulares, en forma de pluma, angulosos o digitiformes, por otro lado el NIC de alto grado se asocia con zonas acetoblancas, blanco grisáceas, anchas, densas, de aspecto mate, opaco, con bordes regulares bien delimitados, que a veces pueden estar sobre elevados y dehiscentes, también pueden ser más extensas y las lesiones complejas se extienden al conducto cervical. El contorno superficial de las zonas acetoblancas asociadas con lesiones de NIC de alto grado tienden a ser menos lisas, o irregulares y nodulares. La observación de uno o más bordes dentro de una lesión acetoblanca o de una lesión acetoblanca con variaciones en la intensidad del color se asocia con lesiones de alto grado.

En cuanto a las características vasculares, como el punteado fino y los mosaicos finos en las zonas acetoblancas, pueden asociarse con NIC de bajo grado, mientras que el punteado grueso y los mosaicos gruesos en las zonas acetoblancas tienden a ocurrir en las lesiones de alto grado, además con los cambios cromático al añadir yodo las lesiones de NIC carecen de glucógeno, por lo tanto, no se tiñen con yodo y permanecen con una tonalidad color mostaza o amarillento-azafranada.

#### ***4.3.1.3.Biopsia.***

Burd & Freeborn (2016), afirman que las biopsias consisten en la extracción de células o tejidos que serán examinados por un patólogo o personal de salud capacitado para la realización de este procedimiento, estas pueden realizarse de varias maneras y pueden ser tomadas con una muestra de tejido para analizarlo, del mismo modo se puede utilizar para extraer por completo el tejido anormal o puede servir para tratar células que podrían convertirse en cáncer

La biopsia debe ser selectiva y se emplea fundamentalmente para la confirmación histopatológica de una citología o una colposcopia anormal, lo que al final permitirá plantear un tratamiento según los hallazgos, incluso e pueden usar varios tipos de biopsias para diagnosticar los cánceres o los pre-cánceres de cuello uterino, tales como:

##### *Biopsia colposcópica.*

La American Cancer Society (2016), asegura que para este tipo de biopsia, se examina primero el cuello uterino con un colposcopio para detectar áreas anormales. Se utilizan unas pinzas de biopsia para extirpar una pequeña sección del área anormal en la superficie del cuello uterino. El procedimiento de biopsia puede causar dolor con calambres leve o dolor de breve duración y es posible que presente posteriormente un ligero sangrado.

##### *Curetaje endocervical (raspado endocervical).*

Esta prueba consiste en hacer un raspado en el endocérvix al insertar un instrumento estrecho (la cureta) en el canal endocervical. La cureta se usa para raspar el interior del canal y extraer algo de tejido que luego se envía al laboratorio para un examen. Después de este procedimiento, las pacientes pueden sentir retorcijones y también pueden presentar algo de sangrado.

##### *Biopsia de cono.*

En este procedimiento, también conocido como conización, el doctor extrae del cuello uterino un fragmento de tejido en forma de cono. La base del cono está constituida por el exocérvix y la punta o ápice del cono está formada por el canal endocervical. El tejido que se extirpa en el cono incluye la zona de transformación Una biopsia de cono también se puede usar como tratamiento para extirpar por completo muchos pre-cánceres, así como tumores cancerosos en etapas muy

tempranas. Realizar una biopsia de cono no evitará que la mayoría de las mujeres queden embarazadas, pero si se les extirpa una gran cantidad de tejido, pueden tener un mayor riesgo de partos prematuros.

Los métodos que se utilizan comúnmente para las biopsias de cono son el procedimiento de escisión electroquirúrgica con asa (LEEP, por sus siglas en inglés), también conocido como escisión con asa grande de la zona de transformación (LLETZ), y la biopsia de cono con bisturí frío.

En el procedimiento de escisión electroquirúrgica con asa (LEEP, LLETZ): en este método, se extirpa el tejido con un asa de alambre delgado que se calienta mediante electricidad y que sirve como un pequeño bisturí. Para este procedimiento se emplea anestesia local.

Biopsia de cono con bisturí frío: Se utiliza un bisturí quirúrgico o un láser en lugar de un alambre calentado para extirpar el tejido.

Los resultados de las biopsias pueden tener los siguientes resultados: En la CIN1, no hay mucho tejido que luzca anormal, y se considera el pre-cáncer de cuello uterino menos grave, por otro lado, en CIN2 más tejido parece anormal y para el CIN3 la mayor parte del tejido se ve anormal lo cual representa displasia grave que incluye un carcinoma in situ.

#### ***4.3.1.4. Inspección visual con ácido acético (IVAA).***

Es un examen visual en el cual se utiliza ácido acético al 5% aplicado en el cérvix a través de este procedimiento el epitelio displásico se torna blanco y es fácilmente detectado, el funcionamiento del ácido acético es que produce una desnaturalización de las proteínas nucleares y deshidratación del tejido del citoplasma celular de manera reversible, lo que hace que los tejidos con relación núcleo, así como el citoplasma reflejan la luz blanca proyectada y aparezcas blanca más alta. (Venegas, 2017)

Ovalle, Palma, & Rosales (2015), asegura que la clasificación de los resultados de IVAA son aceto positivo en el cual se encuentran con placas blanquecinas, engrosadas y elevadas o epitelio acetoblancas, por otro lado, esta aceto negativo el cual se observara liso, rosado, uniforme y sin características especiales y por último el sospechoso de cáncer en el cual se observa crecimiento coliflor o ulcerante (Ver anexo 2)

### 4.3.2. Pruebas moleculares

Según la OPS/OMS (2016), durante los últimos tiempos se han desarrollado técnicas que aportan una mayor sensibilidad en la detección del virus debido a que este tipo de pruebas van a detectar directamente las partículas genómicas de este, del mismo modo podrán amplificar fragmento de ADN viral o mediante la detección de ARm.

Castaño & Hurtado (2015), afirman que estas técnicas consisten en un análisis cualitativo del DNA. Todas ellas se basan en la detección específica de secuencias de DNA del VPH en tejido o bien en tomas de material procedente del área a estudiar (cervix), por tanto, identificar el tipo de virus presente en la lesión. Básicamente, todas ellas consisten en enfrentar el DNA de una determinada muestra con un fragmento conocido de un ácido nucleico cuya secuencia es complementaria a la secuencia de DNA que intentamos detectar. Dicho fragmento se denomina sonda y el proceso hibridación.

Existen numerosas técnicas moleculares utilizadas para la detección del ADN del VPH, algunos de estos se han utilizado solamente para fines de investigación estas incluyen:

#### *4.3.2.1. Captura de híbridos.*

Es un ensayo de amplificación que utiliza una combinación de captura de anticuerpos y quimioluminiscencia, para la detección de señales utilizando un pool de oligosondas de ARN complementario a algunos genotipos de VPH. Formando una unión única entre ARN-ADN que es reconocida por un anticuerpo específico. (Astudillo, Flores, & Espinoza, 2014)

Según la OPS/OMS (2016), esta técnica se basa en la detección de VPH-AR por medio de la utilización de un coctel de sondas para los 13 tipos de VPH – AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68), se realiza con un anticuerpo conjugado con la enzima fosfatasa alcalina, esta solución somete a las células cervicales a una desnaturalización que expone el material genéticos, posteriormente Gutiérrez (2015), nos afirma que con el uso de un cóctel de sondas de ARN en presencia de cualquiera de estos virus se produce la formación de un híbrido ADN viral-ARN, este se identifica mediante anticuerpos específicos y una solución quimio-luminiscente que produce una emisión de luz cuando hay presencia de híbridos.

La OPS/OMS (2016), afirma que la lectura final de la señal de quimio-luminiscencia permite reportar la prueba como positiva cuando hay emisión de luz o negativa cuando no la hay. Una prueba positiva significa que la mujer ha sido infectada por alguno de los 13 tipos de VPH-AR. Esta prueba no permite identificar cuál de ellos es y tampoco si la paciente tiene uno o varios de estos tipos. La prueba de CH2 no está diseñada para dar un resultado cuantitativo; algunos estudios han utilizado el valor de Unidad Relativa de Luz (RLU) como una evaluación cuantitativa de carga viral.

