

UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN

ESCUELA DE POSGRADO



**TIPIFICACIÓN POR REACCIÓN EN CADENA DE LA
POLIMERASA DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN CITOLOGÍA
ANORMAL DEL PAPANICOLAOU EN EL HOSPITAL II ESSALUD-
HUANUCO 2016-2017**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: CIENCIAS DE LA SALUD

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS DE LA SALUD**

TESISTA: WILLANS GERBERT VENTURO CASTRO

ASESORA: Dra. María VILLAVICENCIO GUARDIA

HUÁNUCO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A mi esposa, que, con su tolerancia y paciencia, supo darme el apoyo y comprensión permitiendo mi mayor crecimiento personal y profesional.

A mis hijos, quienes inspiran mi anhelo de superación continua, por su amor y confianza que depositan en mí para el logro de mis metas.

A mi madre, por su infinito amor y ternura, que gracias a sus sabios consejos y apoyo moral ha contribuido a mis logros.

A mis amigos del doctorado, con quienes compartimos momentos de suma alegría y de estudios, acompañándome en este trayecto de mi crecimiento personal.

AGRADECIMIENTO

A Dios, ser sublime y celestial, por haber forjado mi camino y dirigirme por el sendero correcto; por estar en cada momento ayudándome a emprender y cumplir nuevas metas.

A la Universidad Nacional Hermilio Valdizán, que, a través de su Escuela de Posgrado, me brindó la oportunidad de cumplir el anhelo de superación con la obtención del grado de doctor.

A la asesora, por su apoyo en la presente investigación y a través de ella a todos los docentes por sus enseñanzas, orientación y guía para mi desarrollo personal y profesional.

A las autoridades y profesionales de ESSALUD, que hicieron posible el desarrollo de esta investigación.

Willans G. Venturo Castro

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa del VPH en relación con la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud - Huánuco 2016-2017. Estudio descriptivo; de tipo observacional, prospectivo, longitudinal y bivariado; de diseño epidemiológico - relacional con componente analítico, en la que se incluyeron 52 mujeres con citología positiva para lesión escamosa intraepitelial. La tipificación de las muestras fue realizada por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el análisis de regresión logística multivariada se puede predecir la ocurrencia de la enfermedad, indicándonos que existe un 70% de que las características epidemiológicas pueden estar asociadas a la presencia del VPH. Al Tipificar los virus del papiloma humano mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en la muestra en estudio con citología anormal el 61,5 % no presenta ningún genotipo; el 34.6% genotipo de alto riesgo oncogénico (16, 31, 45, 52, 58) y el 3.8% genotipo de bajo riesgo oncogénico (11). El análisis inferencial demostró que los genotipos de alto riesgo oncogénico presentaron relación con los resultados citopatológicos del Papanicolaou en medio líquido y con las anomalías de las células epiteliales evidenciadas en el PCR; los genotipos de bajo riesgo oncogénico, no muestran relación con los resultados citopatológicos y los genotipos asociados, se relacionan con los resultados citopatológicos evidenciados con el PAP en medio líquido y con los resultados de anomalías de las células epiteliales evidenciadas en el PCR.

Palabras clave: tipificación, virus de papiloma humano, citología positiva, características clínico-demográficas.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine HPV typing by HPV polymerase chain reaction in relation to abnormal Papanicolaou cytology at Hospital II Essalud - Huánuco 2016-2017. Descriptive study; of observational, prospective, longitudinal and bivariate type; of epidemiological design - relational with analytical component, in which 52 women with positive cytology for squamous intraepithelial lesion were included. The typing of the samples was performed by polymerase chain reaction (PCR). In the multivariate logistic regression analysis, the occurrence of the disease can be predicted, indicating that there is a 70% that the epidemiological characteristics can be associated with the presence of HPV. When typing human papillomavirus using the polymerase chain reaction technique in the study sample with abnormal cytology, 61.5% did not present any genotype; 34.6% genotype of high oncogenic risk (16, 31, 45, 52, 58) and 3.8% genotype of low oncogenic risk (11). The inferential analysis showed that the genotypes of high oncogenic risk presented relation with the cytopathological results of the Papanicolaou in liquid medium and with the abnormalities of the epithelial cells evidenced in the PCR; The genotypes of low oncogenic risk, do not show relationship with the cytopathological results and the associated genotypes, are related to the cytopathological results evidenced with the PAP in liquid medium and with the results of epithelial cell abnormalities evidenced in the PCR.

Key words: typing, human papilloma virus, positive cytology, clinical-demographic characteristics.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar a tipificação do HPV por reação em cadeia da polimerase do HPV em relação à citologia Papanicolaou anormal no Hospital II Essalud - Huánuco 2016-2017. Estudo descritivo; de tipo observacional, prospectivo, longitudinal e bivariado; de desenho epidemiológico - relacional com componente analítico, no qual foram incluídas 52 mulheres com citologia positiva para lesão intraepitelial escamosa. A tipagem das amostras foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR). Na análise de regressão logística multivariada, a ocorrência da doença pode ser prevista, indicando que há 70% que as características epidemiológicas podem estar associadas à presença do HPV. Ao tipificar o papilomavírus humano utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase na amostra do estudo com citologia anormal, 61,5% não apresentaram nenhum genótipo; 34,6% genótipo de alto risco oncogênico (16, 31, 45, 52, 58) e 3,8% genótipo de baixo risco oncogênico (11). A análise inferencial mostrou que os genótipos de alto risco oncogênico apresentaram relação com os resultados citopatológicos do Papanicolau em meio líquido e com as anormalidades das células epiteliais evidenciadas na PCR; genótipos baixo risco oncogênico mostrar qualquer relação com resultados de citopatologia e genótipos associados estão relacionados com os resultados de citopatologia produzidos com PAP em meio líquido, e os resultados de anormalidades das células epiteliais evidenciados na PCR.

Palavras-chave: tipagem, vírus do papiloma humano, citologia positiva, características clínico-demográficas.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Resumen	iv
Abstract	v
Resumo	vi
Índice de contenido	vii
Índice de tablas	ix
Índice de gráficos	xi
Introducción	13

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1	Fundamentación del problema de investigación	16
1.2	Justificación	21
1.3	Importancia	22
1.4	Limitaciones	23
1.5	Formulación del problema de investigación	24
	Problema general	24
	Problemas específicos	24
1.6	Formulación del objetivo	25
	Objetivo general	25
	Objetivos específicos	25
1.7	Formulación de Hipótesis	26
	• Hipótesis general	26
	• Hipótesis específica	26
1.8	Variables	27
1.9	Operacionalización de variables	27
1.10	Definición de términos operacionales	28

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1	Antecedentes	29
	Antecedentes internacionales	29
	Antecedentes nacionales	33
2.2	Bases Teóricas	36
	Virus papiloma humano	36

Citología cervical o Papanicolaou	61
2.3 Bases Conceptuales	73
2.4 Bases epistemológicas	75

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1 Ámbito	79
3.2 Población	79
3.3 Muestra	80
3.4 Nivel y tipo de estudio	80
3.5 Diseño y esquema de investigación	81
3.6 Técnicas e instrumentos	82
3.7 Validación y confiabilidad del instrumento	84
3.8 Procedimiento	84
3.9 Plan de tabulación y análisis de datos	86

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis descriptivo	88
Resultados de la citología cervical	97
Tipificación de los virus del papiloma humano mediante la técnica del PCR	102
4.2 Análisis inferencial y contrastación de hipótesis	104
4.3 Discusión de resultados	110
4.4 Aporte de la investigación	118

CONCLUSIONES	120
--------------	-----

RECOMENDACIONES	123
-----------------	-----

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	125
----------------------------	-----

ANEXOS	137
--------	-----

ANEXO 01: MATRIZ DE CONSISTENCIA	138
----------------------------------	-----

ANEXO 02: CONSENTIMIENTO INFORMADO	139
------------------------------------	-----

ANEXO 03: INSTRUMENTOS	141
------------------------	-----

NOTA BIOGRÁFICA	143
-----------------	-----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Edad de las mujeres con resultados de positividad a VPH atendidas en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	88
Tabla 2	Número de partos de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	89
Tabla 3	Estado Civil de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	90
Tabla 4	Sexarquía de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	91
Tabla 5	Número de pareja de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	92
Tabla 6	Uso de anticonceptivos de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	93
Tabla 7	Hábito tabáquico de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	94
Tabla 8	Análisis de regresión logística multivariado de las Características sociodemográficas de la población en estudio	95
Tabla 9	Resultados de Papanicolaou convencional al inicio de la Investigación para la tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	97
Tabla 10	Resultados del Papanicolaou en medio líquido para la tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	98
Tabla 11	Presencia del Virus del Papiloma Humana mediante resultado de PCR en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	99
Tabla 12	Aspecto del cérvix mediante la evaluación clínica en las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	100

Tabla 13	Anormalidades de las células epiteliales de las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	101
Tabla 14	Genotipos de VPH en las mujeres estudiadas por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	102
Tabla 15	Asociación de Genotipos encontrados en las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	103
Tabla 16	Correlación Resultado de la Tipificación de alto riesgo oncogénico del VPH y su relación con los resultados de PAP medio líquido	104
Tabla 17	Correlación Resultado de la Tipificación de alto riesgo oncogénico del VPH y su relación con el aspecto clínico del cérvix.	104
Tabla 18	Correlación de la Tipificación de alto riesgo oncogénico del VPH y su relación con las anormalidades de las células epiteliales	105
Tabla 19	Correlación de la Tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y los resultados del PAP en medio líquido	106
Tabla 20	Correlación de la Tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y el aspecto clínico del cérvix	106
Tabla 21	Correlación de la Tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y las anormalidades de las células epiteliales	107
Tabla 22	Correlación de la Tipificación de genotipos asociados del VPH y los resultados del PAP en medio líquido	108
Tabla 23	Correlación de la Tipificación de genotipos asociados del VPH y el Aspecto del cérvix.	108
Tabla 24	Correlación de la Tipificación de genotipos asociados del VPH y su relación con las anormalidades de las células epiteliales	109
Tabla 25	Tabla resumen de la correlación de la tipificación del VPH con los resultados de la citología anormal del Papanicolaou	110

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Edad de las mujeres con resultados de positividad a VPH	
Figura 1	atendidas en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	88
	Número de partos de las mujeres con resultado del	
Figura 2	Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	89
	Estado Civil de las mujeres con resultado del	
Figura 3	Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	90
	Sexarquía de las mujeres con resultado del	
Figura 4	Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	91
	Número de pareja de las mujeres con resultado del	
Figura 5	Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	92
	Uso de anticonceptivos de las mujeres con resultado del	
Figura 6	Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	93
	Hábito tabáquico de las mujeres con resultado del	
Figura 7	Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017	94
	Resultados de Papanicolaou convencional al inicio de la	
Figura 8	Investigación para la tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	97
	Resultados del Papanicolaou en medio líquido para la	
Figura 9	tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	98
	Presencia del Virus del Papiloma Humana mediante	
Figura 10	resultado de PCR en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	99
	Aspecto del cérvix mediante la evaluación clínica en las	
Figura 11	mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	100
	Anormalidades de las células epiteliales de las mujeres	
Figura 12	en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	101

Figura 13	Genotipos de VPH en las mujeres estudiadas por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	102
Figura 14	Asociación de Genotipos encontrados en las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017	103

INTRODUCCIÓN

El cáncer de cuello uterino (CCU) constituye un problema de salud pública a nivel mundial, en la región de las Américas y en nuestro país, por su alta mortalidad como por la discapacidad que produce, es la segunda neoplasia más frecuente en la población femenina a nivel mundial y uno de los problemas más álgidos es el diagnóstico tardío de los casos de cáncer de cuello uterino como consecuencia de las debilidades del sistema de salud y los temores de la población. Se estima que a nivel mundial se diagnostican aproximadamente 12.7 millones de casos nuevos de cáncer cada año, sin que se produzca una mejora sustancial en el control del cáncer, se prevé que para el año 2030, esta cifra anual se elevará a 21.3 millones de casos nuevos por efecto del envejecimiento poblacional y por el cambio de los estilos de vida (consumo de tabaco, alcohol, dieta poco saludable), estas variables llevan a un costo de tratamiento más elevado y a resultados sub óptimos con impacto negativo en la supervivencia de las pacientes (OPS 2011). La Organización Mundial de la Salud estima que para el año 2005 se produjeron 7.6 millones de defunciones por cáncer y que en los próximos 10 años morirán 84 millones más si no se emprenden acciones. Más del 70% de todas las muertes por cáncer se produjeron en países con ingresos económicos bajos y medios, países donde los recursos disponibles para la prevención, diagnóstico y tratamiento son limitados o inexistentes. Se estima que cuando se aplican métodos de diagnóstico precoz se podrían prevenir al menos 40% de casos de cáncer de cuello uterino.

En la actualidad, se han detectado cerca de 200 tipos de HPV, de los cuales, aproximadamente 40 tipos infectan la mucosa cervical. Estos son clasificados como bajo o alto riesgo oncogénico, basados en asociaciones

epidemiológicas conocidas. El grupo de alto riesgo oncogénico comprende los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82 que son detectados en más del 95% de los casos de carcinoma cervical.

Frente a estas consideraciones, el Ministerio de Salud en cumplimiento de sus funciones como ente Rector en el Sector Salud, en el marco de la Ley 29889, y lo dispuesto en el Decreto Supremo N° 009-2012-SA, que declara de interés nacional la Atención Integral del Cáncer y Mejoramiento del Acceso a los Servicios Oncológicos en el Perú.

En el Perú es una neoplasia de alta incidencia y mortalidad, ocupando el tercer puesto como causa de muerte por cáncer en mujeres; es más frecuente en Loreto (29.4% de todos los cánceres en esa región). Las tasas ajustadas de mortalidad por 100,000 habitantes más altas son de Loreto (18.0), seguido de Huánuco (12.8). En pacientes referidas al Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas - INEN entre el 2012-2014, los genotipos más frecuentes fueron 16 (23,8%) y 6 (11,9%).

El virus del papiloma humano (VPH) es la infección sexualmente transmitida más común que existe y es el agente causal de varios tipos de cánceres y entre ellos los del cuello uterino en mujeres.

Hay casi 200 tipos de PVH, de los que al menos 15 son oncogénicos (también conocidos como de alto riesgo) y la mayoría de las personas se infectan poco después de iniciar su vida sexual. Los cánceres cervicouterinos (CCU) son causados por infecciones de transmisión sexual por determinados tipos de PVH. Dos tipos de PVH (16 y 18) son los causantes del 70% de los CCU y de las lesiones precancerosas del cuello del útero.

El CCU es el segundo tipo de cáncer más frecuente en las mujeres de las regiones menos desarrolladas, y se estima que en 2012 hubo unos 445 000 casos nuevos (84% de los nuevos casos mundiales), aproximadamente 270 000 mujeres murieron de CCU; más del 85% de esas muertes se produjeron en países de ingresos bajos y medianos. La elevada prevalencia de la infección por el VPH tiene relación con la conducta sexual de cada individuo. A nivel mundial el VPH 16 y 18 son los responsables del 70% de todos los cánceres de cuello uterino y en tanto que los otros tipos de alto riesgo corresponden al VPH 31, 33, 45 y 58; y entre 41% y 67% en lesiones cervicales de alto grado y hasta el 32% en lesiones cervicales de bajo grado.

CAPÍTULO I

DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

1.1 Fundamentación del problema

El cáncer de cuello uterino (CCU) o cáncer cervical es un problema de salud pública, constituye una de las enfermedades neoplásicas más frecuentes y mortales de la población femenina¹. Es la séptima neoplasia más frecuente en la población mundial, la cuarta más frecuente en la población femenina y la tercera entre las causas de mortalidad por cáncer en la mujer, siendo solo superada por el cáncer de la glándula mamaria y del pulmón². Se origina en las células que revisten el cuello uterino, la parte inferior del útero.

La Organización Mundial de la Salud en un reciente informe admite que unas 529.409 mujeres reciben un diagnóstico de cáncer de Cuello Uterino en el mundo y 274.883 mueren por esta enfermedad. Alrededor del 85% de la carga mundial que genera la enfermedad se produce en las regiones de bajos y medianos ingresos, donde representa el 12% de todos los cánceres femeninos. Las tasas más altas de incidencia (TAE por encima de 30 por 100 000 mujeres) se encuentran en África (42,7) y las más bajas en Australia/Nueva Zelanda y Asia occidental (5,5 y 4,4 respectivamente).³

En América Latina se considera al CCU como la segunda neoplasia más común, con 68,818 casos anuales. La incidencia en la región es de 21,2 casos por 100 000 mujeres, alcanzando valores superiores a 30 por 100,000 mujeres en países como Guyana (44.7 por 100,000), Nicaragua 39.9 por 100,000), Honduras (37.8 por 100,000), El Salvador (37.2 por 100,000), Bolivia (36.4 por 100,000), Paraguay (35 por 100,000 mujeres) Perú (34.5), Venezuela (31.4)

y Guatemala (30.5). Solo Chile y Puerto Rico presentan tasas menores de 15 x 100 mil mujeres (14.4 y 7.5, respectivamente)⁴. El 75% de las 28,565 defunciones anuales por esta causa, ocurren en seis países: Brasil, México, Colombia, Perú, Venezuela y Argentina⁵.

Por otro lado, el cáncer de cuello uterino tiende a ocurrir en la mediana edad; la mayoría de los casos se detecta en mujeres menores de 50 años y rara vez se desarrolla en mujeres menores de 20 años. Muchas mujeres de edad avanzada no se dan cuenta que el riesgo de cáncer de cuello uterino aún existe a medida que envejecen. Más del 15% de los casos de cáncer de cuello uterino se detectan en mujeres que tienen más de 65 años.

En el Perú, cada 5 horas muere una mujer por cáncer cervical. El cáncer de cuello uterino es el cáncer más notificado en las mujeres (24.1% de los cánceres en las mujeres) y en la población general (14.9% de todos los cánceres)⁶.

El cáncer de cuello uterino afecta desproporcionadamente a mujeres en países en desarrollo con sistemas de tamizaje más débiles. La mayoría de los casos son diagnosticados en estadios avanzados⁷. El riesgo de morir por cáncer de cuello uterino antes de los 75 años, es tres veces más alto en mujeres que viven en países en desarrollo que en mujeres que viven en países desarrollados⁸.

En el Perú, el cáncer de cuello uterino es uno de los más frecuente. Según la incidencia y mortalidad 2010-2012 del Registro de Cáncer de Lima Metropolitana del INEN, el cáncer de cuello uterino fue el segundo más frecuente, se registraron 3163 casos nuevos y una tasa de incidencia estandarizada de 21,1 casos por 100 000 mujeres, asimismo el cáncer de cuello de útero representó el 9,6% de las neoplasias malignas en mujeres⁹;

en Loreto (29.4%), Ucayali (28.6%), Madre de Dios (28.5%) y Moquegua (28.4%). Las regiones con tasas ajustadas de mortalidad por cáncer de cuello uterino por 100,000 habitantes más altas son Loreto (18.0), Huánuco (12.8), Ucayali (10.3), con valores que duplican y hasta cuadruplican el de Lima (4.2)¹⁰.

Actualmente se conoce que la etiología del cáncer de cuello uterino es el virus del papiloma humano en un 100 % (Dr. Harald Zur Hausen, premio Nobel en medicina 2008)¹¹. La gran cantidad de estudios epidemiológicos, moleculares y experimentales realizados en la búsqueda de asociaciones causales ha demostrado que el VPH es el principal agente etiológico del CCU. La tasa de infección en población femenina se estima en 40 % para mujeres de 20 a 29 años de edad y en población general independiente de la edad se reportan cifras de 13 a 15%, cifras que exceden por mucho el número de casos de cáncer invasor estimado en menos del 0.01 %. Por otro lado, más del 98 % de los casos de cáncer invasor del cérvix uterino están asociados a algún tipo de VPH ¹² . En cuanto a la transmisión, aproximadamente el 75% de las mujeres se infectan con el VPH en algún momento de su vida, pero la mayoría lo adquiere en los primeros años de inicio de su actividad sexual. La infección persiste como subclínica y transitoria, y el sistema inmune llega a ejercer control de la infección¹³.

Para el desarrollo del CCU se requiere de una infección persistente, aunque no todas las infecciones por VPH derivan finalmente en CCU. Hasta la fecha, se conocen aproximadamente 15 tipos de VPH identificados como de alto riesgo. Sin embargo, el VPH-16 y VPH-18 son los más prevalentes y responsables del 70% de los casos de CCU en el mundo¹⁴.

El tamizaje con Papanicolaou es el estándar en los programas de América Latina y Perú, durante 50 años de su utilización no ha alcanzado el impacto esperado en reducción de la mortalidad por CCU, probablemente por la falta de pericia en los procesos intermedios de la técnica, seguimiento inadecuado de pacientes e incompleta implementación de los programas en el territorio nacional y su población de riesgo, y su consecuente disminución en la sensibilidad de la prueba.¹⁵

Por otra parte, se observó que la detección del ADN del VPH por biología molecular es una técnica más sensible que la citología cervical convencional. Sin embargo, presenta menor especificidad en mujeres jóvenes y su uso podría conducir a tratamientos innecesarios^{16 17}. Sin embargo, estudios randomizados que evaluaron la implementación de la detección de ADN del VPH como estrategia de tamizaje primario, mostraron un mayor descenso de lesiones cervicales de alto grado en comparación con la citología cervical cuando los pacientes se sometieron a un tratamiento después de un resultado positivo^{18 19}.

El primer estudio de hibridación molecular (Southern blot) del ADN del VPH realizado en el Perú, fue en 1986 en el INEN en colaboración con la universidad de Georgetown, método en solución de hibridación que permite detectar el ADN del VPH; sin embargo, no es una prueba que se encuentre al alcance de toda la población; por lo que el 80% de los casos son detectados en estadios avanzados.

Según estudios realizados por el Ministerio de Salud, Huánuco es considerado el departamento más vulnerable para cáncer, siendo el CCU el segundo después del cáncer gástrico, con un índice de vulnerabilidad de 22²⁰.

Según la encuesta ENDES, se estima que casi el 50% de la población objetivo, ha sido tamizada en los últimos 3 años. Según los datos del Fondo Intangible Solidario de Salud - FISSAL de los últimos 5 años, 10% de los casos se encuentran en estadio clínico I de cáncer, momento en el que la curación del caso de las pacientes bordea el 90%.

Es importante conocer que el virus papiloma humano tiene 55 nm de diámetro, con una disposición icosaédrica de las proteínas de la cápside; están formados por 72 unidades en una superficie sin envoltura. El genoma consta aproximadamente de 8000 pares de bases, con un peso molecular de 5.2×10^6 daltons²¹. Fue el Dr. Harald Zur Hausen, en su laboratorio en Alemania quien comenzó a determinar sondas para tipificar los VPH, determinados por la diferencia de sus secuencias génicas E6, E7 y L1 (un tercio del genoma), ellos difieren en más del 10% de las de algún tipo de HPV conocido previamente. Los subtipos de variantes suelen diferir en un 2 a 5% entre sí²². En la actualidad, dos ensayos moleculares son utilizados para el diagnóstico y la tipificación de VPH: el test de captura de híbridos (Hybrid Capture, Digene Diagnostics, INC. Silver Spring, Maryland, EE.UU) aprobado por la FDA (Food and Drug Administration), y la reacción en cadena de polimerasa (PCR), es una técnica molecular poderosa, muy específica y sensible capaz de detectar entre 10 y 200 copias de genoma viral por muestra, aunque es muy laboriosa y relativamente costosa, comparada con la tinción PAP.

Los métodos de PCR basados en la amplificación de ADN de VPH poseen una alta sensibilidad para la detección y tipificación del virus en muestras cervicovaginales²³. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), este método fue desarrollado por Mullis en 1990. Consiste en una prueba

enzimática sumamente sofisticada que amplifica al menos un millón de veces las secuencias específicas de DNA diana en la muestra de examen. Puede aplicarse en tejido fresco o fijado; en la actualidad es la técnica más sensible de que se dispone. Puede llevarse a cabo rápidamente (2 a 3 horas), pero se requiere una notable habilidad y debe realizarse en laboratorios que dispongan de medios especializados de contención, a fin de prevenir la contaminación de la muestra con material previamente amplificado. Frente a la problemática mencionada existe una urgente necesidad de investigar los genotipos de VPH para determinar su oncogenicidad diagnosticado a nivel del cuello uterino, en la población femenina asegurada de la ciudad de Huánuco y los hallazgos obtenidos con este estudio servirán de referencia a otras investigaciones similares.

1.2 Justificación

- El cáncer de cuello uterino continúa siendo una de las causas más importantes de mortalidad en mujeres, no sólo en nuestro país sino a nivel mundial, primordialmente en países en vías de desarrollo. Estudios epidemiológicos han identificado la relación entre el cáncer de cuello uterino y la infección por el virus del papiloma humano; por lo que el estudio nos permitirá conocer los genotipos de estos virus más prevalentes en las mujeres de nuestra ciudad.
- La infección por el virus del papiloma humano (VPH) es hoy día la enfermedad de transmisión sexual más prevalente a nivel mundial, con un estimado de 6,2 millones de nuevas infecciones por año en EE.UU²⁴. Se ha establecido que la probabilidad que tienen las mujeres de presentar infección por VPH durante el tiempo de vida, en personas sexualmente activas es de

alrededor del 80 %²⁵, por lo que la prevalencia de la infección es máxima entre las mujeres jóvenes, declinando en mujeres de edad mediana, hasta los 65 años donde se presenta un nuevo pico de infección, los motivos de este segundo pico aún no han sido aclarados²⁶. Por lo mencionado se puede indicar que con el presente estudio al poner en evidencia los genotipos prevalentes en la zona se logrará priorizar las técnicas de diagnóstico temprano en la población vulnerable.

- En la mayoría de los casos, las infecciones por VPH son subclínicas (fase latente) y es difícil detectarlas por examen citológico, histopatológico o técnicas inmuno-histoquímicas. Por esta razón los métodos moleculares como la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) son recomendados para tamizaje; por lo que, al hallar la importancia de utilizar técnicas diagnósticas cada vez más eficaces en la detección del cáncer de cuello uterino en la población vulnerable, se reducirán los costos económicos y humanos que conlleva una detección tardía de la presencia del VPH en sus genotipos oncogénicos como es el cáncer en estadios avanzados.

1.3 Importancia

En nuestro medio al igual que el país, se suele utilizar como técnica diagnóstica el Papanicolaou; sin embargo, esta técnica tiene limitada sensibilidad aunque alta especificidad en la detección del cáncer de cuello uterino, pero no en la detección de los genotipos virales del papiloma humano; es más, en nuestro medio (Huánuco), no se han realizado estudios sobre la prevalencia de los genotipos de VPH, el cual se realiza por reacción en cadena de la polimerasa en citología anormal del Papanicolaou.

- Por lo expuesto, la importancia del presente estudio radica en que se pudo demostrar que en nuestra población vulnerable radica la prevalencia del genotipo oncogénico 16, el cual se obtuvo mediante una nueva técnica que es el PCR en el análisis de las muestras tomadas, con esta técnica se realizó dos pruebas: el estudio citológico de Papanicolaou en medio líquido con menores falsos negativos y la tipificación del PVH hasta 21 genotipos que está al alcance de los usuarios asegurados de EsSalud .
- Con los resultados de este trabajo, las usuarias del servicio de ginecología y obstetricia del Hospital II Essalud Huánuco accederán a esta nueva técnica de toma de Papanicolaou y tipificación de los diferentes genotipos del VPH para prevenir y mejorar su diagnóstico temprano del cáncer del cuello uterino en convenio con el centro de citopatología y genética del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen- Lima.