#### *CareHPV.*

Según Qiagen (2014), la prueba CareHPV Test es un ensayo de hibridación de ácido nucleico con amplificación de la señal que utiliza un análisis de quimioluminiscencia por microplaca. Cuando las muestras que contienen ADN del VPH de alto riesgo están presentes, el ADN de VPH se hibrida con el ARN complementarios de la mezcla de la sonda, por medio del el soporte solido de macropartículas magnéticas se realiza la separación y eliminación del material separado e inespecífico, luego, los anticuerpos anti híbridos ligados a fosfatasa alcalina se añade para enlazar y detectar los hibridas capturados, a través de los lavados adicional se elimina el conjugado de fosfatasa alcalina separado, dejando solamente la fosfatasa alcalina enlazada, en proporción a la cantidad de ADN del VPH hibridado. Finalmente se añade un sustrato quimio luminiscente que es hidrolizado por la fosfatasa alcalina enlazada para producir luz en proporción directa a la cantidad de fosfatasa alcalina presente que a su vez se correlaciona con la cantidad de ADN del VPH hibrido que está presente

Esta prueba tiene el mismo principio que la técnica captura de híbridos y detecta 14 tipos de VPH-AR (16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68) en un formato automático y más rápido, que ha sido validado clínicamente.

#### ***4.3.2.2.Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).***

Astudillo et al. (2014), afirman que las técnicas de detección y genotipificación de VPH se basan, principalmente, en la amplificación del genoma del virus mediante PCR, este permite obtener millones de copias a partir de un fragmento de ADN particular Se han diseñado diferentes conjuntos de primers o cebos, que en su mayoría han sido dirigidos hacia la región L1 y que

permiten diferenciar, mediante sondas específicas, los tipos más frecuentes de VPH de alto, intermedio y bajo riesgo.

La detección del virus del papiloma humano por PCR utiliza los llamados primers MY09/MY11 y GP5+/ GP6+, que permiten amplificar un fragmento de aproximadamente 450 pares de bases, correspondiente a la región L1 del genoma viral, altamente conservado, por lo que es posible detectar un amplio espectro de VPH cerca de 40 tipos distintos en una única reacción, a través de este sistema la detección de los tipos de VPH será mucho más alto. (Goyes, Jaramillo, Moreira, & Moya, 2014)

De igual manera Iftner & Villa (2014), afirman que el sistema de PGMY09 / 11 que es de 10 genomas por amplificación de PCR para todos los genotipos representativos y está compuesto por dos conjuntos no degenerados de cebadores oligonucleótidos diseñado para amplificar la misma región de 450 pb del gen L1.

Según Lindeman, Perez, Garcia, & Rodriguez (2016), los métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la sensibilidad y especificidad de la técnica dependen principalmente de factores tales como el juego de oligonucleótidos empleados, el tamaño del fragmento amplificado y la habilidad de detectar múltiples tipos virales.

Según Medina, Merino, & Medina (2014), existen diferentes PCR como:

#### *4.3.2.2.1. PCR en Tiempo Real.*

La determinación de la carga viral es algo muy importante ya que existen estudios de correlación entre el porcentaje de la carga viral y el incremento de riesgo para el desarrollo de lesiones. Uno de los métodos más exactos disponibles es la PCR tiempo real, pero está sujeto a variaciones. Siendo una técnica muy interesante para estudios epidemiológicos por la información brindada.

De acuerdo con Martinez (2014), esta prueba consiste en combinar cebadores PCR específicos con sondas fluorescentes para la detección en tiempo real de los productos de amplificación, por esto permite una disminución considerable en el tiempo del diagnóstico de la infección del VPH ya que amplificación y detección se hacen de forma simultánea, existen test basado en dicho procedimiento dentro de los cuales tenemos el test Cobas HPV 4800, el Abbott RealTime, Xpert HPV, la prueba de VPH BD (Becton Dickinson).

### *Cobas HPV Test.*

La OPS/OMS (2016), señala que el Cobas 4800 es una prueba cualitativa in vitro que detecta 14 tipos de VPH-AR y que ha sido validada clínicamente. Puede detectar 12 genotipos de alto riesgo (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68), y reporta específicamente los genotipos de alto riesgo 16 y 18 con la ayuda de unos cebadores específicos para la  $\beta$ -globina. Según Rincón et al. (2017), esta técnica se realiza por medio de una PCR en tiempo real con una amplificación detectada por fluorocromos, uno para las secuencias de los 12 VPH-AR y otros diferentes para 16, 18 y  $\beta$ -globina.

Picconi (2014), afirma que la prueba presenta un formato automatizado, compuesto por el equipo cobas X para la preparación de la muestra y el cobas Z con un *software* incluido para la realización de una PCR en tiempo real que amplifica un fragmento de gen viral L1.

### *Abbott RealTime.*

De acuerdo con la OPS/OMS (2016), la prueba de VPH-AR Abbott RealTime permite detectar 14 genotipos de VPH-AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) . Esta prueba reporta, de manera separada a los otros 2 genotipos de alto riesgo, los genotipos 16 y 18. Se utiliza una mezcla de múltiples primers, o cebos, y sondas para la amplificación y detección de ADN del VPH-AR. Como control de calidad interno de las células cervicales, recogidas en citología en medio líquido, se utiliza el gen de  $\beta$  globina. El tiempo de respuesta del proceso es de 6 a 8 horas para 96 muestras y depende del método utilizado para la extracción de ADN.

### *Xpert HPV (Cepheid).*

La prueba Xpert HPV es una PCR en tiempo real que detecta simultáneamente el ADN codificante para las oncoproteínas E6/E7 de 13 tipos de VPH de alto riesgo (VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, y 68) más el VPH 66. Las muestras se procesan con cartuchos individuales en la plataforma de análisis clínico, GeneXpert de Cepheid, esta plataforma tiene una capacidad para procesar desde 1 muestra hasta 80 muestras, en una hora. Los resultados se reportan para todo los tipos de VPH de alto riesgo, así como la presencia de genotipos de VPH de alto riesgo. (OPS/OMS, 2016)

### *Becton Dickinson (BD).*

La prueba de VPH BD es una PCR en tiempo real que amplifica la región que codifica las oncoproteínas E6/ E7 de los tipos de VPH-AR y tiene validación clínica. Estas regiones están presentes durante todas las etapas de la progresión de la enfermedad y el ensayo se ha diseñado para permitir la detección de regiones específicas, según el tipo del virus, en lugar de la amplificación de las regiones genómicas detectadas con conjuntos de cebos de L1. El ensayo proporciona información individual para 6 tipos de VPH (16, 18, 31, 45, 51, y 52), al igual que la detección de todos los 14 VPH-AR. (OPS/OMS, 2016)

### *Cervista HPV HR y Cervista HPV.*

Según Lindeman et al., (2016) Cervista HPV HR es una prueba de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa de 14 tipos de VPH-AR en muestras cervicouterinas que ha sido validada analítica y clínicamente Cervista HPV 16/18 permite la detección de VPH 16 y 18, fue aprobado por la FDA en 2009 para usarla en conjunto con la citología cervical en mujeres mayores de 30 años.

Este método consta de dos reacciones isotérmicas, la primera se produce en la secuencia del ADN del VPH y la segunda produce una señal fluorescente. Incluye un control interno, el gen de la histona humana 2. El resultado informa de la presencia de alguno de los 14 genotipos VPH-AR pero no los detecta de manera individualizada. Cervista HPV 16/18 identifica los VPH16 y VPH18 individualmente.

### *Nested PCR*

Según Cortazar & Silva (2014) esta prueba consiste en dos procesos de amplificación sucesivos, de forma que en la segunda PCR se utilizan unos primers contenidos en la secuencia amplificada en la primera reacción, es decir, el producto de amplificación de la primera PCR es el molde de la segunda, se aplica cuando se quiere mejorar la sensibilidad y especificidad de la técnica, especialmente en el caso de muestras de baja calidad o con un pequeño número de copias de la secuencia a amplificar. A veces 1 ronda de PCR no da un producto único a partir de un templado complejo, apareciendo un barrido. Se puede resolver utilizando un segundo par de primers que hibriden un poco más internamente que los primeros. Se obtiene un producto único porque solo el

fragmento correcto de ADN posee los sitios correctos de hibridación para el segundo par de primers.

De acuerdo con Medina et al., 2014 hay varios autores que han demostrado el uso de la Nested PCR empleando consenso de primers es un medio de extrema sensibilidad en la detección de los conocidos y nuevos tipos de VPH.