1.4 Limitaciones

Las limitaciones del estudio fueron:

- Los falsos positivos de las pruebas de Papanicolaou que se obtuvieron al momento de realizar el recojo de la información.
- La técnica en la toma de muestras, insuficientes o la mala calidad del Papanicolaou; motivo por el cual se debió los falsos positivos, alterando los resultados del estudio, los cuales no serían los esperados.
- El alto costo de la prueba, se requirió de laboratorios sofisticados para el estudio; asimismo, los centros de investigación en el Perú son limitados para realizar esta tipificación; a nivel de EsSalud, el primer hospital que inició este estudio fue el Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen.

1.5 Formulación del problema de investigación

Problema general

¿Cuál es la tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa en relación a la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco, 2016-2017?

Problemas específicos:

- ¿Cuáles son las características epidemiológicas de la población en estudio según riesgo a la presencia de VPH obtenido por reacción en cadena de la polimerasa?
- ¿Cuáles son las características citopatológicas observadas en los resultados de la citología anormal por Papanicolaou en medio líquido y por PCR?
- ¿Cuál es el aspecto del cérvix mediante evaluación clínica y las anomalías de las células epiteliales en relación a la presencia del PVH en las mujeres del estudio?
- ¿Cómo tipificar los virus del papiloma humano mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa?
- ¿Cuáles son los genotipos según riesgo oncogénico del VPH determinados por reacción en cadena de la polimerasa del VPH en la población en estudio?
- ¿Cuál es la relación de los resultados citopatológicos de Papanicolaou con la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico?
- ¿Cuál es la relación de los resultados citopatológicos de Papanicolaou con la presencia de genotipos de bajo riesgo oncogénico?
- ¿Cuál es la relación de los resultados citopatológicos de Papanicolaou con la presencia de genotipos asociados?

1.6 Formulación del objetivo general y específicos

Objetivo general:

Determinar la tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa en relación a la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco. 2016-2017.

Objetivos específicos:

- Identificar los datos epidemiológicos de la población en estudio según riesgo de VPH en la población en estudio.
- Identificar los resultados de la citología anormal por Papanicolaou en medio líquido y por PCR.
- Conocer el aspecto del cérvix mediante evaluación clínica y las anomalías de las células epiteliales en relación a la presencia del PVH en las mujeres del estudio.
- Tipificar los virus del papiloma humano mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa
- Clasificar los genotipos según riesgo oncogénico y asociación del VPH determinados por reacción en cadena de la polimerasa del VPH en la población en estudio
- Relacionar los resultados citopatológicos de Papanicolaou con la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico
- Relacionar los resultados citopatológicos de Papanicolaou con la presencia de genotipos de bajo riesgo oncogénico
- Relacionar los resultados citopatológicos de Papanicolaou con la presencia de genotipos asociados.

1.7 Formulación de Hipótesis general y específicas

Hipótesis General

H₀ La tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa no se relaciona con la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco.

H₁ La tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa se relaciona con la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco.

Hipótesis específicas

H₁₁ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou están relacionados con la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico.

H₀₁ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou no están relacionados con la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico

H₁₂ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou están relacionados con la presencia de genotipos de bajo riesgo oncogénico,

H₀₂ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou no están relacionados con la presencia de genotipos de bajo riesgo oncogénico del virus del papiloma humano.

H₁₃ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou están relacionados con la presencia de genotipos asociados del virus del papiloma humano.

H₀₃ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou no están relacionados con la presencia de genotipos asociados del virus del papiloma humano.

1.8 Variable:

Variable de estudio 1

Tipificación del Virus del Papiloma Humana (Genotipo)

Indicadores:

- Genotipos de alto riesgo oncogénico
- Genotipos de bajo riesgo oncogénico

Variable de estudio 2

Citología anormal de Papanicolaou

Indicador:

- Resultados de Citología anormal de Papanicolaou

1.9 Operacionalización de variables

Variable de estudio	Dimensión	Indicadores	Categoría	Instrumento
Variable de estudio 1 Tipificación de VPH	Genotipos de VPH	Genotipos de alto riesgo oncogénico	16,18,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66 y 68	Informe de PCR
		Genotipos de bajo riesgo oncogénico	6,11,42,43,44 y 81	
		Asociaciones genotípicas	• Individual • Asociadas	
Variable de estudio 2 Resultados de citología anormal de Papanicolaou	Resultados de Papanicolaou de EsSalud	Patológico	ASCUS, AGUS, LIE	Informe de PAP y citopatológico
		Patológico sugerente a VPH	ASCUS, AGUS, LIE Positivo a VPH	
	Resultados de citopatología del estudio	Informe citopatológico	<ul style="list-style-type: none"> • Negativo para LEI o malignidad • Metaplasia escamosa • Lesión intraepitelial de bajo grado (displasia leve) • Lesión intraepitelial de alto grado (displasia moderada) • Lesión intraepitelial de bajo grado (displasia severa) 	Guía de observación e Informe cito-patológico
		Aspecto del cérvix	<ul style="list-style-type: none"> • Normal • Hipotrófico • Erosión periorificiaria • Leucorrea • Test de aminas • Test de Schiller • Sangrado endocervical • IVAA + 	
	Anormalidades de las células epiteliales en las células exocervicales	<ul style="list-style-type: none"> • Células escamosas atípicas (ASC) • Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado • Lesión escamosa intraepitelial de alto grado sugerente a VPH • Carcinoma escamo-celular 		

Variables intervinientes	Características epidemiológicas de la población	Edad	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia • Media 	Guía de entrevista
		Paridad	<ul style="list-style-type: none"> • Nulípara • De 1 a 3 • De 4 a más 	
		Estado civil	<ul style="list-style-type: none"> • soltera • casada • conviviente • viuda • divorciada 	
		Sexarquia	<ul style="list-style-type: none"> • menor de 12 • 12 a 14 • 15 a 17 	
		Parejas sexuales	<ul style="list-style-type: none"> • 1 • 2 • 3 a más 	
		Uso de MAC	<ul style="list-style-type: none"> • barrera • anticonceptivo combinado • anticonceptivos de deposito • DIU • BTB 	
		Antecedentes de control de CCU	<ul style="list-style-type: none"> • PAP • Colposcopia • Biopsia 	

1.10 Definiciones de términos operacionales

PCR : Método de Reacción en cadena de la Polimerasa; que es una técnica enzimática *in vitro* para amplificar exponencialmente una región determinada del ADN situada entre dos regiones de su estructura, cuya secuencia se conoce, a partir de una mezcla compleja de ácido nucleicos²⁷.

VPH: Virus del papiloma humano virus. Los Virus del Papiloma Humano, son un grupo de virus de ADN de doble banda que pertenecen a la familia Papovaviridae, no poseen envoltura, y tienen un diámetro aproximado de 52-55 nm²⁸.

Tipos de VPH: La clasificación de los tipos y subtipos, se fundamenta en la especificidad de especie y en la homología de las secuencias de polinucleótidos. Los genomas de VPH que se han secuenciado hasta el momento tienen una estructura básica muy interesante, con homología del 45 al 85% en su secuencia de nucleótidos²⁹.

De los cerca de 200 genotipos diferentes, aquellos capaces de infectar la mucosa genital se clasifican en tres grandes grupos: PVH cutáneos, epidermodisplasia verrugociformis y mucosos³⁰

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes

Antecedentes Internacionales

Ramos Ramírez, Martha Cecilia³¹. (Ecuador, 2016). Tesis: Genotipificación del Virus del Papiloma Humano en lesiones displásicas en Centros de Salud de la ciudad de Ambato 2015-2016. El objetivo de la investigación fue genotipificar el VPH en lesiones displásicas en centros de salud de la ciudad de Ambato durante los años 2015-2016 y establecer los factores de riesgo asociados con los diferentes tipos de lesión. Se incluyeron 111 pacientes que asistieron a la consulta ginecológica de diversos centros de salud, a las cuales se les realizó evaluación citológica y colposcópica. A partir del citobrush, se extrajo el ADN viral y se amplificó la región de interés a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los genotipos específicos se determinaron por PCR multiplex. Los resultados demostraron una prevalencia de 38,7% de casos en la población estudiada, donde 90,7% correspondían a genotipos de alto riesgo. El análisis filogenético del VPH 16 mostró asociación de 86 % de confianza por la prueba de bootstrap por el modelo de máxima verosimilitud, con el linaje A (europeo) mientras que el 18 un 83% al sublinaje A1 (Asiático Americano). Se obtuvo diferencia significativa al comparar los resultados moleculares con los reportados en la citología. Es importante resaltar que en pacientes sanas con lesiones previas tratadas quirúrgicamente se detectó la presencia del virus, en comparación con los pacientes sin antecedentes. Se concluye que es de vital importancia

conocer la epidemiología del virus en cada región además de incluir pruebas moleculares para detección de VPH en el screening oportuno de lesiones displásicas en mujeres desde edades tempranas.

Medina Magües, Lex³² (Ecuador, 2015). Tesis: Genotipificación del Virus del Papiloma Humano mediante secuenciamiento y PCR cuantitativa en tiempo real y detección de variantes intratípicas por análisis filogenético. El objetivo de esta tesis fue el de evaluar la genotipificación de un nuevo ensayo llamado Anyplex II HPV28 (H28) con el estándar de oro que es el secuenciamiento, comparando sus resultados; y conocer las variantes del VPH presentes en Ecuador por medio de análisis filogenéticos del VPH16 y 58, ya que éstas presentan diferentes patologías. El secuenciamiento con Sanger (utilizando cebadores MY) se utilizó para evaluar al ensayo llamado Anyplex II HPV28 (Seegene) de multiplex PCR semicuantitativa en tiempo real, que cuenta con tecnología única que permite una alta especificidad y la genotipificación de 28 genotipos del VPH en forma semicuantitativa, viendo así posibles coinfecciones y su carga viral. De 139 muestras, la concordancia entre el genotipo encontrado por secuenciamiento y el genotipo encontrado con mayor carga viral (menor ciclo de cuantificación «Cq») con el kit Anyplex II HPV28 fue de 64% (Spearman rho= 0.5615; p<0.0001); mientras que, con todos los genotipos encontrados en coinfecciones por el kit Anyplex fue del 85.6% (Spearman rho=0.8147; p<0.0001). Se identificó que el 20% de las variantes del VPH 16 pertenecen a una variante agresiva de éste; y gracias a este estudio se puede conocer las variantes más frecuentes del VPH 16 y 58 en Ecuador.

Portilla Naranjo, Ana³³. (Ecuador, 2014). Tesis: Genotipificación del virus papiloma Humano (HPV) mediante PCR en muestras de cepillado exo –

endocervical. EL objetivo de determinar los diferentes genotipos de HPV mediante PCR en pacientes con displasias como resultado del PAP, diagnosticados en el Centro de Atención Ambulatoria Norte – 212 y Hospital Teodoro Maldonado Carbo del IEES, Guayaquil. Para ello se contó con 300 muestras mediante cepillado exo-endocervical. A estas muestras se les aplicó el protocolo del test LINEAR ARRAY® HPV donde se obtuvo un 43% de muestras positivas. Los resultados demostraron que los genotipos de HPV de alto riesgo como resultado del estudio fueron: el genotipo 52 con un 11%, genotipos 16 y 58 con 6%, genotipo 59 con 5%, genotipo 31 con 4%, genotipos 51 y 56 con 3%, genotipos 18, 35 y 45 con 2%, genotipo 33 y 39 con 1%. Los genotipos de HPV de bajo riesgo como resultado del estudio fueron: el genotipo con mayor prevalencia fue el 53 con el 7%, genotipos 61, 62, 81 con 6%, genotipos 6, 66 y 70 con 4%, genotipo 54 con 3%, genotipo 84 con 2%, genotipos 42, 71, 72, 73 y 83 con 1%. La técnica fue viable para la detección de genotipos de HPV de alto y bajo riesgo. Se necesitan estudios de mayor escala y anuales para el mejoramiento de la línea base.

Giménez G y et. Al³⁴. (Paraguay, 2014). Tesis: Una propuesta rápida y económica para detectar el virus de papiloma humano por PCR a partir de muestras cervicales con reactivo desnaturalizante”. El objetivo fue detectar el genoma de HPV por PCR a partir de muestras de CH IIa cien veces diluidas. Este trabajo ha demostrado la utilidad de la captura híbrida II en la detección del virus del papiloma humano de alto riesgo oncogénico (HR-HPV) como método de tamizaje primario para detección de cáncer de cuello uterino, así como las bondades de la PCR, que permite acceder a métodos de tipificación viral. El estudio fue transversal en 141 muestras cervicales de mujeres con citología normal y anormal que concurren al IICS, UNA. Las

muestras fueron procesadas por CH IIa y almacenadas con reactivo desnaturalizante a 80°C. Diecisiete de 23 muestras positivas por CH IIa con carga viral relativa baja fueron negativas por PCR. Esto podría deberse a la degradación del material.

Torres M³⁵. (Ecuador, 2009). Tesis: Evaluación de los Resultados de Papanicolaou como Indicador de Cáncer de Cuello Uterino en las Mujeres en Edad fértil de 20 a 45 años, que acuden a consulta en el Sub Centro de Salud “29 de noviembre” de la ciudad de Santa Rosa”. El objetivo fue, realizar una evaluación de los resultados de las pruebas de Papanicolaou realizadas a mujeres de edad fértil de 20 a 45 años, quienes acudieron a la consulta del Sub centro “29 de noviembre”, ésta evaluación se la realizó revisando las historias clínicas únicas del año 2009 de dicho centro de salud. El estudio fue de carácter descriptivo, los objetos del estudio fueron los resultados de los exámenes de Papanicolaou, el tamaño de la muestra fueron 190 historias clínicas con sus respectivos exámenes de Papanicolaou. Los resultados obtenidos fueron: la gran mayoría de pacientes en consulta externa, han ido una vez al sub centro de salud en un 85.7%, entregándosele el resultado de su prueba de PAP al 95.78%; las mujeres incluidas en ésta investigación, en su mayoría están en un rango de edad entre 20 y 45 años, han gestado entre 1 y 6 veces, con mínima presencia de abortos esporádicos, su estado civil fue de unión libre en un 53,15% y han cursado solamente la primaria en su mayoría. El 30% de las mujeres de 20 a 35 años han demostrado inflamaciones moderadas. De los 190 casos estudiados el 51.57% no han presentado ITS y el 48.42% si las tuvieron, de las cuales el 40% de ellas fueron por vaginosis bacteriana y el 8,42% otras infecciones. El 83,15% el resultado fue negativo para cáncer uterino, el 12,63% dio un resultado indeterminado,

mientras que el 3,15% fue una neoplasia intraepitelial cervical grado I (NIC 1) y el 1,02% NIC 1 + HPV.

Mendoza LP y et. Al³⁶. (Paraguay, 2008). Tesis: “Características clínico-demográficas y tipificación del virus de papiloma humano en mujeres paraguayas con citologías negativas para lesión escamosa intraepitelial”. El objetivo de este estudio fue determinar características clínico-demográficas y los tipos de HPV presentes en mujeres con citología negativa para lesión escamosa intraepitelial. Estudio de corte transversal con componente analítico en 207 mujeres con citología negativa para lesión escamosa intraepitelial provenientes de centros de salud de Asunción. La tipificación fue realizada por reacción en cadena de la polimerasa utilizando cebadores MY09/11 y GP5/GP6, seguida de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción e hibridación lineal reversa, respectivamente. La asociación entre HPV y las características clínico-demográficas fue determinada por análisis de Chi cuadrado (EpiInfo versión 3,2). Se detectó alta frecuencia de HPV (21%), siendo el tipo predominante HPV 16 (4,3%) seguido de HPV 58/31 (2,4% cada uno). Se observó asociación entre la presencia de HPV y la edad ($p=0,0002$), detectándose mayor frecuencia de HPV en mujeres menores a 30 años, la cual, disminuyó al aumentar la edad, presentando un ligero aumento en mujeres de 60 años o más.

Antecedentes nacionales

Li, Padilla, Gutiérrez e Híjar³⁷. (Lima, 2016). Tesis: Detección molecular y genotipificación de virus del papiloma humano como tamizaje de cáncer de cuello uterino: posibilidades en el contexto peruano. El objetivo fue realizar una revisión sistemática de la literatura; concluyendo que el cáncer de cuello uterino (CCU) sigue siendo una importante causa de muerte en las mujeres

de países en desarrollo, donde el tamizaje primario con citología cervical no ha logrado reducir la prevalencia de las fases avanzadas de la enfermedad. En este contexto, la detección molecular del virus de papiloma humano (VPH) ha demostrado ser una prueba más sensible que la citología cervical, y a la vez menos específico. Esta prueba podría utilizarse en el contexto peruano cuando hay presencia de células escamosas de significado incierto (ASCUS) para una mejor orientación preventiva y terapéutica. Adicionalmente, para mejorar la detección temprana de CCU podríamos incluir la identificación de genotipos del VPH al tamizaje con citología cervical; sin embargo, esto implicaría un alto costo en un plan nacional. Por lo tanto, es necesario realizar evaluaciones económicas de los métodos diagnósticos para el tamizaje primario de CCU teniendo en cuenta la epidemiología de la enfermedad y los costos asociados a nuestra realidad.

Valerio, Ingrid³⁸. (Lima, 2016). Tesis: “Valoración de la citología y la colposcopia como pruebas de detección precoz del cáncer de cuello uterino en pacientes del Instituto Nacional Materno Perinatal” El objetivo de este trabajo es evaluar la validez de la citología convencional y la colposcopia como pruebas de detección precoz de displasia moderada, severa, carcinoma in situ o carcinoma invasivo de cérvix. La citología presenta una sensibilidad de 39.66%, una especificidad de 91.38%, un valor predictivo positivo de 82.14%, un valor predictivo negativo de 60.23%. La colposcopia presenta una sensibilidad de 77.59%, una especificidad de 63.79%, un valor predictivo positivo de 68.18% y un valor predictivo negativo 74%. El área bajo la curva de ROC de la colposcopia con un valor de 0.7201 fue mayor al área bajo la curva de ROC de la citología con valor de 0.6892, lo que sugiere una mejor capacidad de discriminación de la enfermedad.

Sullcahuaman, Allende ³⁹ . (Lima, 2014). Tesis: " Características sociodemográficas de mujeres peruanas con virus papiloma humano detectado por PCR-RFLP". Con el objetivo de determinar las características sociodemográficas del virus de pacientes con papiloma humano (VPH) referidas al Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) durante los años 2012-2014, se realizó la detección del VPH en células cervicales por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En 465 muestras cervicales se detectaron 151 (32,5%) casos de VPH positivas. Los genotipos más frecuentes fueron VPH-16 (23,8%) y VPH-6 (11,9%). La presencia de VPH fue mayor en mujeres de 17 a 29 años (OR 2,64, IC 95%:1,14-6,13) y solteras (OR 2,31, IC 95%: 1,373,91), la presencia de genotipos de VPH de alto riesgo fue mayor en solteras (OR 2,19, IC 95%: 1,04-4,62). En conclusión, mujeres jóvenes y solteras presentaron mayor frecuencia de casos VPH-positivos a quienes se debe enfatizar la participación en programas de tamizaje con métodos moleculares y citológicos combinados, a fin de detectar oportunamente el riesgo de desarrollar cáncer de cuello uterino.

Santos, Carlos⁴⁰. (Lima, 2007). Tesis: "Virus del papiloma humano y cáncer del cuello uterino en el Perú" El objetivo de la presente comunicación es revisar algunos aportes de investigación llevados a cabo en el Perú acerca de la relación del virus del papiloma humano con el cáncer de cérvix. A diferencia de lo que ocurre con otros tipos de patología, los estudios epidemiológicos acerca de VPH se hicieron después de los estudios moleculares. En la década del 90, el reinado de las 'hibridaciones' terminó, pues fueron reemplazadas por una técnica de mayor sensibilidad, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Utilizando este método fue que Ivonne Guerrero y un grupo de investigadores del Centro de Investigación en Cáncer

'Maes Heller' intentaron averiguar cuál era la prevalencia de la infección por VPH en una población aparentemente sana. Se hizo un muestreo mujeres asintomáticas, en edad fértil, de un área marginal de Lima, encontrándose que la prevalencia de infección era de 20,17%, es decir que, una de cada cinco mujeres aparentemente sanas era portadora del ADN viral, evidenciando que se trata de una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes.

2.2 Bases Teóricas

Virus del Papiloma Humano según la OMS

Los papilomavirus humanos (PVH) son la causa de la infección vírica más común del tracto reproductivo. La mayoría de las mujeres y los hombres sexualmente activos contraerán la infección en algún momento de su vida y algunas personas pueden tener infecciones recurrentes.

El punto álgido en que hombres y mujeres contraen la infección es poco después del inicio de la vida sexual. Los PVH se transmiten por vía sexual, si bien no es necesario que haya una relación sexual con penetración para que se produzca la transmisión. El contacto directo con la piel de la zona genital es un modo de transmisión reconocido. Hay muchos tipos de PVH y una gran mayoría de ellos no causa problemas. Por lo general, las infecciones por PVH suelen desaparecer sin ninguna intervención, unos meses después de haberse contraído, y alrededor del 90% remite al cabo de dos años. Un pequeño porcentaje de las infecciones provocadas por determinados tipos de PVH puede persistir y convertirse en cáncer. El CCU es, con mucho, la enfermedad más frecuente entre las relacionadas con los

PVH. Casi todos los casos de CCU pueden atribuirse a una infección por PVH.

Si bien los datos sobre cánceres anogenitales distintos al CCU son escasos, cada vez hay más estudios científicos que asocian los PVH con el cáncer de ano, vulva, vagina y pene. Aunque esos tipos de cáncer son menos frecuentes que el CCU, su asociación con los PVH hace que puedan prevenirse mediante estrategias de prevención primaria similares a las de este.

Los tipos de PVH no oncogénicos (en especial el 6 y el 11) pueden provocar verrugas genitales y papilomatosis respiratoria (enfermedad caracterizada por la aparición de tumores en las vías respiratorias que van de la nariz y la boca hasta los pulmones). Si bien esta enfermedad raramente es mortal, el número de recidivas puede ser considerable. Las verrugas genitales son muy frecuentes y muy contagiosas.

Virus del papiloma Humano (VPH)

El VPH pertenece a la familia Papovaviridae, género Papillomavirus. Su genoma presenta DNA circular de doble cadena. No posee envoltura viral. Su cápside está compuesta por 72 capsómeros que rodean el genoma del virus. Estos capsómeros están formados por dos proteínas estructurales, L1 que constituye el 80% de la proteína viral y L2 que es la proteína menor de la cápside⁴¹. El genoma viral está dividido en tres regiones: la región larga de control (LCR, *long control region*) que no tiene potencial para codificar; la región de las proteínas tempranas (E1 E8, *early*), y la región de las proteínas tardías (L1 y L2, *late*). Las proteínas E1 y L2 son necesarias para la replicación extracromosómica del virus y, por ende, para completar el ciclo vital del virus⁴².

La importancia de su asociación con el CCU está relacionada a una infección persistente, así como infección por más de 15 tipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 y posiblemente genotipos 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82)⁴³. Cuando los VPH de alto riesgo (tipo 16 y 18) infectan la mucosa del cuello uterino, generan desregulación del ciclo celular con alteración de varios genes. Los genes p27KIP1, Ciclina E, CDK4, p16^{INK4A} y Rb se alteran tempranamente, mientras que la Ciclina D1, MDM-2, p53 y p21waf son aberraciones que ocurren tardíamente en la carcinogénesis⁴⁴.

La conversión neoplásica en un epitelio infectado por VPH es puntual y está directamente inducido por los oncogenes E6 y E7 de los tipos virales de alto riesgo, los cuales provocan inestabilidad cromosómica en las células basales y para basales del epitelio involucrado⁴⁵.

La expresión inmunohistoquímica del gen p16^{INK4a} en la neoplasia intraepitelial cervical, se manifiesta de manera difusa o en todo el espesor del epitelio, desde los niveles de NIC1 hasta NIC3, y parece ser un marcador de infección persistente con VPH de alto riesgo⁴⁶.

Clasificación de los VPH

Los tipos de VPH que infectan las mucosas son aproximadamente cuarenta. Se subdividen en dos grupos con diferente categoría de riesgo de desarrollo de cáncer 6 - 11: los VPH de bajo riesgo (VPH-BR) entre los que se incluyen los VPH tipos 6, 11, 42, 43 y 44, comúnmente presentes en las lesiones benignas con mínimo riesgo de progresión maligna, y los VPH de alto riesgo (VPH-AR) que abarcan los VPH tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59, los cuales, bajo la forma de infección persistente, pueden conducir a la transformación neoplásica. Estos virus son considerados carcinógenos

clase I, según lo sugerido por la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC 2009)⁴⁷

Tipos virales en citología normal y lesiones del cuello uterino de distinto grado

Numerosos estudios han demostrado que el tipo viral más frecuente mundialmente es el VPH 16. Distintos tipos virales pueden ocupar los siguientes lugares en orden de frecuencia según la región geográfica y el diagnóstico citohistológico, entre otros factores.

En mujeres con citología cervical normal, la positividad para VPH oscila entre 10 y 15% a nivel mundial⁴⁸. Se puede identificar una amplia variedad de tipos virales; en general el VPH 16 ocupa el primer lugar, aunque sin un predominio marcado⁴⁹.

En todas las lesiones intraepiteliales del cuello uterino (SIL o CIN) se detecta VPH, ya que es su agente causal; sin embargo, el espectro de los tipos virales varía según la gravedad de la lesión. En las lesiones intraepiteliales de bajo grado (LSIL), también llamadas neoplasias intraepiteliales cervicales grado 1 (CIN 1), puede encontrarse gran diversidad de tipos virales. Un metaanálisis mundial observó que el VPH 16 fue el tipo más frecuente (26.3%), seguido de VPH 31 (11.5%), VPH 51 (10.6%) y VPH 53 (10.2%)⁵⁰.

En las lesiones intraepiteliales de alto grado (HSIL), que comprende las llamadas neoplasia intraepitelial cervical grado 2 (CIN 2) y neoplasia intraepitelial cervical grado 3 (CIN 3), el espectro de tipos virales es más restringido, con predominio de los VPH-AR, en especial VPH 16 y 18 (50%)⁵¹.

En los CCU, los tipos virales que ocupan el primero y segundo lugar son los VPH 16 y 18, respectivamente, alcanzando juntos alrededor del 70% de la etiología de las neoplasias a nivel mundial. En América Latina y el Caribe, el

mayor meta-análisis realizado que incluyó más de 5500 CCU confirmó este hallazgo, siendo los seis siguientes más comunes los VPH 31, 45, 33, 52, 58 y 35, que sumados a los VPH 16 y 18 son responsables del 86.5% de esta neoplasia en la región (Fig. 1).

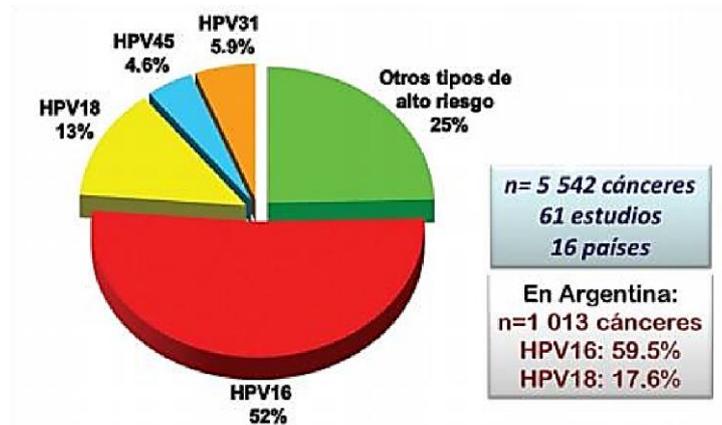


Imagen. 1: Tipos de VPH en cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe: una revisión sistemática de estudios epidemiológicos. (Fuente: Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. PLoS One. 2011;6(10):e25493).

En el caso particular de los adenocarcinomas de cuello de útero, que representan un subgrupo minoritario dentro de los CCU (10-20%), en general más agresivos, la variedad de genotipos virales encontrados es mucho menor; solamente los VPH 16, 18 y 45 son los responsables de más del 90% de estas neoplasias⁴⁵. Es frecuente la presencia de más de un tipo viral en muestras anogenitales (20-30%); las implicancias de estas infecciones múltiples en la patogenia del cáncer son aún controvertidas. Trabajos recientes han demostrado que coinfecciones con múltiples tipos virales de alto riesgo se asocian con un riesgo significativamente aumentado de CIN 2 o mayor; sin embargo, el riesgo de enfermedad fue similar a la suma del riesgo estimado en forma individual para cada uno de los tipos virales, con baja evidencia de sinergismo. Aunque con menor frecuencia, en CCU también se han detectado infecciones múltiples, aunque se ha observado

que la lesión maligna es inducida solo por uno de los tipos virales presentes⁵².

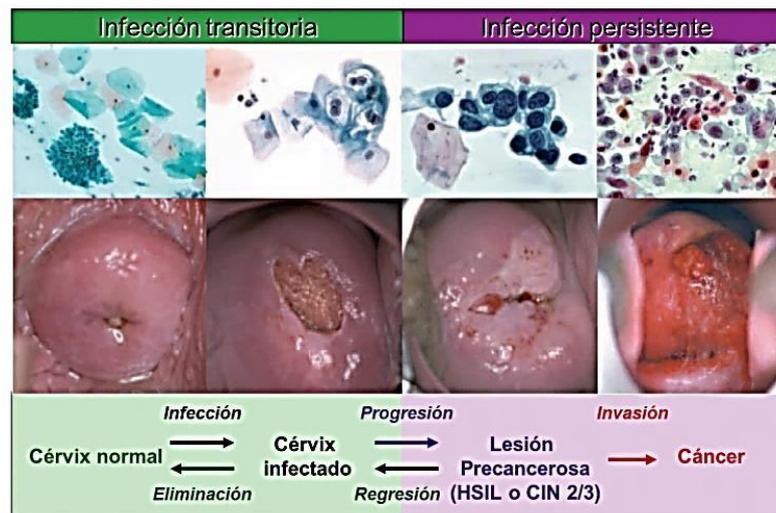
Patogenia del VPH en el tracto genital: infecciones transitorias vs persistentes.

La infección por VPH está ampliamente distribuida en la población general, siendo la infección de transmisión sexual la más frecuente. Se estima que más del 70% de las personas sexualmente activas tendrán contacto con el virus en algún momento de la vida⁵³. La Fig. 2 esquematiza el modelo actual de la historia natural de la infección por VPH y el CCU. La mujer adquiere la infección a través de relaciones sexuales con parejas infectadas, por lo que la frecuencia de esta infección presenta un pico en la edad de inicio de la actividad sexual (15 - 25 años). Más del 80% de estas infecciones (aun las producidas por los VPH-AR, con o sin anomalías citológicas), son transitorias, es decir que son controladas por el sistema inmune y se hacen indetectables en aproximadamente 1-2 años⁵⁴.

Durante la infección productiva, en las células cervicales pueden observarse cambios morfológicos benignos inducidos por el virus, que se asocian con CIN 1 o LSIL. Por otro lado, existe un grupo minoritario (menos del 20%, aunque numéricamente importante dada la alta circulación viral) de infecciones producidas por tipos de VPH-AR que persisten; éstas son las infecciones que concentran el foco de la atención, ya que tienen una mayor probabilidad de avanzar a CIN 2/3. Se estima que el tiempo necesario para progresar a la malignidad, en caso de permanecer sin tratamiento, es de varios años. El pico de incidencia de las lesiones precancerosas ocurre aproximadamente a los 30-40 años y el del CCU cerca de una década después. Por esta razón, los

programas de tamizaje están dirigidos a mujeres a partir de los 25- 30 años, con el fin de identificar aquellas portadoras de lesiones precursoras⁵⁵.

La Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC, Lyon, Francia), perteneciente a la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha establecido en 1995 que los VPH-AR son carcinogénicos en humanos⁵⁶. Esta carcinogénesis está sustentada en evidencias epidemiológicas y experimentales que indican que proteínas de esos virus interfieren en el control de la proliferación celular⁵⁷. Así se marcó un hito, poniendo fin a la controversia sobre el rol etiológico del virus en el desarrollo del cáncer y señalando a la infección por VPH como condición necesaria para la génesis del tumor. Esto dio lugar a la apertura de un nuevo y amplio campo de trabajo en la inmunoprevención y la aplicación clínica de la detección viral.⁵⁸



Imágen. 2 Historia natural de la infección por HPV en el cuello uterino.

(Adaptado de Schiffman M y col)

Filogenia y evolución del VPH

Estudios en filogenia sugieren que el VPH es monofilético, con origen en África y que coevolucionó con los humanos⁵⁹. Se ha encontrado que existen diferentes tasas evolutivas entre y dentro de los tipos de Papiloma virus (PV)

para los diferentes ORF. Por lo que la coevolución no es el único mecanismo que ha llevado a la diversificación de los PV⁶⁰.

Un estudio de las variaciones del VPH 16 y 18 encontró una variación del 1 al 5% del LCR (Región larga de control) entre las variantes predominantes en el Este de Asia, Europa y África. Esto conlleva a decir, en base a la aparición de los grupos étnicos, que la velocidad de evolución es del 1% por cada 10.000 años en estos genotipos. La variante europea del VPH 16 presente en África, Europa y Asia indica que esta existía antes que las otras variantes aparezcan⁶¹.

La nomenclatura de los papiloma virus a nivel de especie y taxonómicamente superior está regulada por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV, por sus siglas en inglés), mientras que los niveles inferiores como los tipos son regulados por el Centro de Referencia Internacional del VPH. Para la tipificación y respectiva numeración viral se utiliza un sistema basado en la secuencia del ADN del ORF L1 del virus y se compara su homología con otro tipo relacionado. La numeración de un nuevo tipo del VPH es dada sólo luego de haber sido secuenciado su genoma completo y almacenado en el centro de referencia antes citado⁶².

Géneros, especies y tipificación viral

Para ser parte de un «género» diferente dentro de la familia *Papillomaviridae* se debe compartir menos del 60% de identidad con la secuencia del ORF L1 y entre el 23 al 43% de la secuencia entera del virus. Mientras que, las «especies» comparten entre el 60 al 70% de identidad en cada género. Los aislados del VPH son tradicionalmente llamados «tipos» o «genotipos». Por medio de la clonación del genoma completo y secuenciamiento de L1 se determina si un VPH es lo suficientemente variable (más del 10% con

respecto a otro tipo cercano) para lograr ser un nuevo tipo de VPH. Mientras que, un «subtipo» difiere en su secuencia génica del 2 al 10% con respecto al genotipo original; diferencias menores a 2% (más del 2% si es comparada con LCR) son consideradas «variantes»⁶³.

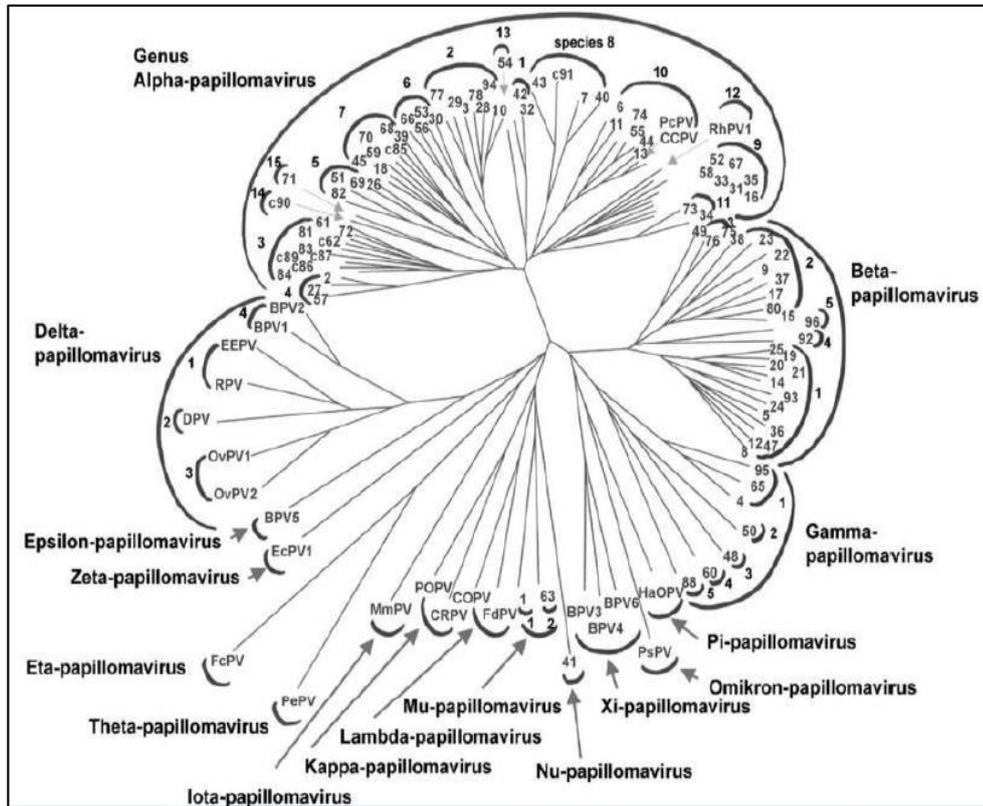


Imagen.3 Clasificación de los *Papillomavirus* en géneros, especies y tipos. **Fuente:** de Villiers, Ethel-Michele, *et al.* (2004).

Hasta el momento, según el Centro de Referencia Internacional del VPH se han identificado 198 genotipos del VPH basado en análisis de secuencias del ADN⁶⁴. El cuadro 1 muestra la localización taxonómica de los tipos del VPH hasta la última actualización del listado de virus de ICTV⁶⁵

<i>Familia</i>	<i>Géneros (39 en total)</i>	<i>Especie</i>	<i>Tipos del VPH</i>
<i>Papillomaviridae</i>	<i>Alphapapillomavirus</i>	<i>Alphapapillomavirus 1al 14</i>	65 tipos
	<i>Betapapillomavirus</i>	<i>Betapapillomavirus 1al 6</i>	51 tipos
	<i>Gammapapillomavirus</i>	<i>Gammapapillomavirus 1 al 20</i>	79 tipos
	<i>Mupapillomavirus</i>	<i>Mupapillomavirus 1</i> <i>Mupapillomavirus 2</i>	3 tipos
	<i>Nupapillomavirus</i>	<i>Nupapillomavirus 1</i>	

Cuadro 1. Breve representación taxonómica del VPH.

Fuente: ICTV.

Estos han sido agrupados en dos grandes grupos, «Bajo Riesgo» y «Alto Riesgo» oncogénico. Algunos tipos del VPH de Bajo Riesgo (BR) oncogénico como el 6 y 11, producen condilomas benignos o verrugas y, raramente, papilomatosis respiratoria (Cuadro 2). Mientras, algunos tipos del VPH de Alto Riesgo (AR) oncogénico, como el 16 y 18, se encuentran asociados a la carcinogénesis cervical y son considerados los tipos más oncogénicos⁶⁶.

El VPH 16 y 18 se relacionan remotamente, por lo que se los designa en grupos filogenéticos o «especies» diferentes; estando el VPH 16 en la especie nueve y el VPH 18 en la especie siete. Se conoce que los tipos del VPH son definidos, mientras que las variantes que presenta cada tipo del VPH son numerosas (entre 10 a 100 variantes); pero en comparación a los virus de ARN formando cuasi especies, es sumamente baja⁶⁷.

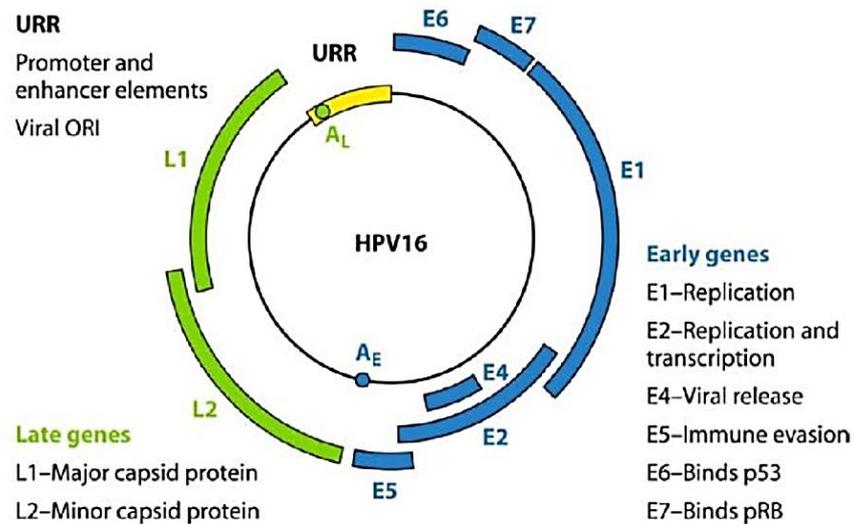
Género	Especie	Tipos de VPH	Riesgo
Alfapapillomavirus	4	2, 27 y 57	VPH de bajo riesgo
	5	26,51, 69 y 82	VPH de alto riesgo
	6	30, 53, 56 y 66	VPH de alto riesgo
	7	18,39,45,59,68 y 70	VPH de alto y bajo riesgo
	8	7, 40 y 43	VPH de bajo riesgo
	9	16, 31, 33, 35, 52, 58 y 67	VPH de alto riesgo
	10	6, 11,13, 44 y 74	VPH de bajo riesgo
Betapapillomavirus	1	5 y 8	VPH de bajo riesgo
Gammapapillomavirus	1	4 y 65	VPH de bajo riesgo

Cuadro 2. Tipos de *papillomavirus* más frecuentes y su riesgo oncológico.

Fuente: De Villiers E-M, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, zur Hausen H.(2004)

Organización genómica

El VPH se encuentra dividido en tres zonas o regiones llamadas: región temprana, región tardía y región regulatoria corriente arriba (URR, por sus siglas en inglés) o también llamada región larga de control (LCR, por sus siglas en inglés)⁶⁸ (Figura 4). Los ORF que presenta pueden sobreponerse uno sobre otro.



Imágen 4. Representación de la organización genómica del VPH. Señal de poly(A) temprana (A_E); Señal de poly(A) tardía (A_L). **Fuente:** Stanley, M (2012).

a. Región temprana

Esta región representa el 45% del genoma total del VPH, su función se centra en el control de la replicación viral. Su nombre proviene del inglés «Early: E». Presenta normalmente seis marcos abiertos de lectura (ORF, por sus siglas en inglés) y en algunos tipos del VPH presenta ocho ORFs⁶⁹. Entre los ORF de la región temprana del VPH y que forman polipéptidos con el mismo nombre se encuentran los siguientes:

E1:

Es la única enzima producida por el VPH, tiene capacidad de unirse a la secuencia viral replicadora (*ori*) y presenta actividad ADN helicasa (ADN helicasa dependiente de ATP)⁷⁰. Es una enzima esencial para la replicación y amplificación del genoma del VPH⁷¹. Su función se basa en desenrollar el ADN viral y producir una horquilla de replicación para que los factores de transcripción puedan interactuar con el ADN viral.

E2:

Esta proteína tiene como función la regulación de la transcripción, el inicio de la replicación y la partición viral⁷². Para la replicación viral (además de E1 y E2) es necesaria la secuencia *ori*, siendo el conjunto de estos tres componentes necesario y suficiente para la replicación del virus en células de mamíferos. Experimentos han mostrado que E2 es esencial y juega un papel importante en la replicación viral, actuando como factor de transcripción y de regulador de E6 y E7⁷³.

E4:

Actúa en la maduración y replicación. Junto a E5 son expresados en las capas superiores del epitelio y, conjuntamente con E1 y E2 participa en la amplificación del ADN viral. Se sugiere que E4 se une a los filamentos de queratina e interrumpe su estructura para la liberación del virión. Este ORF es muy variable entre los distintos genotipos del VPH⁷⁴.

E5:

Es una proteína pequeña de transmembrana⁷⁵. Estimula la proliferación y transformación viral. Interactúa con el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, por sus siglas en inglés) e inhibe la expresión de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad «MHC I y MHC II»⁷⁶. Este polipéptido estimula la producción del ADN viral en queratinocitos primarios, y beneficia la actividad transformante de los oncogenes E7 del VPH de AR, las proteínas ras y el EGFR activado. Se ha descubierto que E5 modifica las características físicas y la composición de la membrana celular⁷⁷.

E6⁷⁸:

Es una oncoproteína transformante. El polipéptido E6 está formado por alrededor de 150aa. La interacción más estudiada de la proteína E6 es la realizada con el supresor de tumor p53. La proteína 53 (p53) normalmente está presente en niveles bajos y no activada transcripcionalmente; si hay daño celular, los niveles aumentan y se activan modificaciones post-traduccionales. Cuando p53 es activada, se inicia la reparación del ADN, la detención del ciclo celular o la apoptosis, dependiendo de la magnitud del daño existente. La activación de p53 también se lleva a cabo por infección del VPH.

Los VPH infectan la capa basal del epitelio, pero para su replicación necesitan células diferenciadas (que apagan su maquinaria de replicación del ADN al terminar su ciclo celular). Por lo cual, el VPH debe activar la replicación del ADN celular y bloquear la actividad de p53 para replicarse. Los VPH de AR bloquean la actividad de p53 mediante su degradación por la vía ubiquitina-proteosoma. Para la degradación de p53, E6 debe unirse al dominio de reconocimiento de sustrato de E6AP para ser inmovilizado y ubiquitinado.

Tanto las proteínas E6 de los VPH de AR y BR pueden interactuar con p53 y ambos pueden unirse al extremo c-terminal, pero sólo la proteína E6 del VPH de AR puede unirse al núcleo de dominio de unión al ADN de p53 (p53DBD, por sus siglas en inglés).

Otro mecanismo en la que E6 inactiva p53 es mediante su secuestro en el citoplasma, utilizando su unión al extremo c-terminal de p53 y enmascarando la señal de localización nuclear (NLS, por sus siglas en inglés).

E7⁷⁹:

Este ORF se codifica posterior a E6 y está formado de alrededor por 100 aa, aproximadamente. También es una oncoproteína transformante. Para algunas células epiteliales humanas, la expresión de E7 es suficiente para producir la inmortalización celular, pero en los VPH de BR muestran menor capacidad de inmortalización y transformación. La expresión de E7 del VPH de AR causa inestabilidad a nivel del genoma del huésped.

b. Región tardía

Del inglés «Late: L», representa el 40% del genoma del virus y presenta dos genes (L1 y L2), encargados de generar las proteínas de la cápside. Una vez que la replicación del ADN viral se ha llevado a cabo, se expresa estas proteínas para luego empezar el ensamblaje y completar el virión⁸⁰. La expresión de estos ORFs se lleva a cabo en queratinocitos diferenciados⁸¹.

L1⁸²:

Presenta alrededor de 360 moléculas formando la cápside del virus. Los monómeros de L1 en su núcleo se componen de 20 a 382 residuos, con un total de 504 aa para L1 del VPH 16; y figura como un barril β de ocho hebras antiparalelas. Tiene la función de interactuar con el receptor celular y presenta actividad inmunogénica útil para el desarrollo de vacunas.

L2:

L2 es de menor tamaño y forma parte de la cápside, presentando doce moléculas en ella. L2 contribuye a la unión del virión con la superficie celular y ayuda a su empaquetamiento. Al igual que L1, puede ser utilizada como herramienta por su actividad inmunogénica.

c. Región larga de control⁸³

Representa el 15% del genoma viral y controla la expresión de los genes E6 y E7 (1,2,20). La región larga de control (LCR, por sus siglas en inglés) es una región no codificante o URR «upstream regulatory región» que contiene muchos elementos como el origen de replicación (*ori*), regiones de unión del ADN viral con la proteína E2, promotores para la región temprana y zonas para la unión de factores de transcripción de células epiteliales.

Importancia del estudio del Virus del papiloma humano

Toda persona con una vida sexual activa puede infectarse con VPH, produciendo a veces, sintomatología años después del contacto sexual inicial. Este virus puede ser propagado al tener sexo vaginal, anal u oral con una persona infectada con el virus o asintomática, mediante contacto de los genitales piel con piel⁸⁴, mediante transmisión vertical (de madre a hijo), e incluso, raramente, con besos con la boca abierta «besos franceses o besos profundos». El VPH, usualmente desaparece del cuerpo luego de la infección, sin causar problemas de salud; pero, pueden existir infecciones persistentes que representan un problema y peligro para la salud, como lo son las verrugas anogenitales y el cáncer⁸⁵.

El VPH infecta células epiteliales y puede causar desde verrugas, hasta neoplasia y cáncer. Las infecciones persistentes del VPH oncogénico pueden causar cáncer cervicouterino, de pene, anal, entre otros⁸⁶.

Asimismo, existen coinfecciones con VPH. Las infecciones múltiples por VPH se encuentran entre el 10 al 20% de los casos confirmados⁸⁷. Según la literatura, la mayoría de infecciones múltiples o coinfecciones son dobles, existiendo también infecciones triples, cuádruples y quíntuples⁸⁸.

Detección de VPH mediante técnicas de biología molecular en la patología cervical⁸⁹

Entre las técnicas que se emplean para detección y genotipificación del VPH se tienen:

- a. **Hybrid Capture 2 (HC2)**. Es un método semicuantitativo no radiactivo. Se basa en la hibridación del DNA-VPH usando sonda de RNA que se complementa a una secuencia común para 13 tipos de VPH considerados de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68), que reaccionan con anticuerpos monoclonales específicos que revelaran el virus por quimioluminiscencia.

Estas características hacen que esta técnica sea muy sensible, y de fácil adopción en los laboratorios de rutina y ensayos clínicos, además de ser una técnica aprobada por la FDA (Food and Drug Administration).

La técnica HC2 presenta las siguientes ventajas: (1) fácil instalación y aplicación en los laboratorios de rutina; (2) no requiere personal con experiencia en técnicas moleculares; (3) presenta alta sensibilidad (96-98%), y (4) está indicado en resultados de ASCUS.

Esta técnica también presenta varias limitaciones o desventajas. Primero, solo emite resultado positivo o negativo a VPH de alto riesgo, sin identificar el tipo viral específico. Segundo, sus resultados pueden ser hasta un 8% falso negativo como consecuencia de una carga viral baja o por sustancias que interfieren en el ensayo, principalmente antifúngicos en crema o anticonceptivos en gel. Finalmente, esta técnica puede presentar reacciones cruzadas con algunos tipos de VPH no oncogénicos.

- b. **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**.

En la actualidad la PCR es el método más sensible para la detección de VPH; sin embargo, existen diferentes protocolos para detectar un amplio espectro de genotipos de VPH que utilizan partidores genéricos que reconocen secuencias específicas del genoma viral⁹⁰. Los protocolos, en su mayoría, usan juegos de oligonucleótidos dirigidos a la región del gen L1 altamente conservadora entre los tipos virales. Entre ellos destaca el uso de los oligonucleótidos GP5+/6+ y los MY09/11 degenerados⁹¹.

Para la tipificación de genotipos virales a partir de los productos de la amplificación, se utilizan distintos métodos: Southern Blot, Hibridación Dot Blot, fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP), secuenciación y enzimoimmunoensayo⁹².

La PCR para VPH puede verse alterada por la presencia de diversas sustancias que inhiben la reacción de amplificación. Por estas razones, la mayoría de laboratorios han incorporado la amplificación de un control interno, por ejemplo, la beta-globina se utiliza en cada ensayo de PCR como un indicador para detectar la inhibición potencial y/o integridad de la muestra. Esto es particularmente importante para muestras de tejido conservado en parafina, donde puede haber degradación del DNA; por tanto, se recomienda evaluar previamente la integridad de la muestra⁹³.

Entre los sistemas con mayor sensibilidad para determinar la infección por VPH destaca la PCR en tiempo real. Un método muy usado en estudios epidemiológicos y clínicos que permite estimar con gran precisión la carga viral⁹⁴. Asimismo, existen dos sistemas fundamentados en la PCR comúnmente utilizados para la detección de los genotipos del VPH⁹⁵.

Aunque algunos genotipos del VPH pueden producir anomalías citológicas, no todos tienen implicancia clínica en el desarrollo de una

probable lesión maligna, por ello es importante contar con la genotipificación del VPH. Factores que influyen como predictores para el desarrollo de lesiones de alto grado, son las infecciones persistentes por un mismo tipo de VPH de alto riesgo, como se observó en una cohorte de 354 mujeres con infección persistente por VPH de alto riesgo, donde el 9,3% desarrollaron una NIC3 (severa displasia) en un seguimiento de 33 meses⁹⁶. Otros factores que influyen como predictores de lesiones de alto riesgo son las infecciones múltiples permanentes⁹⁷.

Pruebas moleculares y tamizaje de Cáncer cervical

Los programas de detección precoz de CCU han ido variando desde su creación y, hasta la fecha, no han tenido un impacto positivo en la esperanza de vida de los pacientes, probablemente por alguna relación con el curso indolente de esta patología⁹⁸.

La prueba visual con ácido acético es el examen más simple y de menor costo para el tamizaje de CCU, usualmente se practica en países no desarrollados. Consiste en aplicar 3 a 5% de solución de ácido acético en el cuello del útero, donde se pueden visualizar lesiones marcadas por el químico. Esta prueba tiene una sensibilidad y especificidad del 84% (66-96%) y 82% (64-98%) respectivamente, y una alta tasa de falsos positivos⁹⁹.

La citología cervical es el método más usado y durante mucho tiempo fue el estándar de oro para el tamizaje de CCU, aun con deficiencias y potenciales propios de la técnica, conservación y/o lectura. Su sensibilidad oscila entre 55-94% y varía de acuerdo al laboratorio, citologista, muestra adecuada y técnica de fijación; tal como lo demostró un metanálisis de 94 estudios de citología convencional con Papanicolaou y tres estudios con citología en base líquida que dieron una sensibilidad variada de 30 a 87%¹⁰⁰. En

consecuencia, la sensibilidad varía entre países y la experiencia del laboratorio.

Los estudios de tamizaje de CCU en Norteamérica y Europa muestran que la detección molecular de VPH es más sensible que la citología cervical en la detección de lesiones NIC2 o superior (96,1% vs 53%) y, a la vez, menos específico (90,7% vs 96,3%)¹⁰¹. Estas cifras son similares a un estudio canadiense donde incluyeron 10 000 mujeres, y encontraron una sensibilidad de 94,6% vs 55,4% con citología, y especificidad de 94,1% vs 96,8%¹⁰². Por otra parte, los resultados del estudio ATHENA realizado en 47 000 mujeres de EE. UU para comparar el rendimiento entre la identificación de DNA-VPH de tipo 16 y/o 18 versus citología líquida como screening de CCU, demostraron que el 10% de pacientes con resultado positivo a VPH tipo 16 o 18, tuvieron lesiones cervicales de alto grado que no habían sido detectados previamente en la citología cervical¹⁰³.