#### 4.3.2.2.2. *Reacción en cadena de la polimerasa polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP)*

Garnica (2015), afirma que este procedimiento se usa para identificar patrones de restricción genotipo – específico de VPH, a partir de ADN amplificado en VPH de consenso post- PCR, en donde un fragmento de ADN clonado es usado como una sonda para unirse al ADN genómico en un análisis de ADN, dicha sonda se une a uno o varios fragmentos genómicos que dependen del corte que haga la enzima de restricción. Esta técnica es usada para la detección de mutaciones de uno o pocos pares de bases y pequeñas inserciones y deleciones.

Según Medina et al., 2014 La técnica molecular PCR-RFLP permite la identificación y tipificación del VPH con gran precisión y exactitud (una sola partícula viral puede ser detectada en 100 mil copias analizadas). Debido a esto, se ha sugerido como un método molecular de gran utilidad en el diagnóstico y seguimiento de la presencia y persistencia del VPH de alto riesgo.

De acuerdo con Picconi (2014) existen diversas estrategias metodológicas en la cual la mayoría tiene como blancos a los transcritos correspondientes a las oncoproteínas virales E6 y E7 dada su relevancia patogénica. A diferencia de las pruebas de ADN que solo brindan información acerca de la presencia de la infección y eventualmente del tipo viral, la detección de los ARNm de E6 y E7 permite identificar los genotipos de VPH más frecuentes en el cáncer de cérvix y además es indicativa de la expresión de dichas proteínas virales, las cuales han sido directamente asociadas a la transformación maligna.

#### *Detección de ARNm E6/E7.*

La OPS/OMS (2016) afirman que el proceso carcinogénico es regulado por las oncoproteínas E6 y E7 del VPH y, por lo tanto, la expresión excesiva de estos genes es un marcador de riesgo para cáncer de cuello uterino. Se ha postulado que la detección de la expresión de oncogenes E6/E7 podría ser más específica y predecir mejor el riesgo de cáncer que la prueba ADN-VPH.

Según Martínez & Peralta (2015) la prueba mRNA E6/E7 permite identificar precisamente la sobreexpresión de las proteínas virales del VPH. E6 y E7 se expresan durante el ciclo de vida del virus y son necesarias para su replicación, por lo que supone un mayor riesgo de lesión preneoplásica

#### *Aptima HPV assay*

Aprobada por la FDA en el 2012, identifica 14 VPH-AR mediante una PCR en tiempo real (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) en tres procesos: Primero una identificación de la secuencia de trabajo. Segundo, una amplificación mediada por transcripción utilizando la enzima RNA polimerasa, las cuales permitirán una mayor cantidad de copias de ARN, posteriormente la enzima RNA transcriptasa reversa realiza un cambio de ARN a ADNc (ADN complementario). Finalmente se realiza una PCR en tiempo real que permite la detección y posible cuantificación de la amplificación en forma de ADNc obtenido, utilizando colorantes específicos de ácidos nucleicos de doble cadena. Algunos autores han propuesto que este método podría permitir identificar a las pacientes que teniendo el diagnóstico de CIN 2 causado por un tipo de VPH-AR, desarrollarían un carcinoma escamo celular o un adenocarcinoma, pero otros autores no han observado estos resultados por lo que aun este es un tema controversial y requiere una mayor investigación al respecto. (Rincon et al., 2017)

#### *Aptima HPV 16 18/45 genotype assay*

Según Rincon et al. (2017), es una variación del Aptima HPV assay que permite la amplificación, cuantificación y genotipificación del ARNm de las oncoproteínas E6/E7 de los tipos de VPH 16, 18 y 45(28). Tiene la posibilidad de diferenciar los tipos VPH 16 de VPH 18 o de VPH 45 pero no permite la diferenciación de VPH 18 de VPH 45. El principio de la técnica es similar al anterior con la diferencia que el ARN es tomado por microparticulas magnéticas que contienen oligómeros de captura los cuales contienen secuencias específicas complementarias y cadenas de residuos de desoxiadenosina que permiten la unión del ARNm. Durante la fase de hibridación, la región desoxiadenosina del oligómero de captura y el polidesoxitimidina se unen covalentemente a las partículas magnéticas, las cuales son posteriormente retiradas del sobrenadante utilizando magnetos, separándolas del material genético para luego continuar con su transformación a ADNc.

### *Arbor Vita.*

La OPS/OMS (2016) afirma que la prueba OncoE6 es una prueba de tira de flujo lateral que detecta niveles elevados de E6 viral oncogénica como marcador biológico y podría ser utilizada como una prueba de la clasificación de mujeres positivas a la prueba de VPH (triaje).

### *P16.*

De acuerdo con Martínez & Peralta (2015) la P16 es una proteína que desacelera el ciclo celular y cuya sobreexpresión está presente de forma exclusiva en las infecciones por virus del papiloma humano de alto riesgo, por lo que se relaciona con las lesiones pre-neoplásicas del cuello uterino y con los carcinomas, y cuya determinación informa de la interacción del VPH con las proteínas reguladoras del ciclo celular y constituye un buen candidato a marcador de proliferación neoplásica.

Estas pruebas pretenden contribuir como marcadores biológicos mediante la identificación de cualquier cambio displásico o maligno inducido por VPH y permitir mejorar así la especificidad y la sensibilidad diagnóstica; sin embargo, en la actualidad el uso de estas pruebas solo se permite con fines de investigación, y no cuentan con validación clínica, por lo que los algoritmos para su uso, necesarios dentro de un programa de tamización, solo estarán disponibles a medida que exista más información.

#### **4.4. Frecuencia de los genotipos de alto riesgo de VPH detectados en Nicaragua del 2016- 2018**

El cáncer de cuello uterino constituye un importante problema de la salud pública, no solo a nivel mundial sino también en el país, donde se ha visto su incidencia, con una tendencia creciente en los últimos años; Prácticamente todos los casos de cáncer de cuello de útero (el 99%) están vinculados con la infección genital por el VPH, que es la infección vírica más común del aparato reproductor convirtiéndose en una enfermedad con una alta morbilidad y mortalidad; es uno de los procesos más complicados a los que se enfrenta la medicina, por su naturaleza compleja, diversa y multicausal (OMS, 2017)

La incidencia de este cáncer varía considerablemente de una región a otra del mundo, con diferencias de hasta 20 veces entre las incidencias más altas y más bajas. Dentro de la región en general América del Norte tiene la morbimortalidad más baja, mientras en el resto de América se observa gran variabilidad. (Marañón, Mastraña, Flores, Vaillant, & Landazuri, 2017 )

Según el centro nacional de equidad de género y salud reproductiva (2016), el cáncer de cuello uterino es la séptima neoplasia más frecuente en la población mundial y la cuarta más frecuente entre las mujeres, con un estimado de 528, 000 nuevos casos diagnosticados anualmente, 85% de los cuales se registran en países en vía de desarrollo. En América Latina esta se convierte en la segunda neoplasia más común, en mujeres con 68,818 casos anuales. (figura 4)

La incidencia en la región es de 21.2 casos por 100,000 mujeres, alcanzando valores superiores a 30 en países como Perú, Paraguay, Guyana, Bolivia, Honduras, Venezuela, Nicaragua y Surinam. La mortalidad en la región es de 8.7 defunciones por 100,000 mujeres, 75% de las 28,565 defunciones anuales por esta causa, ocurren en 6 países: Brasil, México, Colombia, Perú, Venezuela y Argentina, sin embargo, la mortalidad es más alta en Guyana (21.9), Bolivia (21.0) y Nicaragua (18.3). (centro nacional de equidad de género y salud reproductiva , 2016) (figura 5)



Figura 4. Tasas de mortalidad del cáncer cervicouterino en Norteamérica, América Latina y el Caribe.

Fuente: (OMS/OPS, 2008)

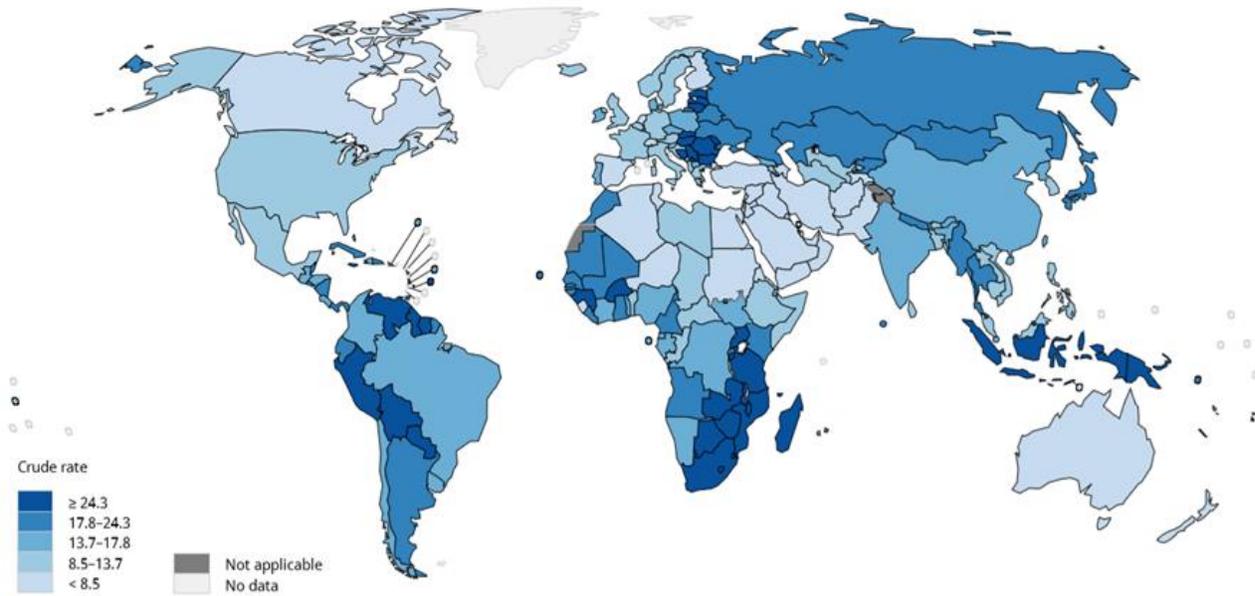


Figura 5. Tasa de incidencia del cáncer de cuello uterino en el mundo.

Fuente: (OPS/OMS, 2018)

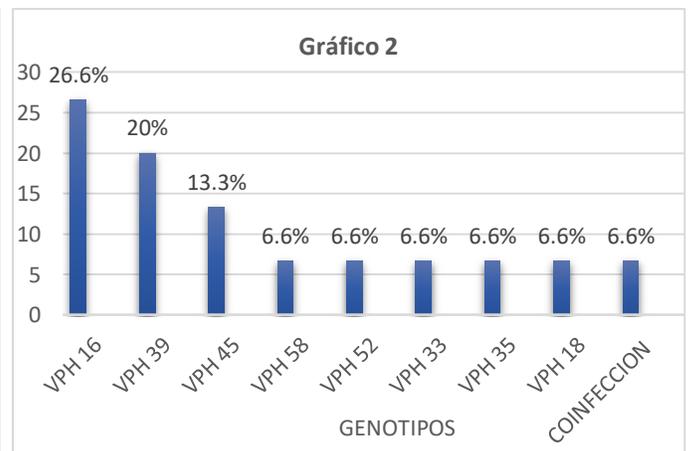
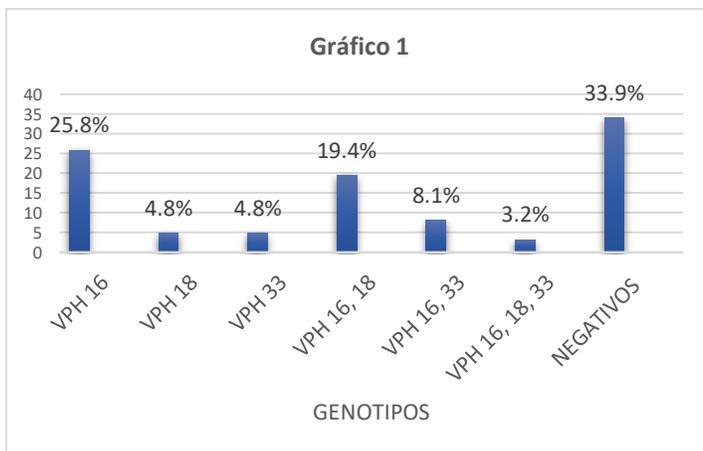
El diagnóstico y seguimiento de los casos se efectúa a partir de los resultados obtenidos en pruebas citológicas sin conocer el genotipo de VPH involucrado. En nuestro país las investigaciones acerca de los genotipos circulantes de VPH son realmente escasas, sin embargo, la UNAN-Managua como parte de los proyectos de investigación, ha desarrollado estudios sobre la estandarización del método PCR y la genotipificación del VPH de alto riesgo involucrado en el cáncer cervicouterino.

Uno de estos estudios fue realizado en el Hospital Bertha Calderón Roque donde se tomaron como muestra 62 mujeres de procedencia variada, 41 de Managua, 2 de León, 2 de Carazo, 2 de Granada, 1 de Matagalpa, 1 de Rivas, finalmente 1 de Masaya y 12 mujeres que sirvieron de control negativo, todas ellas fueron atendidas en consulta externa, dichas pacientes ya se habían realizado estudios previos como PAP, colposcopia o biopsia antes de aplicar PCR, los resultados obtenidos del PCR punto final fueron los siguientes: 66% de las muestras resultaron positivas para dicha prueba, equivalente a 41 pacientes y un 34% de resultados negativos correspondientes a 21 pacientes. De las muestras positivas al PCR punto final, se encontraron los siguientes genotipos: el que resultado con mayor prevalencia fue el genotipo 16 con un 25.80%, seguido del 18 y 33 con

un 4.8%. De igual manera se presentaron infecciones mixtas predominando el 16 y 18 con 19.4%, un 8.1% para la infección causada por VPH 16, y 33; y finalmente un 3.2% para la infección mixta de VPH 16, 18 y 33 (Garcia & Cabezas, 2016) (gráfico 1)

De igual manera se realizó otro estudio sobre la estandarización del PCR multiplex para la genotipificación del virus de VPH de alto riesgo en pacientes del Hospital Bertha Calderón Roque de Managua en el periodo de julio 2016 a marzo de 2017, las muestras analizadas fueron 42 pacientes con alteraciones citológicas en PAP de las cuales 15 pacientes equivalente al 35.7% con lesiones de alta riesgo resultaron positivas para los genotipos de VPH, de estas mujeres 13 estaban sin tratamiento y 2 de ellas con tratamientos, por otra parte 27 pacientes correspondiente a 64.2% de los de los casos resultaron negativos para los genotipos en estudio pero con alteraciones citológicas de bajo riesgo, de estas pacientes 12 no habían recibido tratamiento y 15 habían recibido tratamiento. Los genotipos de alto riesgo del VPH encontrados en este estudio fueron VPH 16 con un 26.6%, el VPH 39 con un 20%, un 13.3% para el VPH 45 y para los genotipos 18, 58, 33, 35, y 52 un 6.6% además se encontró una co-infección de 6.6% para los genotipos VPH 39 y 58. (Perez, Vargas, & Zuniga, 2017) (grafico 2)

Haciendo comparación de estos estudios podemos encontrar una relación entre ambas investigaciones, concluyendo que el VPH 16 es el genotipo de alto riesgo más frecuente, sin embargo, hay una variación con los genotipos siguientes, en el primer estudio se encontró que VPH 18 y 33 eran los que se encontraban en segunda categoría en cuanto a frecuencia, mientras que el segundo estudio era el VPH 39, seguido por VPH 45 y 18, 58, 33, 35, y 52



*Grafico 1:* Frecuencia de genotipos de VPH-por PCR en HBCR, noviembre 2015- febrero 2016.

Fuente: (Garcia & Cabezas, 2016)

*Grafico 2:* frecuencia de genotipos y coinfección del VPH mediante multiplex PCR- punto final, julio, 2016- marzo, 2017.

Fuente: (Pérez, Vargas, & Zuniga, 2017)

En cuanto a las infecciones mixtas en el primer estudio los genotipos detectados fueron en primer lugar los VPH 16 y 18, en segundo lugar, los VPH 18 y 33; y, en tercer lugar, los genotipos 16,18 y 33, por el contrario, en el segundo estudio solamente se encontró el VPH 39 y 58. (Lorente & Garcia, 2015) afirman que las co-infecciones mixtas sugiere una acción sinérgica entre los diferentes genotipos virales diagnosticados en una sola muestra, al igual esto puede reflejar una tolerabilidad inmunológica con asociación a múltiples infecciones o reinfecciones, lo que puede sospechar una persistencia de la infección y la progresión de las lesiones , sin embargo otros estudios sostienen que las implicaciones clínico-epidemiológicas de la infección con múltiples genotipos de VPH son inciertas. Esta afirmación está basada en estudios de seguimiento realizados en mujeres con infecciones por VPH múltiples, en las cuales se ha observado que, aunque los genotipos identificados tienden a formar grupos, el monitoreo de la infección en estas mujeres no muestra que estos grupos tengan una influencia determinante en el curso de la infección viral y el desarrollo de lesiones malignas en las pacientes afectadas.