Las recomendaciones actuales para la detección de cáncer cervical fueron realizadas de forma conjunta por la Sociedad Americana del Cáncer (ACS), la Sociedad Americana de Colposcopia y Patología Cervical (ASCCP) y la Sociedad Americana de Patología Clínica (ASCP) en el año 2012 y fueron aprobados en el Congreso Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG) el mismo año¹⁰⁴. Los acuerdos finales de este consenso fueron los siguientes:

- La detección del carcinoma cervical debe iniciarse a los 21 años, sin tener en cuenta la edad de inicio de relaciones sexuales o el estado de vacunación contra VPH. La prueba de tamizaje para este grupo debe ser exclusivamente con citología cervical cada 3 años hasta llegar a los 30 años de edad.

- En mujeres de 30 a 65 años, el tamizaje debe incluir citología cervical y detección de VPH cada 5 años, aunque realizar la citología cervical cada 3 años es aceptable.
- En mujeres >65 años, sin antecedentes de NIC2, o superior y que hayan tenido resultados negativos en controles previos puede suspenderse el tamizaje.
- Las mujeres con antecedentes de NIC2 o superior, deben seguir en vigilancia durante 20 años tras el seguimiento posterior al tratamiento inicial, independiente de si se han realizado histerectomía total o no.

Los estudios de costo-eficacia orientados a la introducción de nuevas tecnologías en programas de cribado de CCU, sectorizan los esfuerzos tanto económicos como en salud, en utilizar pruebas de alta sensibilidad y especificidad, y evaluar el costo conveniente de acuerdo a la prevalencia de CCU en cada población. Con esto sugieren que en países en desarrollo la citología podría ser el método de elección, teniendo en cuenta que la población de mayor riesgo (30-50 años) podría realizarse el tamizaje 1 o 2 veces con una prueba de mayor costo y alta sensibilidad¹⁰⁵.

Diagnóstico de VPH HybriBio Limited (PCR)

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 virales¹⁰⁶.

En la actualidad uno de los sistemas más sensibles para determinar la infección por VPH, es la PCR en tiempo real, su utilización en estudios epidemiológicos enriquece la información clínica, ya que además de proporcionar datos sobre la presencia del virus con una gran sensibilidad,

permite estimar con gran exactitud la carga viral¹⁰⁷. Sin embargo, los 2 sistemas basados en la PCR mayormente aceptados y debidamente validados por la Unión Europea (CE Mark) son: The AMPLICOR HPV (AMP) y la prueba para genotipificación Linear Array HPV Genotyping Test 28,29,30 (LA) (Roche Molecular System, Alameda,CA).¹⁰⁸

Amplicor

La prueba AMPLICOR HPV Test (CE-IVD) es una prueba cualitativa in vitro para la detección del VPH en muestras clínicas. La prueba utiliza la amplificación de ADN objetivo mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) e hibridación de regiones amplificadas para la detección del ADN de 13 genotipos de VPH de alto riesgo (mismos genotipos detectados en CH2). En varios estudios, la prueba AMPLICOR HPV Test, ha demostrado una alta sensibilidad para las anomalías NIC II/III en seguimiento a largo plazo, y demuestra índices de desempeño adecuados para su uso en tamizaje primario de cáncer cervical.¹⁰⁹

Linear Array

En la actualidad el sistema más sensibles y específicos para determinar la infección latente, subclínica y activa por VPH, es la prueba “Linear Array Genotyping Test” basada en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la amplificación de una secuencia específica de la región L1, utilizando un par de oligonucleótidos de amplio espectro, seguida de una hibridación con sondas específicas para tipificación individual 37 genotipos de alto y bajo riesgo: 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39, and CP6180. Su utilización en estudios epidemiológicos enriquece la información clínica, ya que permite conocer el tipo específico de VPH y las infecciones múltiples,

lo que posibilita el seguimiento particular de la persistencia de la infección con genotipos de alto riesgo y la identificación de infecciones con los genotipos más oncogénicos como el 16,18,31 y 45.¹¹⁰

Entre los atributos de la prueba LA, se encuentra: su elevada sensibilidad 98% y especificidad 99%; además de incluir controles internos de amplificación (líneas de referencia de beta-globina baja y alta para evaluar la adecuación celular, la extracción y la amplificación individual para cada espécimen procesado) que le confieren elevado valor predictivo negativo, ausencia de reactividad cruzada y excelente reproducibilidad 99.8%.¹¹¹

HybriBio Rapid GenoArray test kit.

Este 21 HPV Geno Array Diagnostic Kit es una prueba cualitativa basada en PCR in vitro para la detección y determinación de 21 ADN de HPV específicos en muestras de cuello uterino. El ensayo está optimizado para detectar 15 ADN de VPH de alto riesgo y 6 tipos de ADN de VPH de bajo riesgo de la siguiente manera: Los de alto riesgo: VPH: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 59, 59, 66, 68; y los de bajo riesgo: HPV 6, 11, 42, 43, 44, 81 (CP8304).



Imagen- 5 Kit de toma de muestra

Principio:

Mediante el uso de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para amplificar el ADN del VPH extraído de muestras cervicales, amplificados de ADN se hibridan con probé HPV específicos ubicados dentro del HybriMem bajo

nuestra tecnología de hibridación de flujo patentada en Estados Unidos. Seguida de un resultado colorimétrico mediante el método de inmunoensayo enzimático.

Protocolo de la toma de muestra

El kit de diagnóstico Geno Array de 21 HPV contiene suficientes reactivos para 30 pruebas. El flujo de trabajo incluye tres pasos:

1. Extracción de ADN del VPH de la muestra cervical.
2. Amplificación por PCR.
3. Hibridación.

(Extracción de ADN del VPH de la muestra del cuello uterino)

Las muestras cervicouterinas podrían recogerse mediante cualquiera de los siguientes medios de transporte Thinprep, surepath, Roche Female Swab Sample Kit, HybriBio Female Sample Collection Kit.

La Genotipificación de VPH es rápida y precisa en macro matriz para la identificación de 21 tipos del virus del papiloma humano (VPH).

Características

- El panel de prueba HPV Geno Array permite identificar 15 tipos de VPH de alto riesgo: VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68 y 6 tipos de VPH de bajo riesgo: VPH 6, 11, 42, 43, 44, 81(CP8304)
- Alta sensibilidad y especificidad: >95%
- Resultados prometedores comparados con Linear Array de Roche, con una mejor detección de VPH 52.
- Control de Amplificación (IC) y control de Hibridación (Biotina) para el monitoreo de todo el proceso.
- El Kit de lisis celular está incluido para la extracción de ADN.

Factores de riesgo que favorecen la persistencia de los PVH y su evolución hacia un CCU

- Inicio de las relaciones sexuales a temprana edad.
- Cambios frecuentes de pareja.
- Consumo de tabaco.
- Inmunodepresión (por ejemplo, las personas infectadas por el VIH corren un mayor riesgo de infección por PVH y padecen infecciones provocadas por un espectro más amplio de estos virus).

Alcance del problema

A nivel mundial, el CCU es el cuarto cáncer más frecuente en la mujer. Se calcula que en 2012 hubo 529,409 nuevos casos, que representaron el 7,5% de la mortalidad femenina por cáncer. De las aproximadamente 274,883 defunciones por CCU que se registran cada año, más del 85% se producen en los países en desarrollo.

En los países desarrollados, se han puesto en marcha programas que permiten que las mujeres se sometan a pruebas de detección de la mayor parte de las lesiones precancerosas en fases en que todavía pueden tratarse fácilmente. En esos países el tratamiento precoz previene hasta el 80% de los casos de CCU.

En los países en desarrollo, el escaso acceso a pruebas de detección eficaces significa que, con frecuencia, la enfermedad no se detecta hasta las fases más avanzadas, cuando aparecen los síntomas. Además, las perspectivas de tratamiento de la enfermedad en una fase tan avanzada no siempre son buenas, por lo que en estos países la tasa de mortalidad por CCU es más alta. La elevada tasa de mortalidad mundial por CCU (52%) podría reducirse con programas de detección y tratamiento eficaces.

Vacunación contra los PVH

En la actualidad existen dos vacunas que protegen contra los PVH 16 y 18, causantes del 70% de los casos de CCU, como mínimo. Las vacunas pueden conferir cierta protección cruzada frente a otros tipos de PVH menos comunes que también son causa de este cáncer. Una de las vacunas también protege contra los tipos 6 y 11, causantes de verrugas anogenitales.

Los resultados de los ensayos clínicos muestran que ambas vacunas son seguras y muy eficaces en la prevención de la infección provocada por PVH 16 y 18.

Las dos vacunas funcionan mejor si se administran antes de la exposición a los PVH. Por tanto, es preferible administrarlas antes del inicio de la vida sexual.

Las vacunas no sirven para tratar las infecciones por PVH ni las enfermedades asociadas, como el cáncer. Algunos países han empezado a vacunar a los niños, dado que la vacuna previene distintos tipos de cáncer genital tanto en hombres como en mujeres; además, una de las dos vacunas disponibles también previene las verrugas genitales en ambos sexos. La OMS recomienda que se vacune a las niñas de edades comprendidas entre los 9 y los 13 años, ya que esta es la medida de salud pública más costo-eficacia contra el CCU.

La vacunación contra los PVH no sustituye a las pruebas de detección del CCU. En los países donde se introduzca la vacuna, podría seguir siendo necesario crear programas de detección o afianzarlos.

2.2.2. Citología cervical o Papanicolaou (PAP)

La citología es el estudio de células individuales que tiene el propósito de detectar anomalías morfológicas de las células examinadas que provienen de la descamación de superficies epiteliales, de líquidos

corporales o se obtienen por aspiración con aguja. La citología cervical o cervico-vaginal, estudia las células exfoliadas de la unión escamo-columnar del cuello uterino y ha sido por años el principal método de búsqueda de cáncer cervico-uterino, ampliamente reconocido por programas de control y prevención de cáncer como un test que ha reducido la incidencia y mortalidad por cáncer de cuello uterino. Algunos datos indican que programas bien organizados de búsqueda citológica de cáncer, han disminuido la mortalidad por este cáncer hasta en un 70%. Además de la detección de lesiones premalignas y malignas, la citología vaginal proporciona información sobre el estado hormonal de la paciente y presencia de microorganismos. La fortaleza del método se basa en décadas de experiencia en su uso, bajo costo, alta especificidad y que las lesiones identificadas pueden ser fácilmente tratables.

Entre las limitaciones del test se encuentra que la toma de la muestra es un proceso potencialmente embarazoso para la paciente, por lo cual en ciertas culturas es difícil de implementar, se considera un método invasivo que requiere personal entrenado y tiene moderada sensibilidad.

Historia

El desarrollo de la citología como campo de estudio de la medicina, necesitó dos condiciones: el concepto de célula y la invención del microscopio. A pesar de que la invención del microscopio data del siglo XVI, el concepto de célula logró aceptación hasta el siglo XVIII por lo que la citología como herramienta diagnóstica tiene sus comienzos a partir del siglo XIX.

A principios del siglo XVII los hermanos Janssen usaron las lentes para crear el microscopio, lo que permitió observar las estructuras celulares con un aumento de 60 veces en relación al tamaño normal, sin embargo, los

microscopios de esa época producían distorsión de imágenes y tenían bajo poder de resolución por lo que al inicio no tuvieron mucha aceptación y no fueron utilizados. Uno de los padres de la citología fue Johannes Müller, de Berlín, quien en 1838 editó una monografía sobre células tumorales malignas; a principios del siglo XIX Joseph Récamier inventó el espéculo vaginal con el cual podía visualizar el cuello uterino y obtener células de la vagina y del cuello uterino.

La citología ginecológica comienza, en sentido estricto, en 1943 con George N. Papanicolaou, quien nació en 1883 en Grecia, estudió Medicina en Atenas y en 1913 emigró a Estados Unidos de América, trabajó varios años en investigación en la Universidad de Cornell de Nueva York, donde se dedicó a estudiar, en animales, el comportamiento cíclico hormonal del epitelio vaginal.

En 1917 publicó en el “American Journal of Anatomy” su famoso escrito “Existencia de un ciclo típico estrogénico en animales; estudio de los cambios fisiológicos y patológicos” que fue la base del estudio de toda su vida. Durante este estudio descubrió la presencia de células tumorales en algunos frotis. El Dr. Papanicolaou dedicó cuarenta y cinco años al estudio de la citología exfoliativa; desde 1923 la propuso como un método para diagnóstico de cáncer uterino, sin embargo, el método no tuvo aceptación. El Dr. Papanicolaou continuó estudiando y mejorando las técnicas de extendido vaginal y cervical, así como técnicas de conservación y tinción de las células. En 1942 publicó la técnica de tinción que conocemos actualmente como Técnica de Papanicolaou; finalmente en 1943 junto al ginecólogo Traut publicó su trabajo, “Diagnóstico de cáncer uterino mediante frotis vaginal” trabajo que significó el reconocimiento internacional

de la citología ginecológica. En años posteriores el nuevo método tuvo gran aceptación, perfeccionamiento y difusión. La persistencia y dedicación del Dr. Papanicolaou permitió hacer de la citología y del frotis vaginal una herramienta clínica común, lo que ha resultado en una disminución del 70% de muertes por cáncer uterino en los últimos 40 años.

Actualmente la citología vaginal con tinción de Papanicolaou constituye el método por excelencia de tamizaje para detección temprana de cáncer de cuello uterino.

Procedimiento

1. Solicitud del examen.

La hoja de solicitud de examen citológico es la principal comunicación entre el laboratorio y el médico, la misma debe llenarse con todos los datos requeridos y con letra legible antes de realizar la toma de la muestra.

2. Toma de la muestra

Los siguientes son requisitos para la obtención de una muestra citológica con condiciones óptimas para su evaluación:

- El examen no debe realizarse durante la menstruación o antes de 3 días de finalizado el último periodo menstrual.
- Cuarenta y ocho horas previas al examen la paciente no debe haberse realizado duchas vaginales, no debe haber tenido relaciones sexuales, no debe haber usado tampones, jabones, cremas vaginales o medicamentos vía vaginal. Para la toma de la muestra se debe seguir una serie de procedimientos los cuales son:
- Rotulación de la lámina.

Previo a la toma de la muestra, la laminilla de vidrio (portaobjetos) debe ser rotulada colocando cinta adhesiva con el nombre completo de la paciente, en la superficie inferior de la laminilla.

- Visualización del cuello uterino

La zona de transformación (unión del exo y endocervix o unión escamo columnar) es donde más frecuentemente se origina el cáncer de cuello uterino por lo cual debe ser el sitio de toma de la muestra. La zona de transformación puede ser fácilmente visualizada o encontrarse muy alta y no visualizarse, esto varía no solo de persona a persona, sino que incluso en la misma persona a través del tiempo por cambios hormonales que incluyen embarazo, menopausia, etc.

- Recolección de la muestra

Existe una variedad de instrumentos para obtener muestra celular del exocervix, zona de transformación y endocervix que incluyen cepillos endocervicales, espátulas de madera y plásticas.

- Realización del extendido

La muestra obtenida del cuello uterino debe extenderse en la laminilla, no frotarla, debe fijarse inmediatamente con spray fijador, de preferencia especial para citología, para evitar el secado al aire que provoca distorsión celular y altera la evaluación de las células.

- Envío a Laboratorios de Citología

Las laminillas una vez fijadas deben ser colocadas en cajas especiales, de plástico, madera o cartón, junto con sus respectivas boletas y ser enviadas a los laboratorios de citología.

3. Procesamiento e interpretación de las unidades de estudio

En los laboratorios de citología los datos de las hojas de solicitud son ingresados a un sistema de información; las laminillas o unidades de estudios son identificadas con un número correlativo y sometidas a un procesamiento que consiste en una serie de pasos, que incluye la tinción con la técnica de Papanicolaou, que permiten su observación al microscopio.

La Tinción de Papanicolaou es un método de tinción policrómico con el que se busca obtener contraste entre el núcleo y el citoplasma de las células; consiste en introducir las laminillas, de una manera secuencial y por tiempo predeterminado, en diferentes soluciones que incluyen: agua, alcohol etílico a diferentes concentraciones, colorantes, acetona y xilol con el propósito hidratar las células y prepararlas para la tinción, colorear los componentes celulares y facilitar la observación al microscopio. Una vez procesadas las láminas se procede a su observación al microscopio óptico con el fin de determinar si la forma, tamaño, patrón de tinción, etc. nuclear y celular son o no normales; se realiza la interpretación de los hallazgos y posteriormente la categorización de los resultados.

4. Informe de resultados

En términos generales el resultado de una citología cervical debe brindar información sobre tres componentes básicos:

- Calidad de la muestra
- Categorización de los resultados
- Interpretación y diagnóstico descriptivo de los hallazgos.

a. Calidad de la Muestra: Es uno de los indicadores más importantes en la evaluación de la citología y permite brindar información al médico remitente sobre el material que ha obtenido en la toma de la muestra, esto fomenta una mayor atención al momento de tomar muestra. Las categorías que se han utilizado son: Satisfactoria, Insatisfactoria y una categoría intermedia denominada Satisfactoria pero limitada.

Satisfactoria: cuando en la boleta de solicitud se consigna todos los datos requeridos, el extendido contiene un número adecuado de células escamosas bien conservadas, y existe representación de la zona de transformación, que se estima con la presencia de células de metaplasia escamosa o de células endocervicales.

No es posible aplicar en todos los casos todos los criterios estrictamente; por ejemplo, si no hay presencia de células de la zona de transformación la muestra se reporta como satisfactoria, pero debe indicarse en el informe para ofrecer al médico remitente información sobre el material que obtuvo.

Insatisfactoria: cuando la muestra no tiene boleta de solicitud, la lámina no está rotulada, la lámina está rota, la celularidad es muy escasa o existe factores (hemorragia, mala preservación, abundante presencia de células inflamatorias) que impiden valorar el extendido.

Cuando la muestra es insatisfactoria se debe consignar si el laboratorio procesó y evaluó la muestra y por qué causa se considera insatisfactoria.

La categoría "Satisfactoria, pero limitada" se eliminó porque genera confusión entre los médicos tratantes y por la variabilidad de lo que en los laboratorios se considera "limitada".

b. Categorías de los Resultados

Los hallazgos del frotis se reportan de acuerdo a las siguientes categorías generales:

- No útil o frotis inadecuado: cuando la muestra es insatisfactoria.
- Negativo por malignidad: el frotis no presenta alteraciones morfológicas de neoplasia maligna o de lesión premaligna (displasia).
- Sospechosa por malignidad. Existen alteraciones morfológicas, pero no son concluyentes
- Positivo por malignidad: el frotis presenta alteraciones morfológicas en células epiteliales escamosas o glandulares, incluye:
 - Neoplasia Intraepitelial Cervical Grado I (NIC I) (Displasia Leve)
 - Neoplasia Intraepitelial Cervical Grado II (NIC II) (Displasia Moderada)
 - Neoplasia Intraepitelial Cervical Grado III (NIC III) (Displasia Severa/carcinoma in Situ)
 - Carcinoma de Células Escamosas
 - Adenocarcinoma

Sistema Bethesda

El sistema de Bethesda para informar la citología cervical, fue desarrollado por un grupo de expertos en Citología, Histopatología y Ginecología en 1988 y ha sido objeto de dos revisiones posteriores, este sistema se realizó con el propósito de informar la citología cervical de una manera clara, proporcionar información relevante al médico y fomentar la comunicación eficaz entre el médico y el laboratorio; en él se introduce una nueva nomenclatura que en contraste con las nomenclaturas que han estado en uso, (NIC o displasias), introduce una interpretación descriptiva

de los hallazgos y emplea el término “citología cervical” en vez de “citología cervico-vaginal” debido a que la mayoría de métodos de obtención de la muestra no tiene como propósito la toma de muestras de la vagina.

El Sistema de Bethesda define una clasificación general (opcional) y la interpretación de resultados. La clasificación general incluye:

1. Negativo para Lesión Intraepitelial o Malignidad: cuando no existe ninguna anomalía de las células epiteliales.
2. Anomalía en Células Epiteliales: cuando se identifica alteraciones celulares de lesiones premalignas o malignas en las células escamosas o en las células glandulares.

En esta se incluyen únicamente dos categorías para las lesiones intraepiteliales escamosas, basándose en que los criterios clínicos de decisión terapéutica (seguimiento o realización de colposcopia) y en que un menor número de categorías disminuye la posibilidad de la variabilidad entre observadores en la interpretación de resultados. Las dos categorías son:

- Lesión Intraepitelial Escamosa de Bajo grado (LIEBG) que incluye infección por HPV y NIC I (displasia leve) y
- Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado (LIEAG) que incluye NIC II y NIC III (displasia moderada, displasia severa y carcinoma in situ).

La clasificación de Bethesda introduce la categoría Células Escamosas Atípicas que utiliza el término ASC-US (células escamosas atípicas con significado indeterminado) la cual refleja las limitaciones inherentes al examen y la dificultad para interpretar ciertos cambios celulares con precisión y reproducibilidad, que existe en ciertos casos, para brindar un diagnóstico definitivo.

La categoría Carcinoma Escamoso es definida como un tumor maligno invasor que presenta diferenciación escamosa de las células.

En cuanto a las anomalías de células glandulares, el Sistema de Bethesda también ha incorporado cambios en el modo de informar las anomalías de estas células tomando en cuenta que los hallazgos glandulares atípicos involucran un aumento de riesgo de que exista una entidad neoplásica maligna relacionada y deben ser clasificados, siempre que sea posible, según el tipo de célula glandular identificada (endocervical o endometrial), para fines de seguimiento y de tratamiento.

Otros aspectos importantes en este sistema de información de citología cervical son, que no incluye los términos "Displasia Glandular Endocervical" ni "Lesión Glandular Intraepitelial de Bajo Grado", además se considera que el adenocarcinoma endocervical in situ es el equivalente al carcinoma in situ de células escamosas o NIC III y precursor del adenocarcinoma endocervical invasor y se eliminó el término Células Glandulares Atípicas de significado Indeterminado (AGUS) para evitar confusiones con el término ASCUS.

Cuadro comparativo citologías cervicales						
BETHESDA	Negativo malignidad	Cambios Reparación	ASCUS- Células escamosas atípicas de significado indeterminado	Lesión Intraepitelial Escamosa		
			ASCH- Células de significado indeterminado y no pueden excluir LEIAG	LEIBG- Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado	LEIAG Lesión escamosa intraepitelial de alto grado	Cáncer invasor
			CGA Células glandulares atípicas			
RICHART	Normal	Inflamación	Neoplasia intraepitelial cervical			
			NIC 1	NIC 2	NIC 3	
OMS	Normal	Inflamación	Displasia leve	Displasia moderada	Displasia grave	Cáncer <i>in situ</i>
PAPANICOLAOU	CLASE I	CLASE II	CLASE III	CLASE IV		CLASE V

Imagen 6 Clasificación de la lesión pre invasora del cérvix

Fuente: Medina Villaseñor EA, Martínez R, Editores. Fundamentos de oncología. 1era edición.

México, D.F: Universidad Nacional Autónoma de México, 2009. P. 34-39.

Confiabilidad

La citología cervical, a pesar de su demostrada habilidad de detección y su papel en la reducción de la mortalidad de cáncer de cuello uterino, como todo test de muestreo, está limitada por resultados falsos positivos y falsos negativos. Hay varios factores que influyen en la obtención de falsos negativos que en general incluyen errores en la toma y procesamiento de la muestra o errores en la búsqueda e identificación de las células malignas y en su interpretación. Cerca de dos tercios de los falsos negativos resultan de error en la toma de la muestra y el tercio restante por error en la detección. Existen múltiples razones por las cuales se puede obtener un resultado falso positivo entre estas: una lesión de bajo grado puede estar presente al momento de tomar la muestra de citología y la lesión puede haber

desaparecido previo a la toma de la biopsia; los resultados falsos positivos ocurren por la dificultad y el carácter subjetivo e interpretativo de la evaluación citológica.

Con el propósito de reducir los falsos negativos y mejorar la prueba de Papanicolaou como examen diagnóstico para cáncer de cuello uterino y sus precursores, se han desarrollado nuevas técnicas entre ellas está la Citología Líquida (Liquid Base Cytology) y la revisión computarizada de las laminillas.

La Citología Líquida (LBC) es una nueva técnica para el procesamiento de las muestras de citología en la cual la muestra se toma como en la citología convencional pero se utiliza un dispositivo de toma al que se puede desprender el cepillo o una combinación de espátula plástica y cepillo endocervical , pero a diferencia de la citología convencional en la que se realiza el extendido inmediatamente en el portaobjetos, en este método el extremo del cepillo desprendido se introduce en una solución fijadora en donde se conservan y dispersan las células, en el laboratorio la muestra es recolectada y concentrada selectivamente a través de filtros y luego transferidas al portaobjetos para su tinción y posterior interpretación. Debido a que la muestra es fijada inmediatamente después de su recolección y que en el proceso se elimina materiales que puedan oscurecer la evaluación de las células epiteliales como sangre, moco y células inflamatorias, hay pocos artefactos en la morfología celular, además las células son depositadas en una sola capa celular (monocapa) todo esto facilita la observación celular.

De las ventajas que se ha obtenido con este método es la reducción de las muestras inadecuadas; según un estudio reduce el rango de inadecuados de

9 por ciento a 1-2 por ciento y disminuye el tiempo empleado en la interpretación porque facilita la observación de las células.

Los estudios realizados estiman que la especificidad de la citología convencional es de 0.98 (95% de intervalo de confianza) y la sensibilidad de 0.51 (95% de intervalo de confianza). En relación a la citología líquida los pocos estudios realizados que utilizan estándares de referencia histológica y colposcópica, reportan sensibilidad y especificidad dentro de los rangos reportados para la citología convencional, sin embargo, los estudios que comparan directamente la nueva técnica con el frotis convencional usando únicamente la citología como estándar de referencia reportan un significativo aumento de la sensibilidad con la citología líquida.

La citología cervical debe considerarse como un estudio de tamizaje o búsqueda de cáncer de cuello uterino que puede considerarse como consulta médica porque implica un proceso de interpretación que ayuda a definir un diagnóstico; el diagnóstico definitivo de cáncer de cuello uterino se realiza por medio de la biopsia.

2.3 Bases conceptuales

- **Papanicolaou:** (PAP) es una manera de examinar células recolectadas del cuello uterino y la vagina. Esta prueba puede mostrar la presencia de infección, inflamación, células anormales, o cáncer. Se debe iniciar su toma desde los 21 años, sin tener en cuenta el inicio de las relaciones sexuales o vacunación contra el PVH, aprobado en el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología 2012¹¹².
- **Citocepillo o Citobrush:** Dispositivo con cerdas finas de nylon, que sirve para la toma del PAP endocervical.

- **Espátula de Ayre:** Dispositivo de madera o plástico que tiene la forma anatómica adaptable al cuello, que sirve para la toma de PAP del exocervix.
- **Virus Papiloma Humano (VPH):** Fue el primer virus DNA identificado hace más de 65 años, pertenecen al grupo I (Virus ADN bicatenario), familia Papillomaviridae con 39 géneros, de las cuales 5 géneros: Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus, Gammapapillomavirus, Mupapillomavirus y Nupapillomavirus infectan a seres humanos. Estos 5 géneros albergan cerca de 200 tipos de virus que forman la clasificación no taxonómica de VPH¹³.
- **Tipificación DNA:** La detección directa del DNA del VPH constituye el método más fiable para identificar el virus. Los procedimientos biológicos moleculares disponibles son: - Hibridación - Prueba de Hibridación in situ (ISH) - Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- **Formas de presentación del VPH:** Clínica (condiloma acuminado): Las imágenes clásicas son apreciables a simple vista. Subclínica: Las características sólo se identifican con ayuda de una solución de ácido acético y colposcopia. Latente: La infección es solo demostrable por medio de pruebas de hibridación molecular HPV-DNA.
- **Colposcopia:** Este estudio incluye la exploración del tracto genital inferior con diferentes aumentos, tanto antes como después de la aplicación de diversos reactivos. Es preciso que incluya el examen del exocervix, orificio cervical externo, unión escamo cilíndrico y cualquier parte accesible del canal cervical.