Los resultados en Nicaragua también se asemejan con resultados de estudios a nivel Centroamericano. Uno de estos fue llevado a cabo en Guatemala, acerca de detección y tipificación de los virus de papiloma humano de alto riesgo en pacientes con lesiones pre-invasivas e invasivas de cáncer de cérvix por medio de PCR, para este se analizaron 99 muestras: 45 (45.45%) presentaron lesiones de bajo grado, 28 (28.28%) lesiones de alto grado y 26 (26.26%) cáncer invasor. De estos casos se detectaron virus de alto riesgo en 66 muestras (66.66%). El VPH de alto riesgo fue detectado en 24 casos de 32 (75%) de lesiones de bajo grado, en 17 casos de 33 (73.9%) en lesiones de alto grado y en los 25 casos (100%) de cáncer invasor. El genotipo más frecuente es el VPH 16, seguido del 58,18, 59, 53, 31, 51, 39, 53, 33, 66 y 52. (Garcia A. , 2008)

Otro estudio realizado por el Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES) sobre la incidencia del Virus del Papiloma Humano (VPH) en Panamá, realizado a 5 mil mujeres entre 15 y 80 años, residentes en las 9 provincias y comarcas del país, reflejó que el 47.78% de las pacientes presentó infección por el VPH y los genotipos predominantes fueron; el VPH 18 con un

14.5%, seguido del VPH 39 con un 14.4%. (Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), 2011). En relación con los estudios en Nicaragua podemos observar semejanza en los resultados en cuanto a los genotipos de alto riesgo más frecuentes, correspondientes al VPH 16 y 18 respectivamente.

Del mismo modo la fundación MOVICANCER en conjunto con el ministerio de salud y otros colaboradores implementó un proyecto de tamizaje primario con la prueba ADN del VPH basada en captura híbrida de 14 tipos de VPH-AR, dicho estudio se realizó en los departamentos de Carazo, Chontales y Chinandega durante septiembre del 2016 a enero de 2018, este proyecto se desarrolló en dos fases en la primera fase participaron 18 municipios de los departamentos en la cual de Chinandega se tomaron 4 municipios, Chontales 10 municipios y de Carazo fueron 4 municipios, en la segunda fase del proyecto se adicionaron 3 municipios para Chinandega y 4 para Carazo totalizando 25 municipios. El proyecto ha estado dirigido a beneficiar a la población de mujeres de 30 a 59 años, siendo la población de mayor riesgo en presentar lesiones precancerosas y cáncer cervico uterino, basado en el conocimiento de la historia natural de la infección por el VPH.

En el departamento de Carazo durante el año 2016 en la primera fase del proyecto en los meses de septiembre y octubre, se obtuvieron 884 muestras de las cuales 148 muestras fueron positivas equivalente al 16.7%, correspondiente a los municipios de Jinotepe, Diriamba, San marcos, Santa teresa, El rosario, la paz y dolores, de estos el municipio de Diriamba tiene 45 casos positivos teniendo un mayor número de casos.

De enero de 2017 a enero de 2018 se llevó acabo la segunda fase del proyecto en la cual se realizaron 13, 230 muestras resultando positivas 1,889 equivalente al 14.2%, referentes a los municipios de Jinotepe, Diriamba, San marcos, Dolores, Santa teresa, El rosario, La paz y la conquista, estando el municipio de Jinotepe con 596 casos positivos siendo el más alto con casos positivos también se procesaron muestras del departamento de Chinandega y del departamento de Chontales. (MOVICANCER, 2017)

La técnica utilizada en este estudio detecta 14 tipos de VPH-AR como 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66,68, sin embargo, esa prueba no permite identificar cuál de ellos es y tampoco si la paciente tiene uno o varios de estos tipos representando una desventaja para identificación de un tipo en específico. (Qiagen, 2014)

En Nicaragua existen pocos estudios sobre genotipificación y la mayoría van enfocados a los VPH de alto riesgo y no a los de bajo riesgo, debido a que es necesario conocer cuáles son los tipos de alto riesgo que circulan en el país y que podrían estar asociados al cáncer cérvicouterino, mientras que los de bajo riesgo, pueden desaparecer en un tiempo determinado sin necesidad de tratamiento o pueden causar lesiones no tan complicadas.

Estos estudios realizados se consideran de mucha importancia, ya que el diagnóstico es una de las bases principales para la prevención y mientras más afecte a la población más representará un desafío para la salud pública. Cuando existe un diagnóstico correcto y conocimiento acerca de los genotipos más frecuentes, se facilita la intervención médica con el tratamiento adecuado según sea el caso, siempre tratando de poner la salud de la paciente en primer lugar. Es muy importante también conocer los genotipos predominantes desde el punto de vista epidemiológico para la creación de vacunas y medidas preventivas eficaces.

## **5. Diseño metodológico**

### **5.1. Tipo de estudio**

Se realizó una investigación documental sobre el diagnóstico microbiológico enfocado al virus del papiloma humano, basada en la consulta de documentos libros, artículos, web, cuyo compromiso es analizar de forma descriptiva y explorativa un tema en particular.

### **5.2. Área de estudio**

Área de virología, estudia los virus junto a sus componentes relacionados a diferentes patologías, uno de los aspectos más relevantes de la virología es el estudio de los virus oncogénicos y la detección de estos a través de procedimientos moleculares que están directamente relacionados con la prevención y tratamiento de las enfermedades causadas.

### **5.3. Recolección de la información**

La información fue recolectada de fuentes secundarias, se utilizaron publicaciones de artículos de revistas científicas, páginas web, libros, monografías, seminario relacionado al virus de papiloma humano. Una vez revisado todo el material documental, se analizó la información la cual se ordenó y esquematizó toda la información útil para cumplir con los objetivos planteados en dicha investigación.

### **5.4. Instrumento de recolección**

Para la recolección de la información se realizó un bosquejo del subtema acorde a los objetivos planteados para proceder a la búsqueda y análisis de la información.

### **5.5. Limitaciones del estudio**

Durante la revisión bibliográfica no se encontraron datos sobre incidencia y mortalidad del cáncer de cérvix actualizada y en nuestro país no encontramos cifras específicas por parte de la OPS/OMS ni el MINSA.

### **5.6. Presentación de la información**

La información fue procesada en el programa Microsoft office Word 2017, para la presentación del trabajo se utilizó el programa Microsoft Power Point 2016.

### **5.7.Ética y Confidencialidad de los datos**

Para la realización de este estudio no se empleó ninguna técnica de recolección o intervención o modificación que afecte directamente a alguna persona, ni que violaran los principios éticos en investigación.

## 6. Conclusiones

1. El virus del papiloma humano (VPH) posee una cápside formada por 2 proteínas estructurales: la proteína L1 y la proteína L2, forma icosaédrica, el genoma está constituido por una molécula de ADN de doble cadena y está dividido en 3 regiones: región larga de control, región temprana y región tardía, pertenece a la familia Papillomaviridae, en la cual están agrupados 16 géneros nombrados con prefijos griegos y la terminación papilomavirus, el papiloma que infecta el tracto genital pertenece al género alphapapilomavirus y está dividido en dos grupos lo de bajo riesgo y los de alto riesgo estos últimos asociados al cáncer cervicouterino.
2. Los factores relacionados con la progresión de la infección por VPH son la edad (35 a 54 años), la paridad (3 o más partos), el tabaquismo, el inicio de las relaciones sexuales antes de los 16 años, el uso de anticonceptivos orales combinados, múltiples parejas sexuales (5 o más), las co-infecciones, la respuesta inmune, los factores ambientales y socioeconómicos como limitantes para acceder a los servicios de atención de salud y el nivel de escolaridad.
3. Los métodos diagnósticos utilizados para la identificación son las técnicas citológicas como Papanicolau, Colposcopia, Biopsia y las técnicas de detección del ADN viral como la captura de híbridos en la cual se detectan 14 VPH-AR con alta sensibilidad de 90% sin embargo este no puede discriminar de genotipo a otro, el PCR con una sensibilidad del 95% solamente detecta 1 molécula de ADN y la APTIMA HPV detecta la oncoproteína E6 y E7 con una sensibilidad de 97%. En Nicaragua el sistema de salud pública realiza el diagnóstico y seguimiento de los casos con pruebas citológicas, el algoritmo diagnóstico no contempla la genotipificación del virus.
4. En Nicaragua existen instituciones que han realizado investigaciones sobre la genotipificación del virus, mediante implementación de procesos moleculares en estudios investigativos, se analizó la frecuencia encontrada de los genotipos del alto riesgo del virus de papiloma humano en nuestro país durante 2016 a 2018, concluyendo que los genotipos circulantes son VPH 16 es el más frecuente, seguido de VPH 18, 58, 33, 35, 45, y 52 además se encontraron infecciones mixtas producida por los genotipos-16/18, VPH 18 /33, los genotipos 16/18 y/33 y VPH 39/58.