- **Hibridación molecular:** Técnica moderna de laboratorio utilizada en la detección del DNA y tipificación del VPH entre ellas las más usadas son: -ViraPap – ViraType – Hybrid capture.¹¹⁴
- **Vacuna para VPH:** Existen actualmente dos vacunas contra el VPH, ellos son: Gardasil tetravalente que actúa frente a los tipos 6, 11, 16 y 18, del laboratorio Merck y otra llamada Cervarix del laboratorio GlaxoSmith-Kline que actúa sobre el virus 16 y 18 del VPH. Perú fue el primer país en incorporarla en Sudamérica, seguido por Argentina y Paraguay.
- **Vacuna Nonavalente para VPH:** Gardasil 9[®] presenta una eficacia del 97% en la prevención de lesiones de alto grado en el cuello de útero, vagina y vulva causadas por los cinco tipos oncogénicos de VPH adicionales (31, 33, 45, 52, 58) en mujeres entre 16 y 26 años de edad. Además, la vacuna demostró inducir una respuesta de anticuerpos en mujeres de entre 9 y 26 años frente a los tipos 6, 11, 16 y 18, que fue no inferior a la inducida por Gardasil, la vacuna tetravalente el líder contra VPH. De este modo, se traslada la eficacia de Gardasil a Gardasil 9.

2.4 Bases Epistemológicas

Positivismo: La oncogenicidad del VPH solo se determina con el estudio del genoma viral y la secuencia de sus nucleótidos, evaluada por PCR. Post positivista: Conociéndose la causa del cáncer de cuello uterino se previene el contagio del VPH con atención primaria y tratamiento correspondiente cuando se tiene desarrollado la enfermedad. Los importantes avances que se han generado para comprender el papel fundamental que juega el virus del papiloma humano en el desarrollo del cáncer cervical constituyen una base sólida sobre la cual se pueden implementar nuevas estrategias, enfocadas a

la investigación y prevención de este tipo de cáncer, que sean de gran impacto en Latinoamérica.

El desarrollo de ensayos de alta sensibilidad de detección del ADN ha revolucionado el diagnóstico de VPH y develado varios aspectos cruciales de la infección de VPH para su estudio.

Los virus del papiloma humano representan un grupo heterogéneo de agentes que infectan los tejidos epiteliales y se han asociado con diversas enfermedades neoplásicas. Los tipos 16 y 18 se asocian con el cáncer cervicouterino¹¹⁵ y los 6 y 11 con lesiones benignas, como el condiloma acuminado. Hasta el momento se han descubierto cerca de 200 tipos virales, 100 de éstos bien caracterizados. Los tipos se consideran distintos cuando la secuencia de nucleótidos de su genoma es diferente en más de 10%. Sin embargo, todos los virus del papiloma humano tienen estructura y organización genética similar: se componen de una molécula de ADN circular de doble hebra, de 8,000 pares de bases y una cápside icosaédrica compuesta de 72 capsómeros producidos de dos proteínas estructurales, y no tienen envoltura nuclear. El ADN viral tiene ocho genes, de los cuales seis codifican para proteínas tempranas (E) y dos para proteínas tardías (L). Las proteínas E5, E6 y E7 están implicadas en la transformación neoplásica, y E1 y E2 en la replicación del genoma viral; también, E2 regula la expresión de los genes tempranos y particularmente reprime la expresión de los oncogenes E6 y E7. Los genes L1 y L2 codifican para las proteínas de la cápside. Además de estos genes, el genoma viral tiene una región de 800 pares de bases, conocida como región larga de control o región reguladora, que contiene diversos elementos de regulación de la transcripción y el origen de replicación del virus. Casi la mitad de los virus infecta el conducto genital y el resto

produce verrugas benignas, entre otras lesiones en la piel y las mucosas no genitales. Los virus del papiloma humano asociados con lesiones genitales se dividen en virus de alto y bajo riesgo. Se han identificado 15 tipos virales de alto riesgo (oncogénicos) asociados con el cáncer cervicouterino y con la neoplasia intraepitelial cervical de alto grado; los más comunes son los VPH-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58 y 59. Los virus de bajo riesgo, como los VPH-6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81, etcétera, se asocian con el condiloma acuminado, la neoplasia intraepitelial de bajo grado y las infecciones asintomáticas. Las variantes genéticas del virus del papiloma humano difieren entre sí hasta en 2% de su genoma, y algunos de estos se han relacionado con lesiones más avanzadas o tipos histológicos de comportamiento más agresivos¹¹⁶.

La incidencia de cáncer cervicouterino entre los diferentes países aún no se asocia con la distribución de los tipos virales, pero puede relacionarse con la distribución específica de variantes virales, porque su distribución es diferente por regiones geográficas. Por ejemplo, las variantes del VPH16 tienen distribución distinta entre los cinco continentes. Las variantes asiático-americanas se encuentran principalmente en México, Centro, Sudamérica y España; las variantes africanas en África; las asiáticas en el sudeste de Asia y las variantes europeas en todas las regiones, excepto en África. Se conocen variantes virales para los VPH-18, 33, 45, 52, 53, 58 y 66, entre otros. En México se han detectado variantes del VPH-18, 31, 35 y 45, algunas de ellas asociadas con tipos histológicos de cáncer cervicouterino, cuyo comportamiento es más agresivo (16 y 18)¹¹⁷.

Recientemente se descubrió en México la variedad asiático-americana (compuesta de las subclases asiático-americanas de América del Norte y

asiático-americanas de Centroamérica)¹¹⁸ del VPH-16, detectada en casi la cuarta parte de las mujeres mexicanas con cáncer cervicouterino y su prevalencia no existe, o es muy baja, en el resto del mundo. Las variantes de otros tipos del virus se han estudiado poco, o aún no se investigan la mayor parte de ellos.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Ámbito de estudio.

El estudio se desarrolló en el Hospital II Essalud Huánuco, el cual se encuentra ubicado en el Jr. José Olaya S/N del distrito de Amarilis; departamento de Huánuco (donde se obtuvo la muestra de estudio).

El análisis de las pruebas de Papanicolaou en medio líquido y del PCR se realizó en el Hospital Nivel IV Guillermo Almenara Irigoyen, el cual se encuentra ubicado en la Av. Grau 800, en el distrito de la Victoria, provincia de Lima.

3.2 Población de estudio

Estuvo constituido por todas las pacientes mujeres de 21 años de edad a más que acudieron al consultorio de Ginecología del Hospital II EsSalud – Huánuco, y que tuvieron resultado de Papanicolaou sugerente a infección a PVH a partir del mes de diciembre del 2016 a noviembre del 2017, siendo seleccionado 67 pacientes.

Criterios de Inclusión.

- Pacientes mujeres mayores de 21 años que iniciaron vida sexual.
- Resultados de Papanicolaou anormal, según criterios del sistema Bethesda 2001.
- Que las técnicas de toma de los Papanicolaou hayan sido consideradas óptimas para el estudio y tomadas con espátulas de Ayre y citocepillo.

- Que recibieron apoyo de sus familiares durante las pruebas de test.
- Con consentimiento informado

Criterios de exclusión:

- Pacientes que no aceptaron integrar el grupo de estudio.
- Pacientes que hayan recibido vacunación contra el VPH.
- Pacientes que presentaron enfermedades inmunosupresivas o neoplasias.
- Pacientes histerectomizadas o embarazadas.

3.3 Muestra

Fue una muestra secuencial por conveniencia durante el periodo de un año, incluyendo en el estudio a todas las mujeres que hayan cumplido con los criterios de inclusión y exclusión, obteniendo un total de 52 pacientes.

3.3.1 Unidades de análisis

Pacientes de sexo femenino que se sometieron al examen de Papanicolaou en medio líquido (base Thin Prep Pap Test, con evaluación citopatológica y molecular según PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

3.3.2 Marco muestral:

Relación o listado de pacientes con test de Papanicolaou con resultados anormales tomados a las mujeres del Hospital II Es Salud Huánuco.

3.4 Nivel y Tipo de investigación

El nivel de la investigación ¹¹⁹fue descriptivo, porque se describieron los hallazgos encontrados y correlacional porque se midió el grado de relación entre las variables de estudio

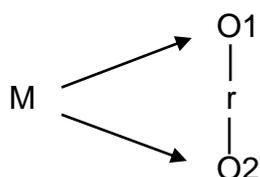
El tipo de investigación¹²⁰ fue:

- **Según la intervención del Investigador**, fue Observacional porque no existió la intervención del investigador; los datos reflejaron la evolución natural de los eventos que obtuvo el investigador.
- **Según la planificación de la toma de datos**, prospectivo porque los datos necesarios para el estudio fueron recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición.
- **Según el número de ocasiones en que mide la variable de estudio**, longitudinal porque las variables fueron medidas en varias ocasiones, mediante el Papanicolaou convencional, el Papanicolaou en medio líquido y el examen con el PCR
- **Según el número de variables analíticas**, fue bivariado, porque el análisis estadístico analizó las dos variables de estudio.

3.5 Diseño y esquema de investigación

El estudio se desarrolló mediante el diseño Observacional, descriptivo, epidemiológico y relacional; porque se originó en el campo de las ciencias de la salud, donde se observaron los eventos adversos a la salud en la población femenina, sobre la presencia oncogénica del Virus del papiloma humano y finalmente se relacionaron a los resultados iniciales obtenidos por el Papanicolaou.

Presenta el siguiente esquema de investigación:



Donde:

M = Muestra

O1 = Observación 1

O2 = Observación 2

r = relación

3.6 Técnicas e instrumentos

Las técnicas utilizadas fueron inicialmente el análisis documental, mediante la recolección de los datos de los pacientes que participaron en el estudio; luego se procedió a la observación, entrevista y los test de evaluación (Kits para el Papanicolaou en medio líquido y el PCR)

Los instrumentos fueron la guía de entrevista, la ficha de observación y el informe de citología cervical en medio líquido y el informe del PCR

Los mismo que se detallan a continuación:

- **Método prolectivo:** Se realizó la recolección de datos de las pacientes durante un año desde el mes de diciembre del 2016 a noviembre del 2017, utilizando las historias clínicas, los informes de Papanicolaou con resultados anormales.
- **Método de observación directa:** Fue realizada por los profesionales médicos involucrados en el estudio, durante la consulta médica examen clínico y toma de muestra del cuello uterino con sospecha patológica. Se usaron los formatos de la historia clínica del Hospital nivel II EsSalud-Huánuco, durante la observación directa y toma de Papanicolaou; se tomó la muestra con el kit de medio líquido para tipificación del VPH según el ADN, entrevista con las pacientes, resultados del estudio citológico y de ADN realizado por los citopatólogos-genetistas de la Institución (HNGAI),

formularios estructurados para este estudio para consolidar los datos de las pacientes asignadas al estudio:

- **Método de entrevista:** Se realizó individualmente, para obtener información complementaria y necesaria para el estudio del problema que presente cada paciente. **La guía de entrevista**, fue estructurada entre el investigador y las pacientes seleccionadas en forma individual para recolectar datos importantes que sirvieron para el desarrollo del trabajo e indicar el tratamiento más adecuado al obtener resultados positivos al problema. El formato fue desarrollado con el que se obtuvo información aplicándose las mismas preguntas a todas las entrevistadas, datos reproductivos, demográficos y de historia clínica sexual.
- **Guía de Observación:** Se observó a las pacientes en estudio, previamente seleccionadas por tener un Papanicolaou anormal según historia clínica y determinar la alteración con un estudio de inspección visual con ácido acético (IVAA), algunas veces con la ayuda de un colposcopio, mostrando el cuello uterino un área blanca que demuestra anormalidad ocasionado por VPH. A todas las seleccionadas se les tomó una muestra para la tipificación del virus a través de un citocepillo y medio líquido a quienes se les realizó el estudio citopatológico y molecular de ADN y determinó el genotipo de VPH, de acuerdo al PCR.
- **Cuestionario:** Fue personalizado, para ello se utilizó un formato desarrollado con el que se obtuvo información aplicándose las mismas preguntas a todas las entrevistadas, datos reproductivos, demográficos y de historia clínica sexual.

3.7 Validación y confiabilidad del instrumento

La confiabilidad de contenido del instrumento se validó a través del juicio crítico de tres expertos, dos médicos Gineco obstetra y una obstetra con grado de Doctor y con certificación de competencias, obteniéndose una aceptación de 90%:

Validación en la valoración del contenido y constructo del instrumento

Nombre de los expertos	Puntaje promedio	Calificación cualitativa
Dra. Leonor Argandoña Salazar	90%	Excelente
Med. Gin. Fredy Raúl Baltazar Anguis	90%	Excelente
Med. Gin. Arnulfo Espinoza Rojas	90%	Excelente
Total	90%	Excelente

Para determinar la fiabilidad de la consistencia interna del instrumento se utilizó el alfa de Cronbach, donde se tuvo en consideración los siguientes criterios:

Criterios de confiabilidad	Valores
Muy baja confiabilidad	-1 a 0
Baja confiabilidad	0,01 a 0,49
Moderada confiabilidad	0,50 a 0,75
Fuerte confiabilidad	0,76 a 0,89
Alta confiabilidad	0,90 a 1

Al realizar la prueba piloto a una muestra de 10 pacientes, obtuvimos un alfa de Cronbach de 0.79 lo cual lo ubicó con un criterio de fuerte confiabilidad.

3.8 Procedimiento:

- Solicitud de autorización al Director del Hospital Essalud II – Huánuco.
- Autorización de las pacientes mediante el consentimiento informado.
- Capacitación del personal profesional y no profesional.

- Recojo de los datos de acuerdo al cronograma.
- Procesos seguidos durante el estudio.
- Prueba de instrumental y reactivos a utilizar para la toma de las muestras de PAP y para la obtención de la muestra de cuello uterino, la cual será determinar el subtipo de VPH por medio del ADN.
- Validez de los resultados obtenidos de los patólogos.
- Supervisión del personal para asegurar el cumplimiento del plan de recolección.
- Coordinación externa e interna.

Pasos que se siguió para la tipificación del VPH en las muestras tomadas:

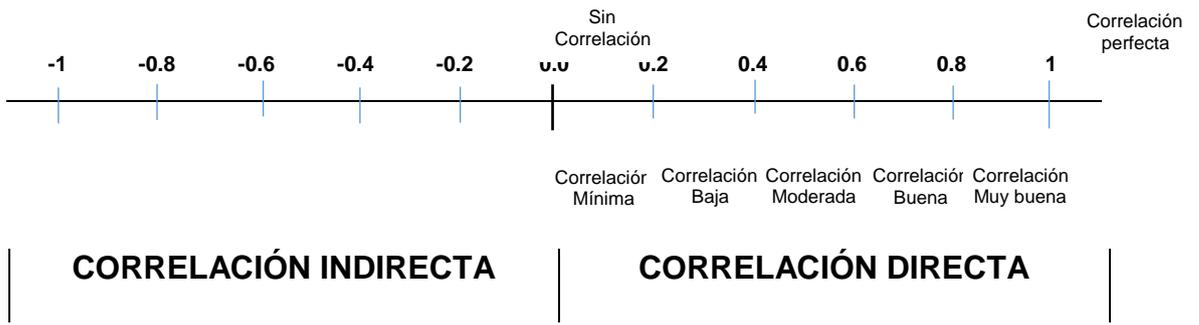
1. Toma de muestra de Papanicolaou convencional a todas las pacientes.
2. Toma de muestra en medio líquido para Papanicolaou y Tipificación del posible papiloma virus: Para lo cual se utilizó un citobrush especial con cerda de nylon tomando la muestra del endocervix y exocervix con cinco rotaciones en sentido horario y cinco en sentido antihorario, luego se introdujo solo el citobrush sin mango al medio líquido especial de fijación y transporte, se rotuló con los datos de la paciente y herméticamente se envió al laboratorio de genética.
3. En el laboratorio, se procedió a la centrifugación, para obtener un precipitado de células endo y exocervicales lavadas para su estudio correspondiente de Papanicolaou y detección de la presencia o no del papiloma virus por hibridación molecular con detección del ADN viral específico para cada genotipo (kit Geno Array de 21 genotipos de HPV para la genotipificación del papiloma virus, que incluye 15 subtipos de alto riesgo y 6 de bajo riesgo oncogénico).

3.9 Plan de tabulación y análisis de datos.

- **Revisión de los datos:** Donde se examinó en forma crítica cada uno de los formularios que se utilizaron y control de calidad de los datos a fin de hacer las correcciones necesarias.
- **Codificación de los datos:** Se realizó la codificación en la etapa de recolección de datos, transformándose en códigos numéricos de acuerdo a las respuestas esperadas en los formularios respectivos, según las variables del estudio.
- **Clasificación de los datos:** Se realizó de acuerdo a las variables de forma categórica, numérica y ordinal.
- **Presentación de datos:**
Se utilizaron tablas académicas para presentar los resultados de cada variable y en figuras de las variables en estudio.
- **Análisis de datos:** La información se registró en el instrumento elaborado para almacenarse posteriormente en una base de datos utilizando el software Microsoft Excel. Para el análisis de datos se empleó el software estadístico SPSS.

Se realizó el análisis de regresión logística multivariado de las características sociodemográficas de la muestra en estudio con citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud Huánuco 2016-2017.

Se estableció la correlación entre las variables con la prueba del Rho de Spearman, teniendo presente la siguiente escala:



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis descriptivo

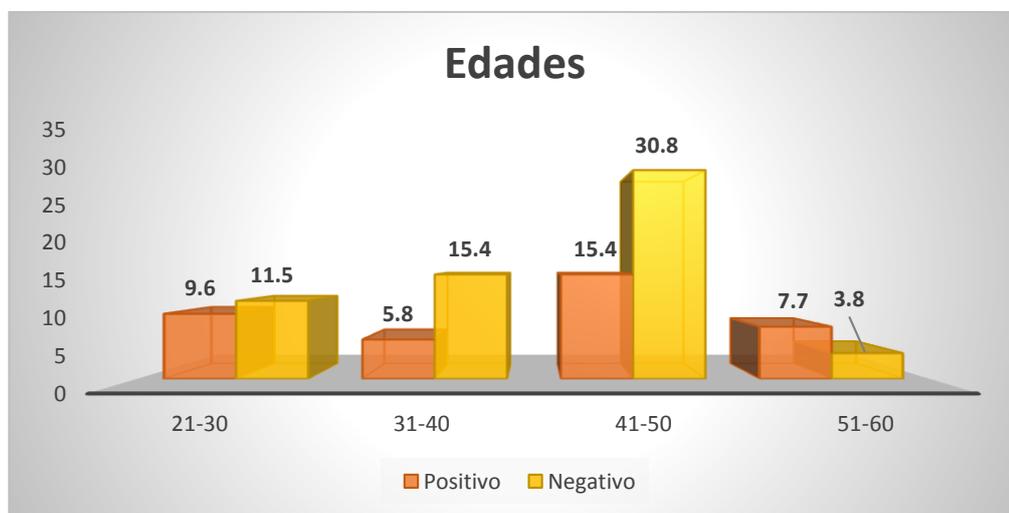
Datos epidemiológicos

Tabla 1: Edad de las mujeres con resultados de positividad a VPH, atendidas en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017

Edades	POSITIVO A PVH		NEGATIVO A PVH		Total	
	Fi	%	Fi	%	Fi	%
21-30	5	9.6	6	11.5	11	21.1
31-40	3	5.8	8	15.4	11	21.2
41-50	8	15.4	16	30.8	24	46.2
51-60	4	7.7	2	3.8	6	11.5
Total	20	38.50%	32	61.50%	52	100%

Fuente: Guía de entrevista

Figura 1. Edad de las mujeres con resultados de positividad a VPH, atendidas en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017



Interpretación

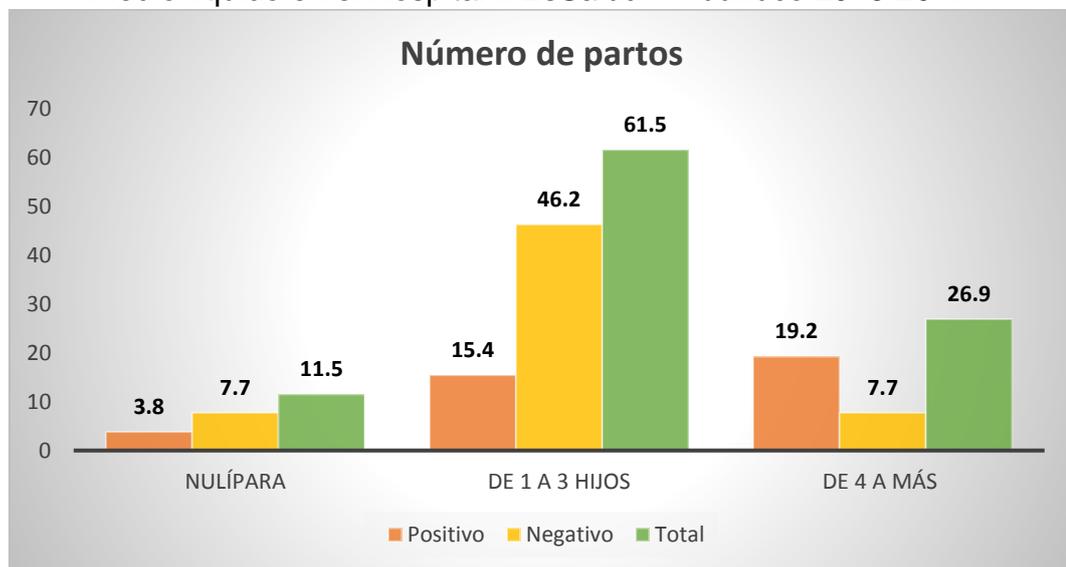
Según la tabla y figura 1, se puede observar las edades de las mujeres con resultado de citología anormal en el Hospital II EsSalud de Huánuco; donde el mayor porcentaje entre las edades de 41 a 50 años (15.4%), luego en las edades de 21 a 30 años (9.6%) y de 31 a 40 años (5.8%) y entre 51 a 60 años (7.7%).

Tabla 2. Número de partos de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017

Número de partos	Positivo		Negativo		Total	
	Fi	%	Fi	%	Fi	%
Nulípara	2	3.8	4	7.7	6	11.5
De 1 a 3 hijos	8	15.4	24	46.2	32	61.5
De 4 a más	10	19.2	4	7.7	14	26.9
Total	20	38.50%	32	61.50%	52	100%

Fuente: Guía de entrevista

Figura 2. Número de partos de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017



Interpretación

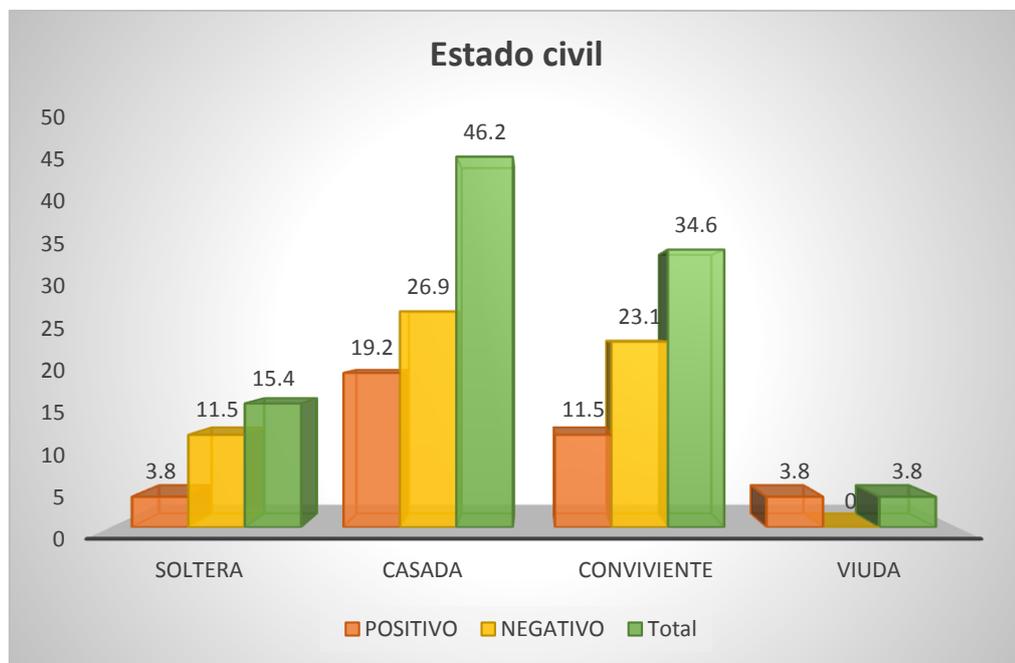
Según la tabla y figura 2 se puede observar la paridad en las mujeres con resultado de Papanicolaou en medio líquido; donde se determinó que el mayor porcentaje estuvo en las mujeres que tuvieron de 1 a 3 partos (61.5%) donde fueron con citología positiva el 15.4% y con citología negativa el 46,2%; luego están las que tuvieron de 4 a más partos (26,9%) donde el 19,2% fueron con citología positiva y el 7,7% con citología negativa; teniendo mínimo porcentaje en las mujeres nulíparas (11,5%) donde el 3,8% fueron positivos.

Tabla 3. Estado Civil de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017

Estado Civil	Positivo		Negativo		Total	
	Fi	%	Fi	%	Fi	%
Soltera	2	3.8	6	11.5	8	15.4
Casada	10	19.2	14	26.9	24	46.2
Conviviente	6	11.5	12	23.1	18	34.6
Viuda	2	3.8	0	0	2	3.8
Total	20	38.50%	32	61.50%	52	100%

Fuente: Guía de entrevista

Figura 3. Estado Civil de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017



Interpretación

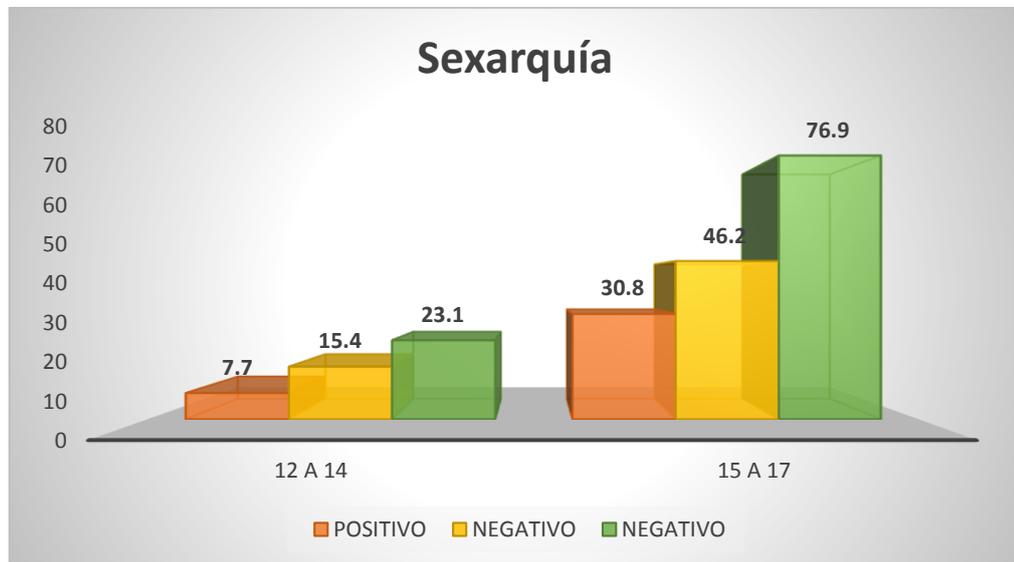
Según la tabla y figura 3 se puede observar el estado civil en las mujeres con resultado de Papanicolaou en medio líquido; donde se determinó una citología anormal en mayor porcentaje en las casadas 19,2%, luego en las convivientes 11,5% e igual porcentaje en las solteras y viudas con el 3,8%.

Tabla 4 Sexarquía de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017

Sexarquía	Positivo		Negativo		Total	
	Fi	%	Fi	%	Fi	%
12 a 14	4	7.7	8	15.4	12	23.1
15 a 17	16	30.8	24	46.2	40	76.9
Total	20	38.5	32	61.5	52	100%

Fuente: Guía de entrevista

Figura 4. Sexarquía de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017



Interpretación.

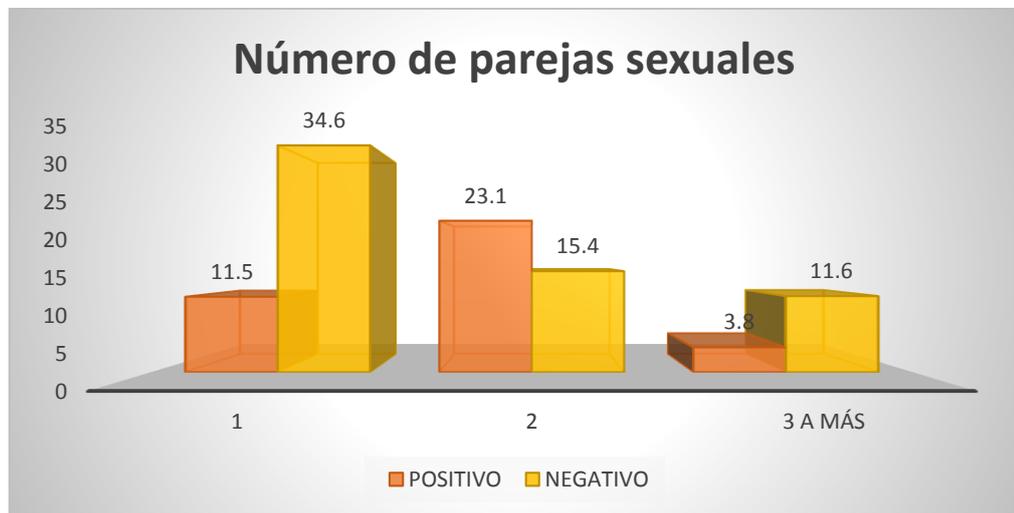
Según la tabla y figura 4 se puede observar la sexarquía en las mujeres con resultado de Papanicolaou en medio líquido; donde se determinó que el mayor porcentaje iniciaron sus relaciones sexuales entre los 15 a 17 años (76,9%) de las cuales el 30,8% tiene citología anormal (positivo); y en menor porcentaje las que iniciaron sus relaciones sexuales entre los 12 a 14 años (23,1%) de las cuales el 7,7% presentaron citología anormal (positivo).

Tabla 5. Número de pareja de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017

Número de parejas	Positivo		Negativo		Total	
	Fi	%	Fi	%	Fi	%
1	6	11.5	18	34.6	24	46.1
2	12	23.1	8	15.4	20	38.5
3 a más	2	3.8	6	11.6	8	15.4
Total	20	38.4	32	61.6	52	100

Fuente: Guía de entrevista

Figura 5. Número de pareja de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017



Interpretación

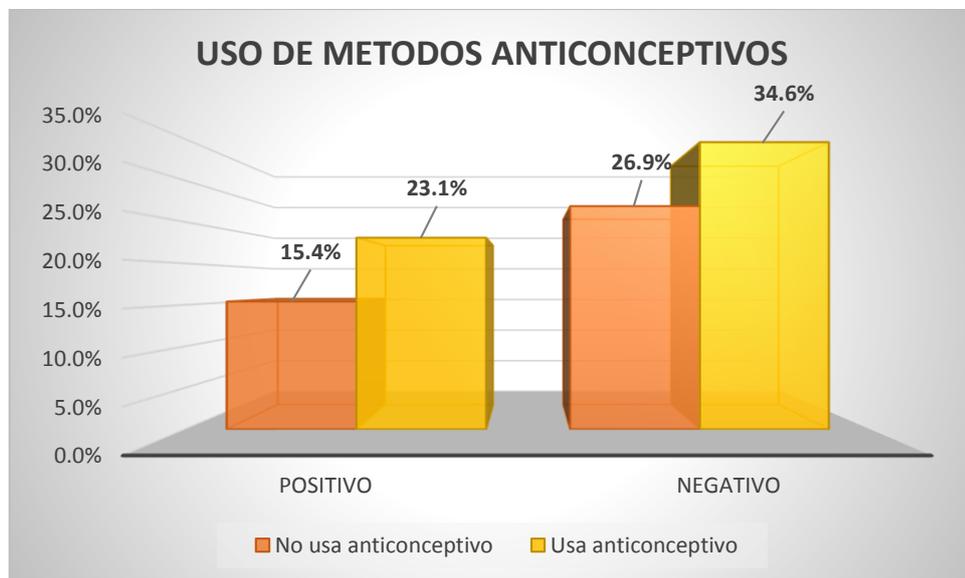
Según la tabla y figura 5 se puede observar el número de parejas sexuales que tuvieron las mujeres con resultado de Papanicolaou donde el mayor porcentaje de resultados positivos a citología anormal se evidencio en las mujeres que tuvieron dos parejas sexuales (23,1%), luego las que tuvieron una sola pareja sexual (11,5%). Y en menor porcentaje las mujeres que tuvieron más de 3 parejas sexuales (3,8%).

Tabla 6. Uso de anticonceptivos de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017

	POSITIVO		NEGATIVO		Total	
	Fi	%	Fi	%	Fi	%
No usa anticonceptivo	8	15.4	14	26.9	22	42.3
Usa anticonceptivo	12	23.1	18	34.6	30	57.7
Total	20	38.5	32	61.5	52	100%

Fuente: Guía de entrevista

Figura 6. Uso de anticonceptivos de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017



Interpretación

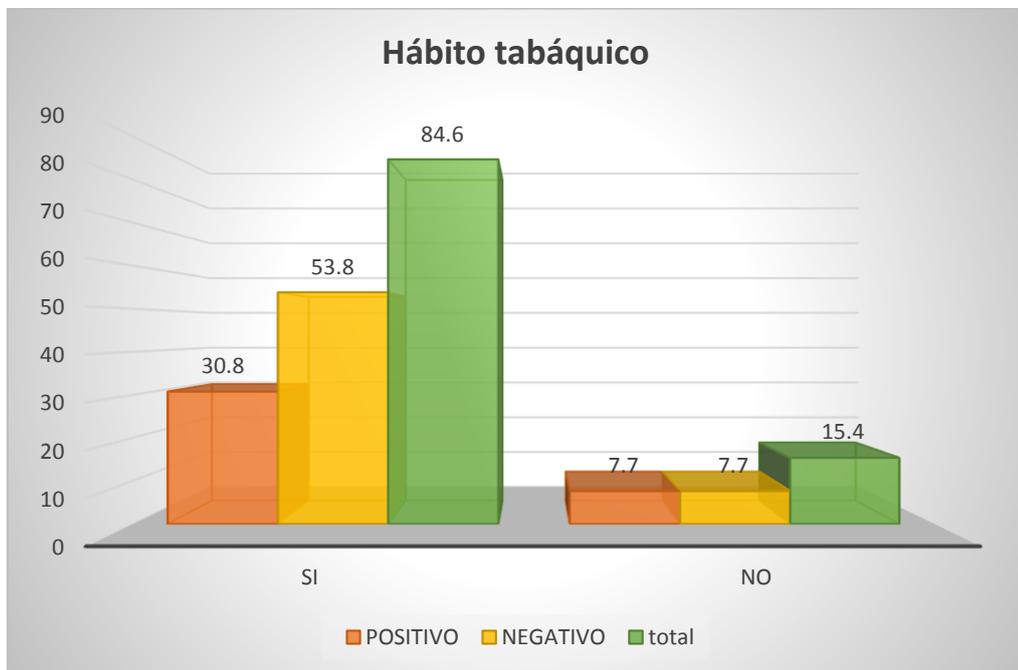
Según la tabla y figura 6, se puede observar el uso de métodos anticonceptivos en las mujeres con resultado del Papanicolaou del estudio, donde se determinó que del total de las mujeres que presentaron resultado positivo para citología anormal, el 23,1% usaban algún método anticonceptivo moderno y el 15,4% no usó ningún método anticonceptivo.

Tabla 7. Hábito tabáquico de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017

Hábito tabáquico	n= 52				Total	
	Positivo		Negativo		Fi	%
	Fi	%	Fi	%		
SI	16	30.8	28	53.8	44	84.6
NO	4	7.7	4	7.7	8	15.4
Total	20	38.5	32	61.5	52	100%

Fuente: Guía de entrevista

Figura 7. Hábito tabáquico de las mujeres con resultado del Papanicolaou en medio líquido en el Hospital II EsSalud – Huánuco 2016-2017



Interpretación

Según la tabla y figura 7 se puede observar el consumo de tabaco en las mujeres con resultado de citología anormal; donde el 84,6% de la muestra presentó hábito tabáquico, dentro de los cuales el 30,8% fueron positivos para VPH; mientras que, no presentaron hábito tabáquico el 15,4% y dentro de los cuales el 7,7% fueron positivos para VPH.

Tabla 8. Análisis de regresión logística multivariado de las características sociodemográficas de la población en estudio.

	OR	IC 95%	Valor -P
Edad			
21-30	2,000	(0,96-2,60)	0,098
31-40	4,000	(,500-31,981)	0,191
41-50	5,333	(,767-6,91)	0,002
51-60	1,000		
Paridad			
Nulípara	5,000	(,640-24,059)	0,181
de 1 a 3 hijos	7,500	(1,83-30,683)	0,001
de 4 a más	1,000		
Estado Civil			
Soltera	2,143	(,356-12,89)	0,19
Casada	1,700	(,196-2,49)	0,303
Conviviente	1,000		
Viuda			
Sexarquía			
12 a 14 años	1,000		
15 a 17 años	1,333	(,350-6,78)	0,058
N° de parejas			
1 pareja	1,000		
2 parejas	4,50	(,124-16,28)	0,000
3 parejas a más	1,833	(,522-6,44)	0,094
Uso de anticonceptivo			
Usa	,857	(,276-2,66)	0,071
No usa			
Hábito Tabáquico			
Si	1,750	(,314-9,42)	0,101
No			

Interpretación

En el análisis de regresión logística multivariada se encontró en la muestra en estudio que las mujeres de 41 a 50 años (OR 5,33, IC 95%) tienen 5 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las edades de 31 a 40 años; quienes tiene 1 a 3 hijos (OR 7,50, IC 95%), tienen 7 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las nulíparas; las solteras (OR 2,14, IC 95%) tienen 2 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las casadas; en relación al número de parejas la que tiene 2 parejas (OR 4,50, IC, 95%) tiene 4 veces más riesgo de enfermedad del VPH en comparación

de 3 parejas a más; en lo que respecta al hábito tabáquico el consumo de ello (OR 1,75 IC 95%) tiene 2 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las que no fuman.

Resumen del modelo

Escalón	Logaritmo de la verosimilitud -2	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	5,545 ^a	0,707	0,960

En conclusión, se puede predecir la ocurrencia de la enfermedad, indicándonos que existe un 70% de que las características epidemiológicas pueden estar asociadas a la presencia del VPH.

R cuadrado de Cox y Snell = 0,707% = 70,7%

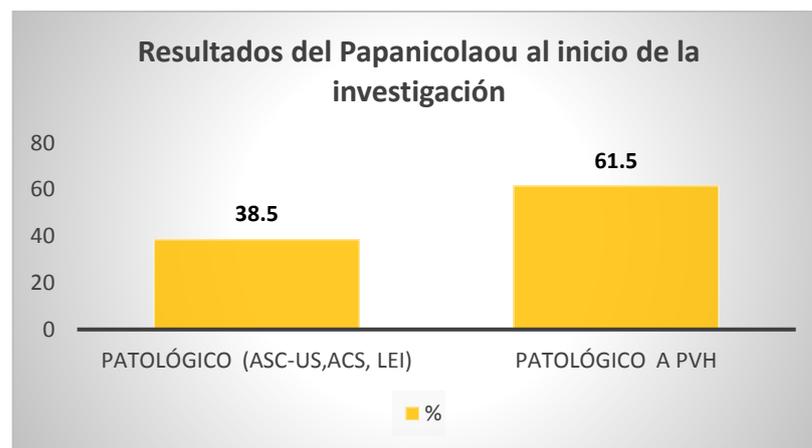
R cuadrado de Nagelkerke = 0,960% = 96%

Resultados de la citología cervical

Tabla 9. Resultados de Papanicolaou convencional al inicio de la investigación para la tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017

Resultados de PAP para VPH		n = 52
	Fi	%
Patológico (ASC-US,AGC, LEI)	20	38.5
Patológico a PVH	32	61.5
Total	52	100.0%
FUENTE: Guía de observación		

Figura 8. Resultados de Papanicolaou convencional al inicio de la investigación para la tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017



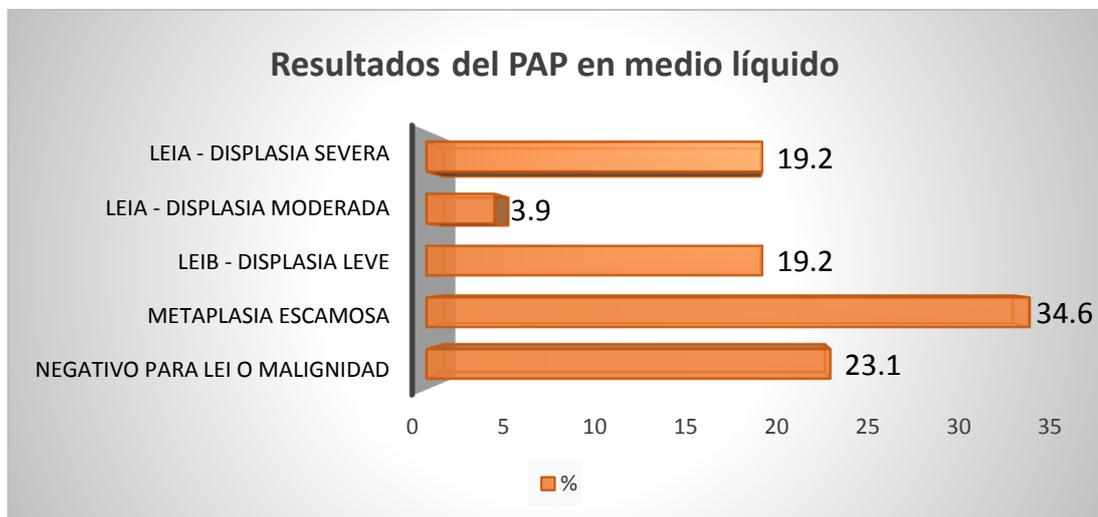
Interpretación

Según la tabla 9 y gráfico 8, se pudo determinar la muestra del estudio al inicio de la investigación donde se encontraron los 52 resultados de Papanicolaou convencional con diagnósticos sugerentes a la presencia del papiloma humano virus (PVH) ; donde el informe citológico indico que el 61.5% tenía la presencia de PVH y el 38,5% tenía resultados adversos sugerentes a PVH, entre ellas las células escamosas atípicas (ASC-US), células glandulares atípicas (AGC) y las lesiones intraepiteliales (LIE).

Tabla 10. Resultados del Papanicolaou en medio líquido para la tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017

Resultados del PAP	Fi	%
Negativo para LEI o malignidad	12	23.1
Metaplasia escamosa	18	34.6
LEIB - displasia leve	10	19.2
LEIA - displasia moderada	2	3.9
LEIA - displasia severa	10	19.2
Total	52	100,0%
FUENTE: Guía de observación		

Figura 9. Resultados del Papanicolaou en medio líquido para la tipificación del VPH en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco



Interpretación

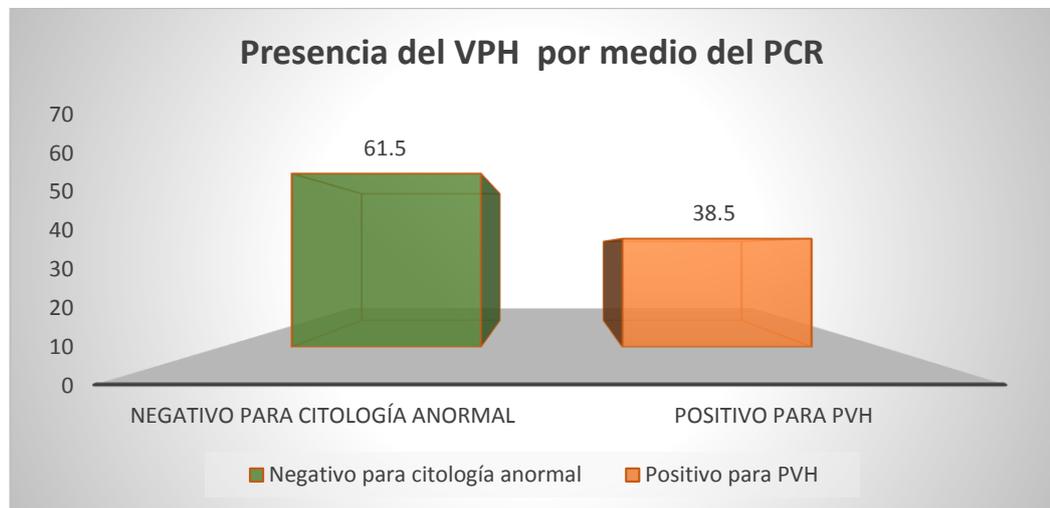
Según la tabla 10 y figura 9, se puede observar los resultados del Papanicolaou en medio líquido, los cuales se realizaron previo a la tipificación del VPH, para corroborar los resultados iniciales del Papanicolaou convencional con los que se ingresó a las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017 al estudio, determinando que en el estudio, el 23,1% fueron negativos para LEI o malignidad; el 34,6% presentó Metaplasia escamosa, el 19,2% presentó LEIB-displasia leve, el 3.9% presenta LEIA-displasia moderada y el 19.2% LEIA-displasia severa.

Tabla 11. Presencia del Virus del Papiloma Humana mediante resultado de PCR en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017

Presencia de VPH	n= 52	
	Fi	%
Negativo para citología anormal	32	61.5
Positivo para PVH	20	38.5
Total	52	100.0%

FUENTE: Guía de observación

Figura 10. Presencia del Virus del Papiloma Humana mediante resultado de PCR en las mujeres atendidas en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017



Interpretación

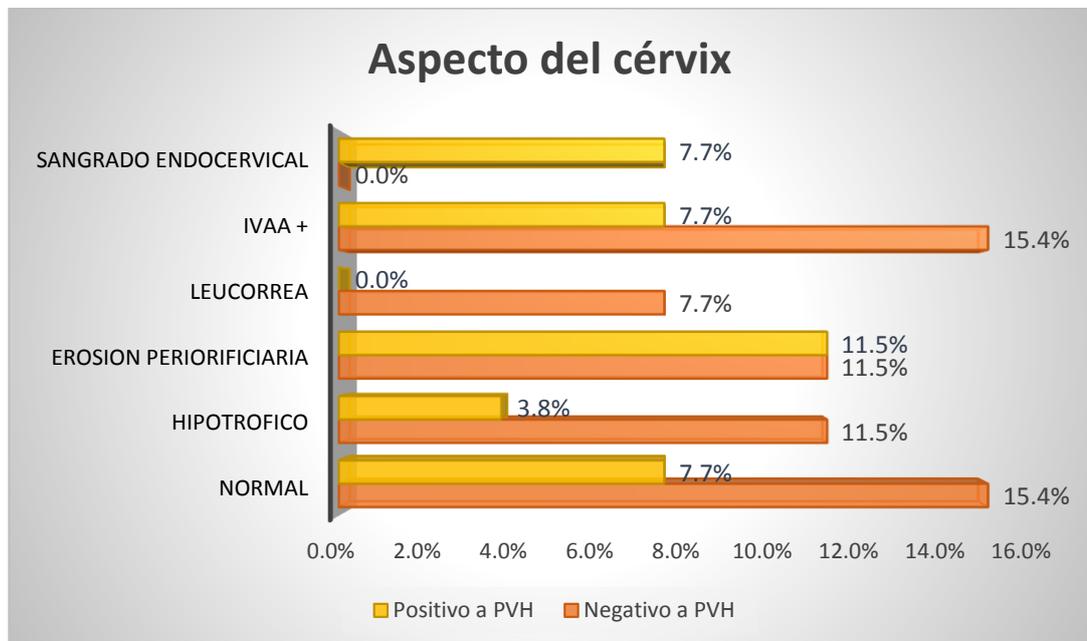
Según la tabla 11 y la figura 10, se puede observar que en la muestra de estudio sometida a la PCR se obtuvo que el 38,5 % fueron positivos para la presencia del virus del Papiloma Humano; mientras que el 61,5% resultaron negativos para la presencia de PVH y a citología anormal.

Tabla 12. Aspecto del cérvix mediante la evaluación clínica en las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017

ASPECTO DEL CERVIX*PRESENCIA DE VPH tabulación cruzada

Aspecto del cervix	PRESENCIA DE VPH					
	NEGATIVO A PVH		POSITIVO A PVH		Total	
	f	%	f	%	f	%
Normal	8	15.4	4	7.7	12	23.1
Hipotrófico	6	11.5	2	3.8	8	15.4
Erosion periorificiaria	6	11.5	6	11.5	12	23.1
Leucorrea	4	7.7	0	0.0	4	7.7
Ivaa +	8	15.4	4	7.7	12	23.1
Sangrado endocervical	0	0.0	4	7.7	4	7.7
Total	32	61.5	20	38.5	52	100.0%

Figura 11. Aspecto del cérvix mediante la evaluación clínica en las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017



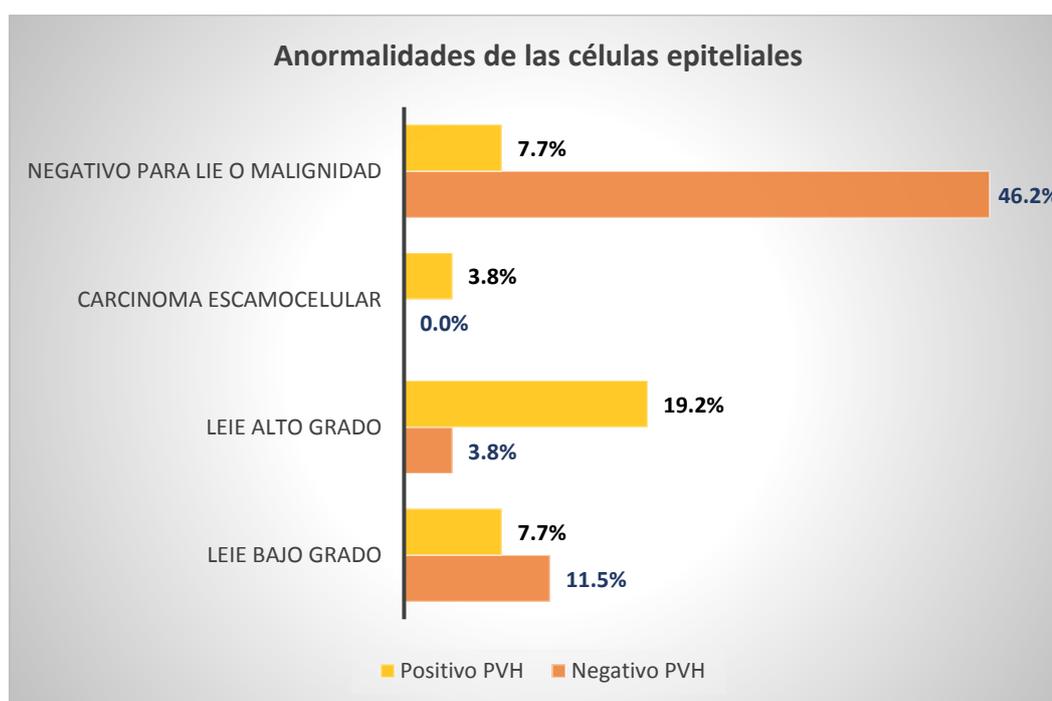
Interpretación

Según la tabla 12 y figura 11 se puede observar el aspecto del cérvix durante la evaluación clínica previo al estudio de PCR, encontrando en los resultados positivos para PVH un aspecto normal en el 7,7%, hipotrófico 3,8%, con erosión periorificiaria 9,6%, con resultado de IVAA positivo 7,7% y con sangrado endocervical 9,6%; asimismo en resultados negativos para PVH, se evidencia que corresponde un mayor porcentaje a un aspecto normal 19,2%, la presencia de leucorrea erosión periorificiaria 9,6% y ningún caso de sangrado endocervical.

Tabla 13. Anormalidades de las células epiteliales de las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017

Anormalidades de las células epiteliales	PRESENCIA DE VPH n = 52					
	Negativo		Positivo		Total	
	f	%	f	%	f	%
LEIE BAJO GRADO	6	11.5%	4	7.7%	10	19.2%
LEIE ALTO GRADO	2	3.8%	10	19.2%	12	23.1%
CARCINOMA ESCAMOCELULAR	0	0.0%	2	3.8%	2	3.8%
NEGATIVO PARA LIE O MALIGNIDAD	24	46.2%	4	7.7%	28	53.8%
Total	32	61.5%	20	38.5%	52	100.0%

Figura 12. Anormalidades de las células epiteliales de las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017



Interpretación

Según la tabla 13 y figura 12, se puede observar en la población en estudio las anormalidades de la células epiteliales según la presencia de PVH diagnosticado por la PCR, donde el 7,7% es negativo para LIE o malignidad; el 19,2% presentó lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LEIAG); el 7,7 % lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LEIBG) y el 3,8% carcinoma escamocelular; mientras que en los de resultado negativo para PVH se tuvo un 46,2% de células negativas LIE o malignidad, el 3,8% lesión intraepitelial escamosa de alto grado (LEIAG) y el 11,5 % de lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LEIBG).