## 7. Referencias bibliográficas

- Aguilar, g., & Galvez, j. (2017). FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A CÁNCER DE CÉRVIX EN PACIENTES ATENDIDAS EN EL HOSPITAL VITARTE DURANTE EL AÑO 2015. *Universidad Ricardo palma Lima peru*, 46-48.
- Alfaro, A., & Fournier, M. (2013). VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO. *REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA*, 1-7.
- Alfaro, K., Arrossi, S., Campanera, A., Cuberli, M., Herrero, R., Holmes, F., . . . Saray, M. (2016). INCORPORACIÓN DE LA PRUEBA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PROGRAMAS DE PREVENCIÓN DE CÁNCER CERVICOUTERINO. *OPS/OMS*.
- American Cancer Society. (2016). Pruebas para el cancer cervico uterino.
- American Cancer Society. (2017). El vph y las pruebas del vph.
- Apst, W. (2013). *Parasitologia Humana*. Mexico: Mc Graw Hill.
- Arevalo, A., Arevalo, D., & Villaroel, c. (2017). EL CÁNCER DE CUELLO UTERINO. *Scielo*.
- Arriagada, R. (2006). Oncogénesis viral: VPH y cáncer cervicouterino. *Medwave*.
- Astudillo Gonzales, O., Flores Montesino, C., & Espinoza Salamea, M. (2014). Diagnostico Moleculr del VPH . *Panorama Medico*.
- Astudillo, O., Flores, C., & Espinoza, M. (2014). Diagnostico Moleculr del VPH. *Panorama Medico*.
- Burd, I., & Freeborn, D. (2016). Diagnostico de VPH. *Carefirst*.
- Cajina, J. (11 de Octubre de 2015). *PAHO*. Obtenido de PAHO: [www.paho.org/nic/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download...](http://www.paho.org/nic/index.php?option=com_docman&task=doc_download...)
- Carballal, G., & Oubiña, J. R. (2014). *Virologia Medica*. Buenos Aires: Corpus.
- Castaño Ignacio, M., & Hurtado Estrada, G. (2015). Test de vph(ch2) en pacientes tratadas con radiofrecuencia. *medigraphic*.
- Castaño, M., & Hurtado, G. (2015). Test de vph(ch2) en pacientes tratadas con radiofrecuencia. *medigraphic*.
- centro nacional de equidad de genero y salud reproductiva . (2016). hoja de datos sobre cancer de cuello uterino . *programa de cancer de la mujer* , 1-5.
- Chavez, E. (4 de Enero de 2016). *epidemiologia.mspas.gob*. Obtenido de epidemiologia.mspas.gob: <https://www.google.com.ni/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwion5Pj-9LPAhVF1R4KHTSQAAAQFggmMAI&url=http%3A%2F%2Fepidemiologia.mspas.gob.gt%2Ffiles%2FPublicaciones%25202016%2FSalas%2520Situacionales%2FSituaci%25C3%25B3n%2520>

- Cortazar, A., & Silva, E. (2014). PCR. *Universidad Nacional Autonomade Mexico- Instituto de Biotecnologia*.
- Etcheverry, G. (2009). Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2008. Los virus, el cáncer y el sida. *Scielo*.
- Etcheverry, G. (s.f.). Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2008. Los virus, el cáncer y el sida. *Scielo*.
- Falco, M., Wyant, T., Alteri, R., Kalidas, M., Yadao, L., Simon, S., . . . Chambers, W. (2016). Pruebas para el cancer cervico uterino. *American society de cancer*.
- Falco, M., Wyant, T., Alteri, R., Kalidas, M., Yadao, L., Simon, S., . . . Chambers, W. (2017). El vph y las pruebas del vph. *American Cancer Society*.
- Garcia, & Cabezas. (2016). prueba de deteccion del cancer cervicouterino asociado al virus del VPH. *UNAN-Managua*.
- Garcia, A. (2008). Deteccion y tipificacion de los virus de papiloma humano de alto riesgo en pacientes con lesiones preinvasivas e invasivas de cervix por medio de PCR. *CONCYT*, 1-102.
- Garcia, F. (11 de Enero de 2007). *biblioteca.usac*. Obtenido de biblioteca.usac: [https://www.google.com.ni/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiy6lmL99LPAhUHGB4KHfBuC4gQFggiMAE&url=http%3A%2F%2Fbiblioteca.usac.edu.gt%2Ftesis%2F06%2F06\\_2491.pdf&usg=AFQjCNH\\_ooo6LD4Pe0\\_itqEv3oDMMkZXrg](https://www.google.com.ni/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiy6lmL99LPAhUHGB4KHfBuC4gQFggiMAE&url=http%3A%2F%2Fbiblioteca.usac.edu.gt%2Ftesis%2F06%2F06_2491.pdf&usg=AFQjCNH_ooo6LD4Pe0_itqEv3oDMMkZXrg)
- Garnica, F. (2015). Uilidad del Pcr para la deteccion del virus de papiloma humano en pacientes con citologia ASC-US. *Pontifica Universidad Javierina- Facultad de ciencias*.
- Goyes, M., Jaramillo, A., Moreira, J., & Moya, W. (2014). Prevalencia de infección por virus de papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) en embarazadas controladas por consulta externa del Hospital Gineco Obstétrico Isidro Ayora, de la ciudad de Quito. *Rev Fac Cien Med (Quito)*.
- Grillo, C., Martinez, M., & Morales, b. (2008). virus de papiloma humano: aspectos moleculares y cancer de cervix. . *revista colombiana de obstetricia y ginecologia* , 310-315.
- Gutierrez Roja, R. (2015). Utilidad de las tecnicas moleculares de deteccion de VPH en el control y prevencion del cancer cervicouterino. *Medigraphic*.
- Gutierrez, R. (2015). Utilidad de las tecnicas moleculares de deteccion de VPH en el control y prevencion del cancer cervicouterino. *Medigraphic*.
- Iftner, T., & Villa, L. (2014). Human Papillomavirus Technologies. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*.
- Infeccion Genital Por VPH. (2017). *CDC*.
- Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES). (2011). VIRUS DE PAPILOMA HUMANO CON MAYOR INCIDENCIA EN MUJERES JÓVENES. *MINISTERIO DE SALUD PANAMA*, 1.
- Lewis, M. (2004). Analisis de la situacion del cancer cervicouterino en America latina y el caribe . *Organizacion panamericana de la salud*.