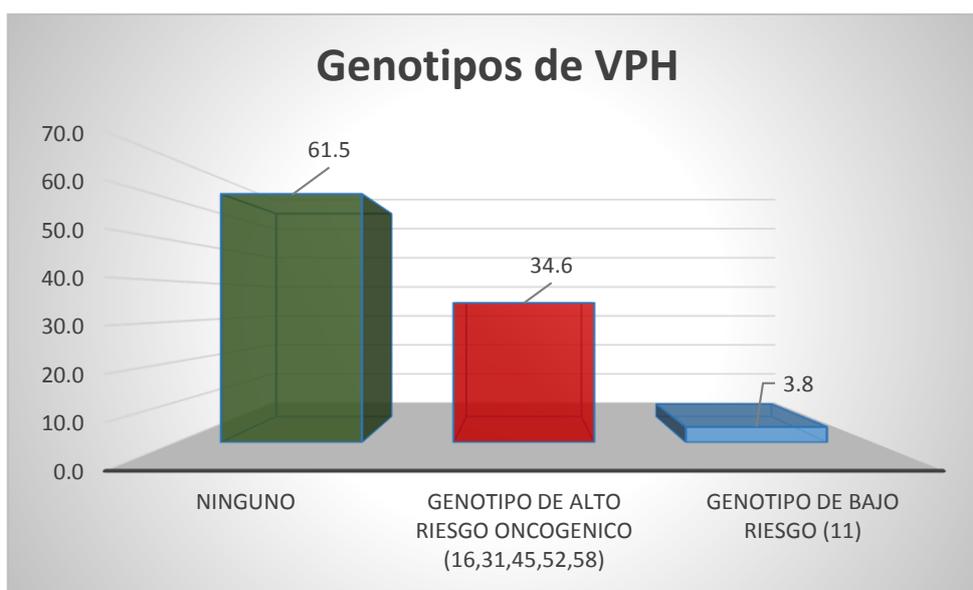
Tipificación de los virus del papiloma humano mediante la técnica del PCR

Tabla 14. Genotipos de VPH en las mujeres estudiadas por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017

Número de genotipos por paciente	Fi	%
Ninguno	32	61.5
Genotipo de alto riesgo oncogénico (16,31,45,52,58)	18	34.6
Genotipo bajo riesgo oncogénico (11)	2	3.8
Total	52	100.0%

FUENTE: Informe molecular

Figura 13. Genotipos de VPH en las mujeres estudiadas por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017



Interpretación

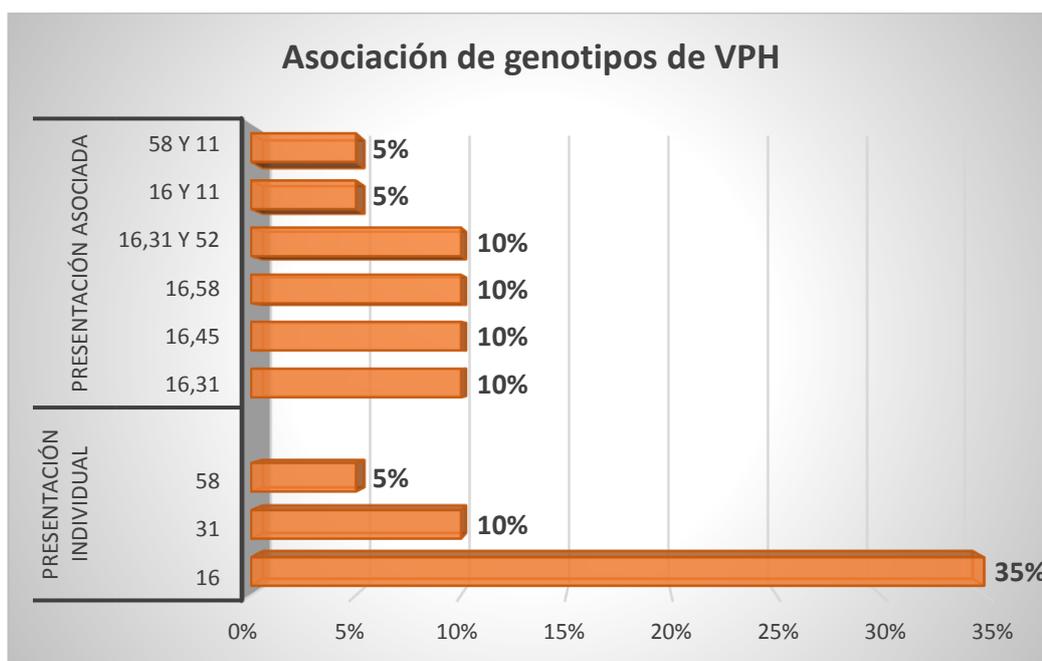
Según la tabla 14 y figura 13 se puede observar en la muestra en estudio con resultado de la PCR a PVH que el 61,5 % es negativo para PVH; el 34.6% genotipo de alto riesgo oncogénico (16,31,45,52,58) y el 3.8% genotipo de bajo riesgo oncogénico (11).

Tabla 15. Asociación de Genotipos encontrados en las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017

Asociación de Genotipos		Fi	%
Presentación individual	16	7	35%
	31	2	10%
	58	1	5%
Presentación asociada	16,31	2	10%
	16,45	2	10%
	16,58	2	10%
	16,31 y 52	2	10%
	16 y 11	1	5%
	58 y 11	1	5%
	Total	20	100.00%

FUENTE: Informe molecular (PCR)

Figura 14. Asociación de Genotipos encontrados en las mujeres en estudio por PCR en el Hospital II EsSalud Huánuco 2016-2017



Interpretación

Según la tabla 15 y figura 14 se puede observar la coinfección o la asociación de Genotipos encontrados en las mujeres del estudio por PCR positivo para PVH, donde se encontró que se presenta en forma individual los PVH-16 en un 35%; PVH-31 en 10%; PVH 58 en 5%. Por otro lado, hubo una presentación asociada de genotipos, observándose un porcentaje similar del 10% los PVH 16-31-52, PVH 16-58, PVH 16-45 y PVH 16-31; en menor porcentaje 5% se presentaron la asociación de los genotipos PVH 16-11 y PVH 58-11.

4.2 Análisis inferencial y contrastación de hipótesis

Se analizaron las hipótesis de estudio:

Hipótesis específica 1:

H_{01} : Los resultados citopatológicos de Papanicolaou no están relacionados con la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico,

H_{11} : Los resultados citopatológicos de Papanicolaou están relacionados con la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico

Tabla 16. Correlación Resultado de la Tipificación de alto riesgo oncogénico del VPH y los resultados de PAP medio líquido

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Resultado de PAP y genotipo de alto riesgo oncogénico	0,542	0,000

Fuente: Guía de observación

Interpretación:

En las tablas 16 se observaron la relación de los resultados citopatológicos del PAP en medio líquido con el genotipo de alto riesgo oncogénico del VPH, determinando un valor de correlación de Rho de Spearman de 0,542 que indica una relación directa media a moderada. Asimismo, con una significancia de 0,000, se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis de estudio, es decir los resultados de la citología se relacionan con el tipo de virus oncogénico encontrado.

Tabla 17. Correlación Resultado de la Tipificación de alto riesgo oncogénico del VPH y su relación con el aspecto clínico del cérvix.

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Aspecto del cérvix y genotipo de alto riesgo oncogénico	0,176	0,212

Fuente: Guía de observación

Interpretación:

En la tabla 17, se observa los resultados al relacionar la tipificación de los genotipos de alto riesgo oncogénico del VPH y el aspecto clínico del cérvix, determinando un valor de correlación de Rho de Spearman de 0,176, el cual indica una relación directa mínima. Asimismo, con una significancia de 0,112 no se rechaza la hipótesis nula, afirmando que los resultados de la tipificación del alto riesgo oncogénico y el aspecto clínico del cuello son independientes.

Tabla 18 Correlación de la Tipificación de alto riesgo oncogénico del VPH y su relación con las anormalidades de las células epiteliales

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Anormalidades de la células epiteliales y genotipo de alto riesgo oncogénico	-0,390	0,004

Fuente: Guía de observación

Interpretación:

En la tabla 18, se observa la relación de la tipificación del alto riesgo oncogénico del VPH y las anormalidades de las células epiteliales, determinando con un valor de correlación de Rho de Spearman de -0.390 una correlación indirecta baja. Asimismo, con una significancia de 0,004 se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis de estudio, afirmando que la tipificación de alto riesgo oncogénico del VPH se relaciona con las anormalidades de las células epiteliales.

Hipótesis específica 2:

H₁₂ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou están relacionados con la presencia de genotipos de bajo riesgo oncogénico,

H₀₂ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou no están relacionados con la presencia de genotipos de bajo riesgo oncogénico del virus del papiloma humano.

Tabla 19. Correlación de la Tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y los resultados del PAP en medio líquido

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Resultado de PAP en medio líquido y genotipo de bajo riesgo oncogénico	-0,069	0,627

Fuente: Guía de observación

Interpretación

En la tabla 19, se observa la relación de la tipificación del bajo riesgo oncogénico del VPH y los resultados del PAP en medio líquido, determinando con un valor de correlación de Rho de Spearman de -0,069 una correlación indirecta mínima. Asimismo, con una significancia de 0,627 se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis de estudio, afirmando que la tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y los resultados del PAP en medio líquido son independientes.

Tabla 20. Correlación de la Tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y el aspecto clínico del cérvix

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Aspecto del cérvix y genotipo de bajo riesgo oncogénico	-0,272	0,051

Fuente: Guía de observación

Interpretación

En la tabla 20, se observa la relación de la tipificación del bajo riesgo oncogénico del VPH y el aspecto del cérvix, determinando con un valor de correlación de Rho de Spearman de -0,272 una correlación indirecta baja. Asimismo, con una significancia de 0,051 se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis de estudio, afirmando que la tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y el aspecto del cérvix son independientes.

Tabla 21. Correlación de la Tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y las anormalidades de las células epiteliales

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Anormalidades de las células epiteliales y genotipo de bajo riesgo oncogénico	0,176	0,212

Fuente: Guía de observación

Interpretación

En la tabla 21, se observa la relación de la tipificación del bajo riesgo oncogénico del VPH y las anormalidades de las células epiteliales, determinando con un valor de correlación de Rho de Spearman de 0,176 una correlación indirecta mínima. Asimismo, con una significancia de 0,212 se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis de estudio, afirmando que la tipificación de bajo riesgo oncogénico del VPH y las anormalidades de las células epiteliales son independientes.

Hipótesis específica 3

- H₁₃ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou están relacionados con la presencia de genotipos asociados del virus del papiloma humano.
- H₀₃ Los resultados citopatológicos de Papanicolaou no están relacionados con la presencia de genotipos asociados del virus del papiloma humano.

Tabla 22. Correlación de la Tipificación de genotipos asociados del VPH y los resultados del PAP en medio líquido

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Resultado de PAP en medio líquido y genotipos asociados del VPH	0,534	0,000

Fuente: Guía de observación

Interpretación

En la tabla 22, se observa la relación de la presencia de genotipos mixtos del VPH y los resultados del PAP en medio líquido, determinando con un valor de correlación de Rho de Spearman de 0,534 una correlación directa moderada. Asimismo, con una significancia de 0,000 se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis de estudio, afirmando que la presencia de genotipos mixtos del VPH están relacionados a los resultados del PAP en medio líquido.

Tabla 23. Correlación de la Tipificación de genotipos asociados del VPH y el Aspecto del cérvix.

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Aspecto del cérvix y número de genotipos asociados del VPH	0,212	0,131

Fuente: Guía de observación

Interpretación

En la tabla 23, se observa la relación de la presencia de genotipos mixtos del VPH y el aspecto del cérvix, determinando con un valor de correlación de Rho de Spearman de 0,212 una correlación directa baja. Asimismo, con una significancia de 0,131 se acepta la hipótesis nula y afirmamos que la presencia de genotipos mixtos del VPH y el aspecto del cérvix son independientes.

Tabla 24. Correlación de la Tipificación de genotipos asociados del VPH y su relación con las anomalías de las células epiteliales

Variables de correlación	Rho de Spearman	P valor
Anormalidades de las células epiteliales y genotipos asociados del VPH	-0,413	0,002

Fuente: Guía de observación

Interpretación

En la tabla 24, se observa la relación de la presencia de genotipos mixtos del VPH y las anomalías de las células epiteliales, determinando con un valor de correlación de Rho de Spearman de -0,413 una correlación indirecta moderada. Asimismo, con una significancia de 0,002 se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis de estudio, afirmando que la presencia de genotipos mixtos del VPH están relacionados a las anomalías de las células epiteliales.

Hipótesis general

- H₀ La tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa no se relaciona con la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco.
- H₁ La tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa se relaciona con la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco

Tabla 25. Tabla resumen de la correlación de la tipificación del VPH con los resultados de la citología anormal del Papanicolaou

Relación de variables estudiadas	Rho Spearman	Significancia
Genotipos de Alto riesgo oncogénico		
Con los resultados de PAP medio líquido	0,542	0,000
Con el aspecto clínico del cérvix	0,176	0,212
Con las anomalías de las células epiteliales	-0,390	0,004
Genotipos de Bajo riesgo oncogénico		
Con los resultados del PAP en medio líquido	-0,069	0,627
Con el aspecto clínico del cérvix	-0,272	0,051
Con las anomalías de las células epiteliales	0,176	0,212
Genotipos Asociados		
Con los resultados del PAP en medio líquido	0,534	0,000
Con los resultados del PAP en medio líquido	0,212	0,131
Con las anomalías de las células epiteliales	-0,413	0,002

Al analizar la tabla 25, se evidencian los resultados obtenidos de la asociación de la citología anormal con la tipificación del VPH, concluyendo que la tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa se relacionan con los resultados obtenidos en la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco.

4.3 Discusión de resultados

Es importante remarcar que los niveles de fiabilidad por consistencia interna y validez de constructo de los instrumentos aplicados han sido óptimos, que a su vez dan garantía para su uso en el presente estudio.

El cáncer de cuello uterino (CCU) es una de las neoplasias malignas que ocupa las primeras causas de muerte en la mujer a nivel mundial. Los factores de riesgo asociados guardan estrecha relación con conductas como el inicio de la vida sexual a edad temprana, la multiparidad, la promiscuidad sexual y,

especialmente, las infecciones de transmisión sexual como la causada por el virus del papiloma humano (VPH).

El virus papiloma humano (VPH) es considerado uno de los patógenos más comunes transmitidos sexualmente y el principal agente causal de las neoplasias cervicales intraepiteliales (NIC) y el CCU; y está asociado a tumores de la región anogenital, tracto respiratorio alto y digestivo.

Las NIC son clasificadas en lesiones de bajo grado (LBG) y lesiones de alto grado (LAG) según el riesgo de transformación neoplásica. Clásicamente se han agrupado los genotipos virales de VPH en bajo riesgo (BR), alto riesgo (AR) y riesgo intermedio (RI), dependiendo de la frecuencia con que se encuentran en lesiones benignas, LBG, LAG y carcinomas invasores. Los subtipos virales más frecuentemente asociados al grupo de AR son VPH 16, 18, 45 y 56, detectados principalmente en LAG y carcinomas; al grupo de RI VPH 31, 33, 35, 51 y 52 asociados a todos los grados de NIC y el grupo de BR VPH 6, 11, 34, 42, 43 y 44 detectados más frecuentemente en lesiones benignas. En la actualidad, se ha observado que la asociación cáncer-VPH es igualmente poderosa entre los tipos considerados de AR y RI. De este modo, 15 tipos de VPH han sido clasificados como de AR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82) por lo tanto, deberían ser considerados con potencial oncogénico.

De los genotipos descritos en el presente estudio encontramos al VPH 16, como el genotipo más frecuente y que está asociado directamente al LIE alto grado, determinando así la efectividad de la prueba del PCR, ya que específicamente estudia al ADN del VPH que se encuentra originando las lesiones para determinar un mejor diagnóstico y tratamiento.

Mediante la reacción de polimerasa en cadena (PCR), se ha demostrado la presencia de VPH 16 y 18 en lesiones pre-neoplásicas y neoplásicas de tejido uterino cervical, así como también se puede encontrar en la laringe, esófago, senos nasales y pulmón. En el tracto respiratorio, VPH 6 y 11 se han asociado con papilomatosis laríngea juvenil, una patología que es benigna pero que puede malignizarse en pacientes expuestos a terapia con radiación. Existen diversos reportes que asocian la infección con los genotipos de VPH 16, 18, 31, 33 y 35 con el carcinoma celular escamoso de pulmón (CEP), principalmente en pacientes con mucosa bronquial metaplásica debido a un factor de riesgo preponderante que es el tabaquismo.

La amplificación de genes mediante PCR 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 efectuando una hibridación en placa de los productos biotinilados previamente amplificados por PCR. Esta técnica es muy sensible, con un nivel de detección hasta de una copia viral. Sin embargo, debido a su alta sensibilidad, este método es muy susceptible a contaminación.

En la actualidad existen, además de las PCR genéricas, otras técnicas específicas que reportan algunos tipos virales y las PCR múltiples que identifican varios fragmentos del genoma. Es una técnica desarrollada mediante el uso de los primers o cebos, GP5+/ GP6+bio que amplifican un fragmento de la región L1 del VPH. Esta técnica permite la detección de 37 tipos virales: 14 VPH de alto riesgo y 23 VPH de bajo riesgo (VPH-BR). Esta prueba tiene la ventaja de que los productos de PCR para los tipos de VPH

de alto riesgo específicos se pueden genotipificar por medio de la técnica 'reverse lineblot', siendo una de las técnicas que más se ha utilizado a nivel mundial en estudios de investigación.

El virus del VPH, es la infección sexualmente transmitida más común que existe, es inofensivo y desaparece espontáneamente, pero algunos tipos pueden provocar verrugas genitales o cáncer. La infección por dicho virus no tiene cura, pero se puede prevenir con las vacunas. Los casos de alto riesgo del VPH pueden ser tratados fácilmente antes de que se conviertan en cáncer, por lo que es muy importante hacerse exámenes del VPH y citologías vaginales regularmente, los más frecuentes y de mayor alto riesgo son el VPH 16 y 18; el primero fue encontrado en nuestro estudio en un 13.5% como genotipo de alto riesgo simple, un 3.8% el PVH 31 y en un 3.8% el VPH 58.

De todos los genotipos del VPH que se han reconocido hasta la actualidad, el VPH 16 y el VPH 18 son, con diferencia, los más peligrosos para la salud de las mujeres. Tanto es así que sabemos que ambas cepas son las responsables de alrededor del 70% del cáncer de cuello de útero. Además, tanto el VPH 16 como el VPH 18 a menudo no muestran ningún síntoma de infección en el organismo de la persona, lo cual dificulta el diagnóstico precoz del virus. Esto se debe a que ambos virus pueden permanecer inactivos en el organismo de una persona durante años antes de que originen el crecimiento de material celular anormal.

En la mayoría de los casos, las infecciones por VPH son subclínicas (fase latente) y es difícil detectarlas por examen citológico, histopatológico o por técnicas inmunohistoquímicas. Por esta razón los métodos moleculares como la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) son recomendados para tamizaje. Se puede utilizar, además, sondas de hibridación o ELISA, para

aumentar la sensibilidad y especificidad de los productos de PCR, las que combinadas con el uso de enzimas de restricción (RFLP) y secuenciación, identifican los distintos genotipos virales. La estrategia de diagnóstico es seleccionar genes de VPH de consenso altamente conservados para la detección de la mayoría de los tipos virales del VPH; luego, utilizando pequeñas diferencias en la secuencia del ADN, lograr la tipificación viral. El gen L1 de la región tardía, codifica proteínas estructurales de la cápside altamente conservadas y similares en todos los tipos de VPH. Los genes E6 y E7 (región temprana) codifican proteínas importantes para la transformación neoplásica de la célula epitelial infectada. El potencial oncogénico de los VPH AR (principalmente 16 y 18) radica en la capacidad de integrar su ADN al genoma de la célula huésped y determinar la expresión continua de las oncoproteínas E6/E7; las cuales son capaces de interferir con las funciones de las proteínas p53 y pRb a nivel del ciclo celular favoreciendo la proliferación neoplásica.

Si bien los condones y las barreras de látex bucales no ofrecen una protección perfecta, pueden ayudar a disminuir las probabilidades de contagio del VPH. En cuanto a la forma de presentación de los genotipos de alto riesgo encontrado en la muestra de estudio fue en un 19%; siendo los factores de riesgo más preponderantes la edad de 41 a 50 años con 5,333 OR, la paridad de 1 a 3 hijos en un 7,500 OR, casada en un 46.2% y la sexarquía de 15 a 17 años en un 76.9%. Coincidiendo con nuestros hallazgos el estudio de López J, Ili C. et al.¹²¹, en su estudio titulado "Detección y tipificación de virus papiloma humano en lesiones preneoplásicas de cuello uterino", cuyo métodos que uso fue una combinación de PCR y transferencia de línea inversa, en 235 muestras embebidas en parafina fijadas con formalina, con

diagnóstico de bajo grado lesión intraepitelial escamosa (LSIL) o lesión intraepitelial escamosa de alto grado (HSIL) fueron genotipados donde detectó un 61.2% de LSIL y 78.1% de HSIL. Los principales genotipos encontrados fueron HPV 16, 18, 31, 45, 56 y 58. HPV 16 fue el más común en LSIL (18.1%) y HSIL (36.9%). HPV 16 o 18 estaban presentes en 25.1% y 47.1% del LSIL y HSIL respectivamente. Tanto en LSIL como en HSIL, los genotipos virales predominantes fueron aquellos tipos clasificados como un alto riesgo de nivel oncogénico. Concluyendo que los genotipos HPV 16, 18, 31, 45, 56 y 58 fueron los más comunes en su serie además que el 16 y 18, tipos virales con alto riesgo oncogénico e incluidos en vacunas comerciales, se encontraron en 25.1% y 47.1% de LSIL y HSIL, respectivamente.

Concluyendo que en ambos estudios se observó que los genotipos virales de alto riesgo se relacionan estrechamente con la progresión de las lesiones pre-neoplásicas hacia cáncer, mientras que los genotipos virales de bajo riesgo serían eliminados por la acción del sistema inmune. Por tanto, una alta frecuencia de genotipos virales de alto riesgo, tendría directa relación con la elevada prevalencia del CCU en esta zona debido a la efectividad de la prueba del PCR.

Cabe mencionar que una adecuada caracterización de las lesiones presentes en el cuello uterino acompañada de la genotipificación de VPH infectantes nos entregaría mayores herramientas al momento de tratar el tipo de lesión pre-neoplásica observada. La persistencia de los virus de alto riesgo es una causa necesaria para el desarrollo del cáncer de cuello uterino, por este motivo las pruebas moleculares son consideradas una estrategia óptima para evaluar de manera objetiva la persistencia de la infección por este virus, pues permite identificar el riesgo de cáncer antes que se presente una lesión celular.

Por su parte el estudio de Molano M, Murillo R, Cano A¹²² denominado "Detección y tipificación del virus del papiloma humano (VPH) en mujeres con cáncer de cuello uterino en Bogotá y Barranquilla, 2009". Procedimientos técnicos y de diagnóstico"; tomaron tejidos incluidos en parafina de 268 casos de cáncer de cuello uterino, procedentes de Barranquilla y Bogotá. Se verificó el diagnóstico histológico mediante nuevos cortes y se analizó la calidad de las muestras mediante amplificación del gen de B-globina. En muestras B-globina negativa se realizaron nuevos cortes y nueva amplificación. La detección de VPH se realizó mediante iniciadores GP5+/GP6+biodirigidos hacia la región L1, y tipificación mediante EIA y RLB. En las muestras negativas para GP5+/GP6+ se desarrollaron PCR tipo específicas hacia la región E7 de 14 tipos de VPH de alto riesgo. Donde de las 268 muestras iniciales, 20 (7,46%) tuvieron diagnóstico histológico inadecuado; 55/248 muestras fueron inicialmente B-globina negativas, pero 29 se recuperaron con una segunda PCR realizada, dejando 26 B-globina negativas (10,5%). Se detectó VPH en 210/222 muestras adecuadas mediante GP5+/GP6+ (94,6%), y en 7 muestras adicionales (3,15%), mediante iniciadores dirigidos hacia E7. No se detectó infección en 2,25% de los casos. Se encontraron 24 tipos de VPH; los más prevalentes fueron el VPH-16 (50,9%), VPH-18 (12,7%), VPH-45 (8,8%), VPH-31 (6,5%) y VPH-58 (6,0%). Hubo un 16,6% de infecciones múltiples. Por la cual deducimos que el adecuado procesamiento y diagnóstico de las muestras y el uso de pruebas combinadas hacia las regiones L1 y E7 permiten una estimación óptima de la prevalencia de la infección en muestras incluidas en parafina.

A su vez Melo A, Montenegro S, Hooper T, y otros¹²³ en su investigación titulada "Tipificación del virus papiloma humano (VPH) en lesiones

preneoplásicas y carcinoma del cuello uterino en mujeres de la IX Región-Chile"; realizaron dos PCR de consenso anidadas seguidas de la identificación de amplificados producto por hibridación Dot-Blot y polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) fueron utilizado para analizar 175 biopsias. Donde detectaron que el 40% de casos no tienen lesión, 88% en lesiones de bajo grado, 89% en lesiones de alto grado (HGL) y 93.5% en carcinoma invasivo. De todos los casos positivos de VPH, el 89.5% se clasificaron como de alto riesgo y solo el 4.9% de los casos de VPH eran de tipo de bajo riesgo. La distribución de genotipos virales de acuerdo con RFLP fue: HPV 33 (25.3%), 16 (18.7%), 52 (13.3%), 31 (12%), 35 (6.6%), 18 (2.7%). Por la cual concluyeron que la mayoría de los VPH encontrados en biopsias con HGL y UCC eran de genotipo de alto riesgo. La presencia elevada de VPH de alto riesgo en pacientes sin lesiones cervicales puede ser un factor que explica el alto porcentaje de casos de UCC en nuestra región. Los tipos virales más comunes fueron: HPV16, 31, 33 y 52. La detección y el tipado viral pueden proporcionar información valiosa para la selección del paciente y seguimiento y asignación de recursos.

Los resultados obtenidos son realmente interesantes, y esperamos que los datos sigan en el mismo sentido a largo plazo.

Siguiendo el mismo curso de nuestra investigación encontramos a Picconi María¹²⁴ quien en su estudio "Detección de virus papiloma humano en la prevención del cáncer cérvico-uterino -Buenos Aires" El uso de la citología para la detección de lesiones pre-cancerosas no ha tenido mayor impacto en las tasas de incidencia y mortalidad del CCU, que aún se mantienen altas en la región. La disponibilidad de nuevas técnicas de tamizaje para la detección de lesiones pre-cancerosas y de vacunas altamente eficaces que previenen

casi todas las lesiones relacionadas con los VPH-AR de alto potencial oncogénico VPH 16 y 18, en mujeres no expuestas previamente al virus brindan una gran oportunidad para la prevención del CCU. La detección de VPH-AR representa actualmente un valioso componente de las guías clínicas para el tamizaje, manejo y tratamiento del CCU y sus lesiones precursoras. Se han desarrollado estrategias metodológicas que detectan un amplio espectro de tipos de VPH-AR; sin embargo, solo un pequeño subgrupo de ellas ha documentado la validación clínica para cualquiera de las indicaciones habituales de la de detección de estos virus. Las pruebas de VPH que no estén validadas y que no hayan demostrado confiabilidad, reproducibilidad y exactitud no deben ser usadas en el manejo clínico. Una vez incorporada una prueba de VPH en el laboratorio, es esencial que el procedimiento completo sea sometido a un continuo y riguroso control de calidad para evitar prácticas subóptimas, potencialmente dañinas.

4.4 Aporte de la Investigación.

La infección por el virus papiloma humano (VPH) tiene una gran importancia en la actualidad, porque es un tema preocupante para la comunidad científica desde el punto de vista sanitario, por sus aspectos epidemiológicos, todavía no enteramente dilucidados, así como por el amplio espectro clínico, el potencial oncogénico de algunos genotipos, la complejidad de su terapéutica y las frecuentes recidivas que se producen en los pacientes afectados.