- Lindeman, M., Perez Castro, S., Perez Gracia, M., & Rodriguez Iglesia, M. (2016). Diagnostico microbiologico de infecciones por el virus del papiloma humano. *Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clinica*.
- Lindeman, M., Perez, S., Garcia, M., & Rodriguez, M. (2016). Diagnostico microbiologico de infecciones por el virus del papiloma humano. *Sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clinica*.
- Llorca, F. (11 de Octubre de 2015). *Ministerio de salud CR*. Obtenido de Ministerio de salud CR: <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/vigilancia-de-la-salud/normas-protocolos-y-guias/2664-plan-eliminacion-de-la-malaria/file>
- Lopez, K. (2016). Uso de los métodos anticonceptivos y su asociación con los resultados citológicos cérvico uterino en usuarias atendidas en el Hospital San Juan de Lurigancho. *UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS LIMA PERU*, 33.
- Lorente, R., & Garcia, T. (2015). Análisis del genotipado del virus del papiloma humano (VPH16, VPH18 y VPH otros de alto riesgo) en lesiones pre-neoplásicas de cuello de útero. *ResearchGate*.
- Marañón, Mastraña, Flores, Vaillant, & Landazuri. (2017). Prevención y control del cáncer de cuello uterino. *Scielo*.
- Martínez, M., & Peralta, M. (2015). Las pruebas de ADN para el Virus Papiloma Humano -VPH. *Instituto Nacional de cancerología de colombia*.
- Martinez, S. (2014). DETECCIÓN Y GENOTIPADO SIMULTANEO DEL VIRUS. *Universidad de sevilla- Departamento de microbiología*.
- Medina, M., Merino, L., & Medina, L. (2014). Valoración diagnóstica de técnicas moleculares para detección de infección bucal por virus del papiloma humano. *Enfermedades infecciosas y microbiología*.
- Ministerio de salud. (2006). Normas técnica de prevención detección y atención del cáncer cervicouterino.
- Ministerio de salud en Panamá, MSP. (27 de Febrero de 2012). *minsa.gob.pa*. Obtenido de [minsa.gob.pa](https://www.minsa.gob.pa): <https://www.google.com.ni/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjfnofN9dLPAhWDbR4KHUPjBEoQFggaMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.minsa.gob.pa%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fpublicacion-general%2Fmanualnormayproc malaria.pdf&usq=AFQjCNGLEgL>
- MINSAL. (11 de Marzo de 2015). *paho.org*. Obtenido de [paho.org](http://www.paho.org): [http://www.paho.org/els/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=1598&Itemid=324](http://www.paho.org/els/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=1598&Itemid=324)
- MOVICANCER. (2017). Tamizaje con prueba de VPH.
- Murray, P. R., & Rosenthal, K. S. (2006). *Microbiología medica*. Madrid, España: El SEVIER.

- Nazzari, O., & Cuello, M. (2014). Evolución histórica de las vacunas contra el Virus Papiloma Humano. *Scielo*.
- Núñez, J. (2017). Cigarrillo y cáncer de cuello uterino. *REV CHIL OBSTET GINECOL* , 144-149.
- Ochoa, F. (2014). Virus del papiloma humano. Desde su descubrimiento hasta el desarrollo de una vacuna. Parte I/III. *ELSEVIER*.
- OMS. (2010). *Organización mundial de la salud* . Obtenido de <http://www.who.int/es/>
- OMS. (11 de Enero de 2016). *who.int*. Obtenido de who.int: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malariareport-2015/report/en/>
- OMS. (2017). virus del papiloma humano (VPH). *Organización Mundial de la Salud* .
- OMS. (2017). virus del papiloma humano (VPH). *organización mundial de la salud*.
- OMS/OPS. (2008).
- OPS. (11 de Abril de 2013). *paho.org*. Obtenido de paho.org: [http://www.paho.org/salud-en-las-americas-2012/index.php?id=20%26option=com\\_content%26Itemid=0%26lang=en](http://www.paho.org/salud-en-las-americas-2012/index.php?id=20%26option=com_content%26Itemid=0%26lang=en)
- OPS/OMS. (2016). INCORPORACIÓN DE LA PRUEBA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO EN PROGRAMAS DE PREVENCIÓN DE CÁNCER CERVICOUTERINO.
- OPS/OMS. (2018). Tasas de incidencia estimadas según la edad (mundo) en 2018, cuello uterino, mujeres, todas las edades.
- Orlinder, J. (11 de Julio de 2010). *BVS.hn*. Obtenido de BVS.hn: <https://www.google.com.ni/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiF5qaC8tLPAhXBHR4KHS-JDOgQFggcMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.bvs.hn%2FHonduras%2Fsalud%2Fsituacion.epidemiologica.de.la.malaria.en.honduras.erradicacion.del.vector.tran>
- Ovalle, L., Palma, S., & Rosales, P. (2015). Manual para el tamizaje de cancer cervicouterino. *Programa nacional de salud reproductiva*.
- Perez, H., Vargas, M., & Zuniga, H. (2017). Estandarizacion la tecnica PCR multiplex para la genotipificacion de los papilomavirus humanos de alto riesgo en muestra cervical de pacientes con edades 18 - 40 años atendidos en el hospital berthacalderon roque, durante el periodo de julio 2016- marzo. *UNAN- Managua, Monografía*, 65.
- Picconi, M. (2014). Detección de virus papiloma humano en la prevención del cáncer cérvico-uterino. *Laboratorio Nacional y Regional de Referencia de Virus Papiloma Humano para las América*.
- Puentes, Haber, Reyes, & salas, y. (2014). Adolescentes e infección por virus del papiloma humano. *Scielo*.
- Qiagen. (2014). Manual para kit de la preba careHPV.
- Rincón Martínez, L. M., & García Peralta, D. M. (2015). Las pruebas de ADN para el Virus Papiloma Humano -VPH . *Instituto Nacional de cancerología de colombia*.

- Rincon, D., Morales, L., & Rincon, B. (2017). Modernas metodologías diagnosticas para la detección del Virus del Papiloma Humano y prevención del cáncer de cuello uterino. *Universidad Industrial de Santander*.
- Rocha et al. (2012). Identificación de factores de riesgo para contraer virus del papiloma humano en sexoservidoras. *Scielo*, 1.
- Rodriguez, Perez, & Serduy. (2014). Infección por el virus del papiloma humano en mujeres de edad mediana y factores asociados. *Scielo*.
- Saavedra, A., & Lizano, M. (2014). Cancer cervicouterino y el virus del papiloma humano: La historia no termina. *Cancerologia*.
- Saavedra, A., & Lizano, M. (2014). Cancer cervicouterino y el virus del papiloma humano: La historia no termina. *Cancerologia*.
- Santos Lopez, G., Marquez Dominguez, I., Reyes Leyva, J., & Vallejos Ruiz, V. (2015). Aspectos generales de la estructura, la clasificacion y replicacion del virus del papiloma humano. *Rev Med*.
- Santos, G., Marquez, I., Reyes, J., & Vallejos, V. (2015). Aspectos generales de la estructura, la clasificacion y replicacion del virus del papiloma humano. *Rev Med*.
- Venegas Rodríguez, G. G. (2017). Guia para la prevencion y manejo de cancer cervicouterino. *Ministerio de salud de peru*.
- Venegas, G. G. (2017). Guia para la prevencion y manejo de cancer cervicouterino. *Ministerio de salud de peru*.
- Zaldivar, e. a. (2012). Cáncer cérvicouterino y virus del papiloma humano. *REV CHIL OBSTET GINECOL*, 315-320.

# Anexos

Anexo 1. Cuadro 1. Clasificación de los genotipos según su capacidad oncogénica

GÉNERO	GENOTIPOS VPH	COMENTARIOS
<i>Alfapapillomavirus</i>		
1	16	Altamente oncogénico, causa cáncer en varios lugares anatómicos
1	18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	Evidencia suficiente de cáncer cervical
2A	68	Evidencia fuerte de cáncer cervical
2B	26, 53, 66, 67, 70, 73, 82	Evidencia limitada de cáncer cervical
2B	30, 34, 69, 85, 97	Análogos filogenéticamente a genotipos con evidencia suficiente o limitada
3	6, 11	-
<i>Betapapillomavirus</i>		
2B	5, 8	Evidencia limitada para cáncer de piel en pacientes con epidermodisplasia verruciforme
3	Otros tipos	

Fuente: (Lindeman, Perez, Garcia, & Rodriguez, 2016)

Anexo 2. Cuadro 2. Clasificación de los resultados de IVAA

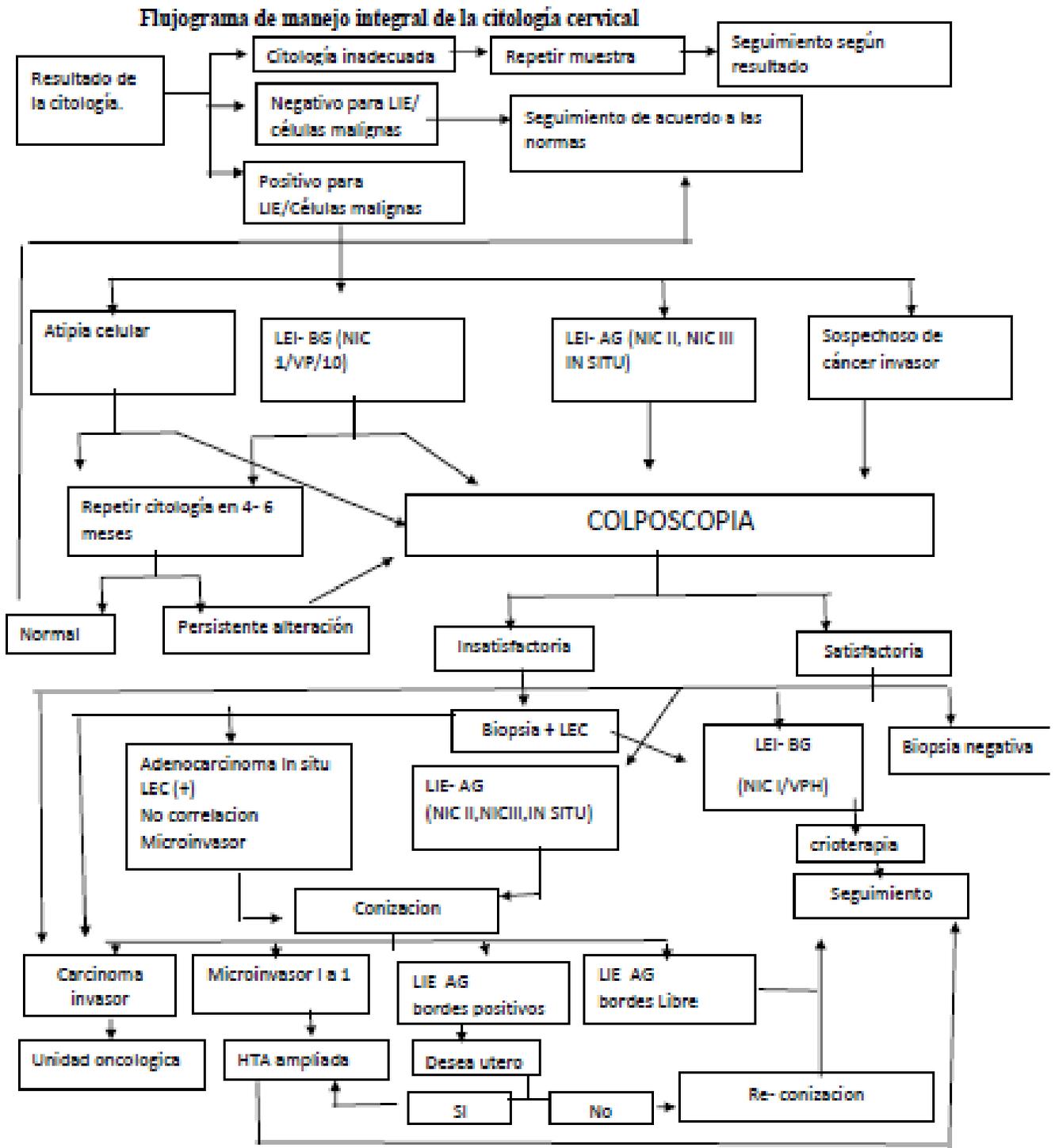
Clasificación	Hallazgos Clínicos
<p>Aceto Positivo</p> 	<p>Placas blanquecinas, engrosadas y elevadas o epitelio acetoblanco, usualmente cerca de la unión escamocolumnar</p>
<p>Aceto Negativo</p> 	<p>Liso, rosado, uniforme y sin características especiales: ectropión, pólipo, cervicitis, inflamación, quistes de Naboth</p>
<p>Sospechoso (de Cáncer)</p> 	<p>Crecimiento tipo coliflor o ulcerante, masa fúngica.</p>

Fuente: (Ovalle, Palma, & Rosales, 2015)

Anexo 3. Cuadro 3 Pruebas que se utilizan en el diagnóstico del virus de papiloma humano.

<b>Técnicas Citológicas</b>	<b>Pruebas</b>
	PAP
	Colposcopia
	Biopsia
	IVAA
<b>Técnicas Moleculares</b>	Captura de híbrido
	CareHPV
	PCR
	PCR en tiempo real
	Cobas HPV Test
	Abbott RealTime
	Xpert HPV (Cepheid)
	Becton Dickinson (BD)
	Cervista HPV
	Nested PCR
	Reacción en cadena de la polimerasa polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (PCR-RFLP)
	Detección de ARNm E6/E7
	Aptima HPV assay
	Aptima HPV 16 18/45 genotype assay
	Arbor Vita
	P16.

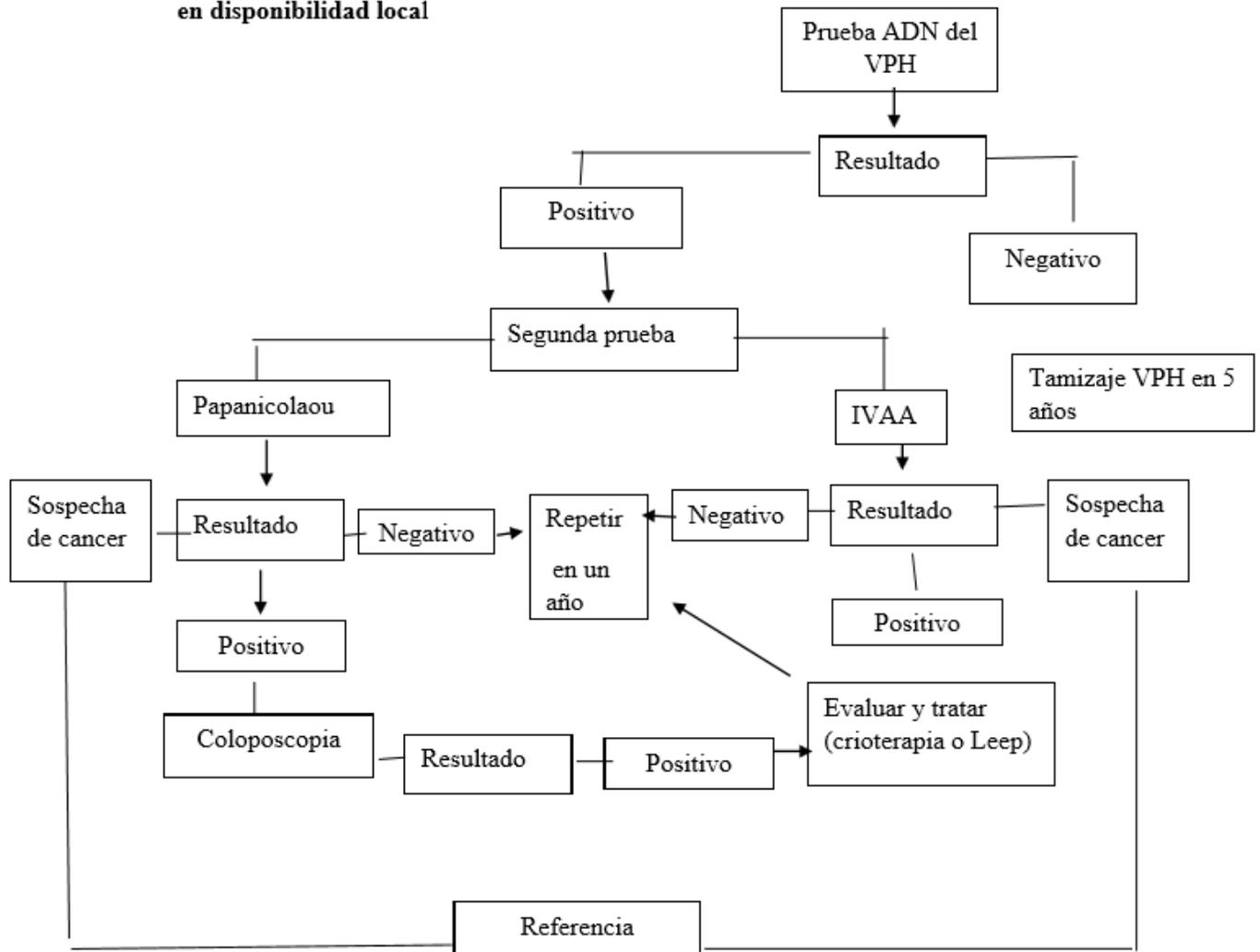
Anexo 3. Algoritmo 1. Manejo integral utilizado para el seguimiento de pacientes en unidades de salud.



Fuente: (Ministerio de salud, 2006)

Anexo 4. Algoritmo 2. Manejo integral por tamizaje con la prueba de VPH en el estudio realizado por Movicancer.

**Algoritmo de manejo integral por tamizaje con prueba del VPH y tratamiento basado en disponibilidad local**



Fuente: (MOVICANCER, 2017)