En muy pocos años, la evolución científico-tecnológica para la detección de partículas virales facilitó la asociación estadística entre cáncer cervical y el virus papiloma humano (VPH). Luego se determinaron los subtipos virales de riesgo y se demostró al VPH como factor etiopatogénico determinante en el

carcinoma de cuello uterino. De esta forma se establecía una etiología propiamente infecciosa para uno de los procesos oncológicos con más altas tasas de morbimortalidad de la población femenina¹²⁵.

Es así, que, la detección temprana de la presencia del VPH, y específicamente de los genotipos de alto riesgo oncogénico conllevara a un tratamiento temprano antes de la aparición de células pre-cancerígenas y luego el cáncer; pudiendo disminuir de esta forma los altos costos económico y humanos que conllevaría la enfermedad.

Con nuestro estudio, evidenciamos que el genotipo más frecuente es el PVH-16, genotipo de alto riesgo oncogénico, por lo que enfatizamos que nuestra población femenina está en riesgo muy alto de desarrollar cáncer cervical en el transcurso de los años venideros; y al ponerlos en evidencia a las autoridades y profesionales de la salud, estos deberán dirigir sus esfuerzos en la prevención y detección temprana para garantizar la salud de la población.

Asimismo, mediante el presente estudio evidenciamos que los resultados del Papanicolaou convencional a la que están sometidas todas las mujeres del sector salud, tanto público como privado; tienen baja sensibilidad y especificidad; ya que no nos permitió discriminar a los verdaderos enfermos de los sanos y viceversa; por lo que se deberá contar con técnicas más confiables para dicho diagnóstico como son el Papanicolaou en medio líquido y el PCR entre otros.

CONCLUSIONES

- Según los datos epidemiológicos de la población en estudio, la detección del VPH fue positiva en 20 (38.5%) casos, predominando lo siguiente: la edad de 41 a 50 (15.4%); el número de partos fue de 4 a más (19.2%); en lo que respecta al estado civil es casada (19.2%); la gran mayoría 16 (30.8%) inicio sus relaciones sexuales a la edad de 15 a 17 años. De los casos positivos en su mayoría 12 (23.1%) tuvieron 2 parejas y el 12 (23.1%) usan anticonceptivos y el 16 (30.8%) si tiene hábito tabáquico.
- En el análisis de regresión logística multivariada se encontró en la muestra en estudio que las mujeres de 41 a 50 años (OR 5,33, IC 95%) tienen 5 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las edades de 31 a 40 años; quienes tiene 1 a 3 hijos (OR 7,50, IC 95%), tienen 7 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las nulíparas; las solteras (OR 2,14. IC 95%) tienen 2 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las casadas; en relación al número de parejas la que tiene 2 parejas (OR 4,50 IC, 95%) tiene 4 veces más riesgo de enfermedad del VPH en comparación de 3 parejas a más; en lo que respecta al hábito tabáquico el consumo de ello (OR 1,75 IC 95%) tiene 2 veces más riesgo de enfermar del VPH en comparación de las que no fuman.

En conclusión, se puede predecir la ocurrencia de la enfermedad, indicándonos que existe un 70% de que las características epidemiológicas pueden estar asociadas a la presencia del VPH.

- Los resultados de los Papanicolaou convencionales que permitieron seleccionaron la muestra mostraron al 100% lesiones cervicales sugerentes a infección por PVH y presencia del PVH; sin embargo, al

Papanicolaou en medio líquido dieron positivos a la presencia de PVH 20 casos (38,5) y negativos 32 casos (61,5%), los mismos que fueron corroborados por la PCR.

- Al Tipificar los virus del papiloma humano mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en la muestra en estudio se determinó la presencia de genotipos de alto riesgo oncogénico (16,31,45,52,58) el 34,6% y genotipo de bajo riesgo oncogénico (11) el 3.8%. No evidenciando la presencia de VPH en el 61,5%
- Al clasificar los genotipos según riesgo oncogénico del VPH determinados por reacción en cadena de la polimerasa del VPH en la muestra en estudio se puede mencionar que la forma de presentación de los genotipos virales fueron de presentación individual VPH-16 en un 35%; VPH-31 en 10%; VPH 58 en 5% de los casos positivos. Por otro lado, tuvieron una presentación asociada en un porcentaje similar del 10% los PVH 16-31-52, PVH 16-58, PVH 16-45 y PVH 16-31; en menor porcentaje del 5% se presentaron la asociación de los genotipos PVH 16-11 y PVH 58-11.
- El análisis inferencial demostró que los genotipos de alto riesgo oncogénico presentaron relación con los resultados citopatológicos evidenciados con el PAP en medio líquido y con las anormalidades de las células epiteliales evidenciadas en el PCR; los genotipos de bajo riesgo oncogénico, no muestran relación con los resultados citopatológicos y los genotipos asociados, se relacionan con los resultados citopatológicos evidenciados con el PAP en medio líquido y con los resultados de anormalidades de las células epiteliales evidenciadas en el PCR.

- Concluyendo que la tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa identifica los resultados obtenidos en la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco

RECOMENDACIONES

1. A las autoridades del Ministerio de Salud y de Essalud, implementar o mejorar las técnicas de tamizajes para el despistaje de cáncer de cuello uterino con mejores tomas de Papanicolaou convencional y medio líquido, Papanicolaou convencional + IVVA, test de detección de ADN para detectar VPH y su tipificación para prevenir y mejorar el diagnóstico temprano del cáncer del cuello uterino, realizando convenios con centros especializados para el estudio de estos virus.
2. A los profesionales responsables de la salud de la mujer, capacitarse constantemente en el diagnóstico y tratamiento de cáncer cervico-uterino; en las técnicas modernas para la identificación de los genotipos de papiloma virus, principal causante de la mortalidad por cáncer en las mujeres.
3. A los profesionales de salud, realizar actividades preventivas promocionales:
 - a. Fomentar la educación sexual y concientización a nuestras niñas y adolescentes en edad escolar desde sus hogares y en los colegios sobre temas de infecciones de transmisión sexual, sus consecuencias y el riesgo del cáncer cervico uterino, enfatizando en el virus del papiloma humano.
 - b. Enfatizar en la postergación del inicio de la primera relación sexual, siendo lo más tardío posible y a una edad adecuada en la que presente mayor responsabilidad de sus acciones.
 - c. Promocionar el uso del preservativo para la prevención de embarazos no deseados y para evitar el contagio de las infecciones de transmisión sexual.
 - d. Concientizar a la población en riesgo sobre la consecuencia de la promiscuidad sexual.

- e. Concientizar a toda la población femenina que inició su vida sexual a la toma del Papanicolaou, máximo a los tres años de su primera relación sexual y/o a partir de los 21 años de edad, controles periódicos para despistaje de papiloma virus y cáncer de cuello uterino.
4. A las mujeres en edad fértil, que hayan iniciado su vida sexual, tomar medidas preventivas para evitar el contagio de infecciones de transmisión sexual y en caso adquiriera el VPH, deberá realizarse la tipificación correspondiente para descartar si son oncogénicos o no.
5. A los investigadores en salud, continuar con investigaciones sobre el tema relacionado al estudio epidemiológico de la presentación del VPH, ya que es diferente en la prevalencia de los genotipos en diferentes áreas geográficas, siendo muchos de ellos de tipo oncogénico y causando altos porcentajes de CCU en nuestra región y país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Modificación a la Norma Oficial Mexicana (NOM-014-SSA21994) para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer cervicouterino. Diario Oficial,2007.
2. Sub-secretaría de Prevención y promoción de la Salud. Hoja de datos sobre cáncer de cuello uterino. México. 2016. p. 5. Disponible en:<http://cnegsr.salud.gob.mx/contenidos/descargas/CaCu/HojadatosCancerdeCuelloUterino2016.pdf>
3. Ministerio de Salud y Protección Social. Guía de práctica clínica para el manejo del cáncer del cuello uterino invasivo, Guía completa. Colombia. 2014. p 1-375
4. Hernández Hernández, Apresa García y Patlán Pérez. Panorama epidemiológico del cáncer cervicouterino. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2015;53 Supl 2: S154-61
5. Ministerio de Salud y Protección Social. Op, cit. p.2
6. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al. IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. Lancet.2005; 366(9490):991-8.
7. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015 Mar 1; 136(5):E359-86.
8. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012: Estimated Cervical Cancer Mortality Worldwide in 2012 [Internet]. Washington DC: IARC; 2012.
9. Brown B, Blas MM, Cabral A, Byraiah G, Guerra-Giraldez C, Sarabia-Vega V, et al. Human papillomavirus prevalence, cervical abnormalities and risk factors among female sex workers in Lima, Peru. Int J STD AIDS. 2012; 23(4):242–7.
10. Análisis de la Situación del Cáncer en el Perú. Dirección General de Epidemiología, Ministerio de Salud, 2013.

11. Quintero M, Cruz J, Bastidas M, Márquez L, Puig J. Detección y tipificación de virus del papiloma humano (VPH) mediante PCR-RFLP. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2008; 68 (1)
12. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30 (Suppl 5):F12-23. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.07.055
13. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997;102(5A):3-8
14. De Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol*. 2010;11(11):1048-56
15. CDC [Internet]. Atlanta USA; c2015. Control del cáncer a nivel internacional; [citado 27 Ene 2015]. [1 pantalla]. Disponible en: www.cdc.gov/spanish/cancer/international/statistics.htm
16. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* 2008; 26 Suppl 10: K29-41.
17. Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(16):1579-88.
18. Rijkaart DC, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Bulkman NW, Heideman DA, et al. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2012;13(1):78-88.
19. Bulkman NW, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Boeke AJ, Bulk S, et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet*. 2007;370(9601):1764-72.
20. Zehbe I, Voglino G, Delius H, Wilander E, Tommasino M. Risk of cervical cancer and geographical variations of human papillomavirus 16 E6 polymorphisms. *Lancet* 1998; 352:1441-2.

21. Calleja-Macias IE, Kalantari M, Huh J, Ortiz-Lopez R, et al. Genomic diversity of human papillomavirus-16, 18, 31, and 35 isolates in a Mexican population and relationship to European, African, and native American variants. *Virology* 2004; 319:315- 23.
22. Calleja-Macias IE, Kalantari M, Huh J, Ortiz-Lopez R, et al. *Ibid.*, p.
23. De Palo G, Chanen W, Dexeus S. Patología y tratamiento del tracto genital inferior. 1ª ed. España: Masson; c2001. 42-61 p.
24. Peto J, Gilham C, Deacon J, et al. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer* 2004; 91(5):942– 53.
25. Medina Magües, Lex. Genotipificación del Virus del Papiloma Humano mediante secuenciamiento y PCR cuantitativa en tiempo real y detección de variantes intratípicas por análisis filogenético. Tesis. Escuel Superior Politécnica del Litoral. Ecuador, 2015. Disponible en: <file:///C:/Users/User/Downloads/TESIS-ESPOL-LexMedina-PROTEGIDO.pdf>
26. De la Hoz F, Alvis N, Narváez J, Choconta L. Evaluación de la Carga de Enfermedad por el Virus del Papiloma Humano en Bogotá. *Rev. Salud pública*, 2009; 11 (3): 454-467.
27. Saiki y cols. Enzymatic amplification of β -Globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 1985 Dec 20;230(4732):1350-4.
28. Sanabria Negrín, José. Virus del papiloma humano. *Rev Cienc Méd Pinar del Río*. 2009;13(4).
29. Sánchez, V, Valencia, G, A Marlenys, Perspectivas en la detección y control del virus de papiloma humano. *Bioanálisis: revista de la Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad de Antioquia*, 2001 Vol. 1, N° 1
30. González, Leonardo, Actualización sobre el diagnóstico y tratamiento del Papiloma Humano (VPH). Hospital Clínico de Maracaibo, Schering Plough, 1993; 26p
31. Ramos Ramírez, Martha Cecilia. Genotipificación del Virus del Papiloma Humano en lesiones displásicas en Centros de Salud de la ciudad de Ambato 2015-2016. Tesis. Universidad de Guayaquil. Ecuador. 2016. Disponible: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/23241>

32. Medina Magües, Lex. Genotipificación del Virus del Papiloma Humano mediante secuenciamiento y PCR cuantitativa en tiempo real y detección de variantes intratípicas por análisis filogenético. Tesis. Escuel Superior Politécnica del Litoral. Ecuador, 2015. Disponible en: <file:///C:/Users/User/Downloads/TESIS-ESPOL-LexMedina-PROTEGIDO.pdf>
33. Portilla Naranjo, Ana. Genotipificación del virus papiloma Humano (HPV) mediante PCR en muestras de cepillado exo–endocervical. Tesis. Universidad de Guayaquil. Ecuador. 2014. Disponible <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/7084>
34. Giménez, Graciél; Mendoza, Laura; Arbiza, Juan; Picconi, A.; Mongelós, Pamela; Castro, Amalia; Páez, Malvina. Una propuesta rápida y económica para detectar el virus de papiloma humano por PCR a partir de muestras cervicales con reactivo desnaturalizante. Instituto de investigaciones en ciencias de la salud. Vol. 12, núm. 1. 2014
35. Torres Vidal, Mirella Consuelo. Evaluación de los Resultados de Papanicolaou como Indicador de Cáncer de Cuello Uterino en las Mujeres de Edad fértil de 20 a 45 años, que acuden a consulta en el Sub Centro de Salud “29 de noviembre” de la ciudad de Santa Rosa, 2009. Tesis. Universidad de Guayaquil. Ecuador. 2012.
36. Mendoza, L. P; Arbiza, J; Páez, M; Kasamatsu, E; Castro, A; Giménez, G; y et al. Características clínico-demográficas y tipificación del virus de papiloma humano en mujeres paraguayas con citologías negativas para lesión escamosa intraepitelial. Mem. Inst. Invest. Cienc. Salud (Impr.); 8(1): 4655, jun. 2012.
37. Li, Padilla, Gutiérrez e Híjar. Detección molecular y genotipificación de virus del papiloma humano como tamizaje de cáncer de cuello uterino: posibilidades en el contexto peruano. Bol Inst Nac Salud. 2016;22(1-3):22-8.
38. Valerio Ventocilla, Gabriela Ingrid. Valoración de la citología y la colposcopia como pruebas de detección precoz del cáncer de cuello uterino en pacientes del Instituto Nacional Materno Perinatal.
39. Sullcahuaman-Allende, Yasser, et. al. Características sociodemográficas de mujeres peruanas con virus papiloma humano detectado por PCR-RFLP. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2015;32(3):509-14.

40. Santos Ortiz, Carlos. Virus del papiloma humano y cáncer del cuello uterino en el Perú. *Rev Per Ginecol Obstet.* 2007;53(2):98-100.
41. Day PM, Lowy DR, Schiller JT. Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology.* 2003;307(1):1-11.
42. García-Tamayo J, Molina J, Blasco-Olaetxea E. El virus del papiloma humano y el cáncer cervical: Una revisión de la historia actualizada sobre la investigación del cáncer del cuello uterino
43. Sahasrabudhe VV, Luhn P, Wentzensen N. Human papillomavirus and cervical cancer: biomarkers for improved prevention efforts. *Future Microbiol.* 2011;6(9):1083-98.
44. García-Tamayo J, Molina J, Blasco-Olaetxea E. Op, cit.
45. Duensing S, Munger K. Centrosome abnormalities and genomic instability induced by human papillomavirus oncoproteins. *Prog Cell Cycle Res.* 2003; 5:383-91.
46. Hu L, Guo M, He Z, Thornton J, McDaniel LS, Hughson MD. Human papillomavirus genotyping and expression in cervical intraepithelial neoplasia of adolescents. *Mod Pathol.* 2005;18(2):267-7
47. Schiffman M, Clifford G, Buonaguro FM. Classification of weakly carcinogenic human papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline. *Infect Agent Cancer* 2009; 4: 8.
48. Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis* 2010; 202: 1789-99.
49. Deluca GD, Basiletti J, González JV, Díaz Vásquez N, Lucero RH, Picconi MA. Human papilloma virus risk factors for infection and genotype distribution in aboriginal women from Northern Argentina. *Medicina (B Aires)* 2012; 72: 461-6.
50. Clifford GM, Rana RK, Franceschi S, Smith JS, Gough G, Pimenta JM. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade cervical lesions: comparison by geographic region and with cervical cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1157-64
51. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 89: 101-5

52. Quint W, Jenkins D, Molijn A, et al. One virus, one lesion- individual components of CIN lesions contain a specific HPV type. *J Pathol* 2012; 227: 62-71.
53. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Am J Med* 1997; 102 (5, Suppl 1): 3–8.
54. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
55. Schiffman M, Castle PE. The promise of global cervicalcancer prevention. *N Engl J Med* 2005; 353: 2101-4.
56. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human papillomaviruses. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1995; 64: 1-378.
57. Zur Hausen H. Papillomavirus infection- a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1288, F55-78.
58. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, at al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-9.
59. Cruz JF, Márquez L, Quintero M, Bastidas M, Puig J. Estudio de variantes intra-tipo del virus del papiloma humano tipo16 , por análisis nucleotídico de la región MY09-MY11. *Obs Ginecol.* 2013;73(3):187–94.
60. Carvajal-Rodríguez a. Detecting recombination and diversifying selection in human alpha-papillomavirus. *Infect Genet Evol.* 2008;8(5):689–92.
61. Calleja-macias IE, Villa LL, Prado JC, Allan B, Williamson A, Collins RJ, et al. Worldwide Genomic Diversity of the High- Risk Human Papillomavirus Types 31 , Human Papillomavirus Type 16 Worldwide Genomic Diversity of the High-Risk Human Papillomavirus Types 31 , 35 , 52 , and 58, Four Close Relatives of Human Papillomavirus Type 16. *J Virol* 2005;79(21):13630–40
62. Bzhalava D, Eklund C, Dillner J. International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology [Internet]. Elsevier*; 2015; 476:341–4. Recuperado a partir de: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0042682214005777>
63. De Villiers E-M, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology [Internet]*. 20 de junio de 2004

- [citado 11 de julio de 2014];324(1):17–27. Recuperado a partir de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15183049>
64. Reference clones at International HPV Reference Center [Internet]. [citado 25 de marzo de 2015]. Recuperado a partir de: [http://www.hpvcenter.se/html/refclones.html?%3C?php echo time \(\); %3E](http://www.hpvcenter.se/html/refclones.html?%3C?php%20echo%20time%28%29;%20%3E)
 65. ICTV Virus Taxonomy 2014 [Internet]. [citado 25 de marzo de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>
 66. Bertaut A, Chavanet P, Aho S, Astruc K, Douvier S, Fournel I. HPV vaccination coverage in French girls attending middle and high schools: a declarative cross sectional study in the department of Côte d'Or. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*;170(2):526–32. Recuperado a partir de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23953913>
 67. Calleja-macias IE, Villa LL, Prado JC, Allan B, Williamson A, Collins RJ, et al. Op cit.
 68. Stanley M A. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clin Microbiol Rev*; 25(2):215–22. Recuperado a partir de: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3346303&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 69. Sánchez M. Distribución de genotipos en mujeres conizadas por lesión escamosa intraepitelial de alto grado (CIN 2-3) y análisis de los cofactores de cáncer de cérvix en Málaga. Universidad de Málaga; 2012.
 70. Reference clones at International HPV Reference Center [Internet]. [citado 25 de marzo de 2015]. Recuperado a partir de: [http://www.hpvcenter.se/html/refclones.html?%3C?php echo time\(\); ?%3E](http://www.hpvcenter.se/html/refclones.html?%3C?php%20echo%20time%28%29;%20%3E)
 71. PaVE: Papilloma virus genome database [Internet]. [citado 25 de marzo de 2015]. Recuperado a partir de: http://pave.niaid.nih.gov/#explore/review_chapters
 72. PaVE: Papilloma virus genome database . Ib. did.
 73. Garcea RL, DiMaio D, Papillomaviruses T. *The Papillomaviruses* [Internet]. First edit. New York: Springer; 2007. 419 p. Recuperado a partir de: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-0-387-36523-7>

74. Chung B. Transmission and transformation: Reviewing HPV' s lifecycle. New Jersey; 2014.
75. PaVE: Papilloma virus genome database. Op, cit.
76. Kroupis C, Vourlidis N. Human papilloma virus (HPV) molecular diagnostics. Clin Chem Lab Med.2011;49(11):1783–99.
77. Garcea RL, Di Maio D, Papillomaviruses T. The Papilloma viruses [Internet]. First edit. New York: Springer; 2007. p. 419. Recuperado a partir de: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-0-387-36523-7>
78. Howie HL, Katzenellenbogen R a., Galloway D a. Papillomavirus E6 proteins. Virology [Internet]. Elsevier Inc.;2009;384(2):324–34. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2008.11.017>
79. Garcea RL, DiMaio D. Op.,cit.
80. Lazarczyk M, Cassonnet P, Pons C, Jacob Y, Favre M. The EVER proteins as a natural barrier against papillomaviruses: a new insight into the pathogenesis of human papillomavirus infections. Microbiol Mol Biol Rev [Internet]. junio de 2009 [citado 7 de febrero de 2015];73(2):348–70. Recuperado a partir de: <http://mmbbr.asm.org/content/73/2/348/F2.expansion.html>
81. Aboul-Fotouh ME-M, Hana IT. Clinical validation of high risk HPV DNA testing versus ThinPrep cytology for primary cervical cancer screening. Middle East Fertil Soc J; 18(2):102–9. Recuperado a partir de: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1110569012001227>
82. IARC. Human Papillomaviruses [Internet]. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 2007. Recuperado a partir de: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol90/mono90-6.pdf>
83. Kroupis C, Vourlidis N. Op., cit.
84. Rosenblatt A, de Campos H. Human Papillomavirus a Practical Guide for Urologists. 2009.
85. Agnihotram Ramanakumar, Otelinda Goncalves, Harriet Richardson, Pierre Tellier, Alex Ferenczy, François Coutlée EF. Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integration in persistent and transient infections in young women. BMC Infect Dis. 2010;10:326.

86. Vera-Uehara C, Sánchez Alemán MA, Uribe-Salas FJ, Ramos-Castañeda J, Olamendi-Portugal ML, Conde-Glez CJ. HPV infection, risk factors and viral load among Mexican male college students. *Braz J Infect Dis* [Internet]. 2013 [citado 2 de diciembre de 2014];18(1):71–6. Recuperado a partir de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24055311>
87. Aboul-Fotouh ME-M, Hana IT. Op cit. p102.
88. Zheng BY, Gharizadeh B, Wallin KL. Human Papillomaviruses Genotyping by Pyrosequencing Method. *Appl Microbiol*. 2007;001(650):547–56.
89. Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol*. 2005;32 Suppl 1:S43-51.
90. Snijders PJ, van den Brule AJ, Schrijnemakers HF, Snow G, Meijer CJ, Walboomers JM. The use of general primers in the polymerase chain reaction permits the detection of a broad spectrum of human papillomavirus genotypes. *J Gen Virol*. 1990;71(Pt 1):173-81.
91. Iftner T, Villa LL. Chapter 12: Human papillomavirus technologies. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;(31):80-8.
92. Resnick RM, Cornelissen MT, Wright DK, Eichinger GH, Fox HS, ter Schegget J, et al. Detection and typing of human papillomavirus in archival cervical cancer specimens by DNA amplification with consensus primers. *J Natl Cancer Inst*. 1990;82(18):1477-84.
93. Dona MG, Ronchetti L, Giuliani M, Carosi M, Rollo F, Congiu M, et al. Performance of the linear array HPV genotyping test on paired cytological and formalin-fixed, paraffin-embedded cervical samples. *J Mol Diagn*. 2013;15(3):373-9.
94. Gravitt PE, Burk RD, Lorincz A, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, et al. A comparison between real-time polymerase chain reaction and hybrid capture 2 for human papillomavirus DNA quantitation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003;12(6):477-84.
95. Monsonego J, Bohbot JM, Pollini G, Krawec C, Vincent C, Merignargues I, et al. Performance of the Roche AMPLICOR human papillomavirus (HPV) test in prediction of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in women with abnormal PAP smear. *Gynecol Oncol*. 2005;99(1):160-8.
96. Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Rozendaal L, Remmink AJ, Risse EK, et al. Relation of human papillomavirus status to

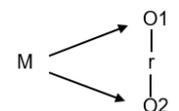
- cervical lesions and consequences for cervical-cancer screening: a prospective study. *Lancet*. 1999;354(9172):20-5.
97. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, Ferreira S, Santos M, Miyamura RA, et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA*. 2001;286(24):3106-14.
 98. Baker E. Assessing the impact of new cervical cancer screening guidelines. *MLO Med Lab Obs*. 2013;45(2):28-9.
 99. Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM, et al. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med*. 2009;360(14):1385-94.
 100. Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med*. 2000;132(10):810-9.
 101. Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2006;119(5):1095-101.
 102. Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med*. 2007;357(16):1579-88.
 103. Wright TC, Jr., Stoler MH, Sharma A, Zhang G, Behrens C, Wright TL, et al. Evaluation of HPV-16 and HPV- 18 genotyping for the triage of women with high-risk HPV+ cytology-negative results. *Am J Clin Pathol*. 2011;136(4):578-86.
 104. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin*. 2012;62(3):147-72
 105. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, KulasingamSL, Cain J, et al. *Ib did*. 147-72.
 106. Iftner T y Villa L. Chapter 12: Human papillomavirus technologies. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; 31:80-88

107. Gravitt P, Burk R, Lorincz A, Herrero R y col. A comparison between real-time polimerase chain reaction and hybrid capture 2 for for human papillomavirus DNA quantitation. *Cancer Epidemiol. Biomark Prev* 2003;12:477-484
108. Monsonogo J, Bohbot JM, Pollini G y col. Performance of the Roche AMPLICOR human papillomavirus(HPV) test in prediction of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in women with abnormal PAPsmear. *Gynecol Oncol* 2005;99:160–168
109. Wahlström C, Ifner T, Dillner J y col. Population-based study of screening test performance indices of three human papillomavirus DNA tests. *J Med Virol* 2007 Aug;79(8):1169-75
110. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J y col. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia *JAMA*2001;286(24):3106- 14..
111. Coutlé F, Rouleau D, Petignat P Enhanced Detection and Typing of Human Papillomavirus (HPV) DNA in Anogenital Samples with PGM Y Primers and the Linear Array HPV Genotyping Test. *J Clin Microbiol* 2006;44(6):1998–2006
112. Sherman, Schiffma, Lorincz, Manos, Scott, Kurman, et al. Op cit. p. 45
113. Chouhy D, Bolatti EM, Perez GR, Girl AA. Analysis of the genetic diversity and phylogenetic relationships of putative human papillomavirus types. *J Gen Virol* 2013.
114. Picconi María. Detección de virus papiloma humano en la prevención del cáncer cérvico-uterino. Tesis Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Buenos Aire 2013.
115. Ghittoni R, Accardi R, Hasan U, et al. (2010) The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. *Virus Genes*, 40, 1-13
116. Ochoa Carrillo, Francisco. Virus del papiloma humano. Desde su descubrimiento hasta el desarrollo de una vacuna. Elseiver. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2014;13(5):308-315
117. Benuto ARE, Berumen CJ. Virus oncógenos: el paradigma del virus del papiloma humano. *Dermatol Rev Mex* 2009;53(5):234-242.
118. Calleja-Macias IE, Kalantari M, Huh J, et al. Genomic diversity of human papillomavirus-16, 18, 31, and 35 isolates in a Mexican population and relationship to European, African, and Native American variants. *Virology* 2004;319:315-323.

119. Carrasco Diaz. Metodología de investigación científica. Editorial San Marcos. Perú. 2005. p.474
120. Supo, José. Seminario de Investigación científica. Bioestadico.com. Perú. 2014. p.45
121. López,Ili, Brebi,Garcia,Capurro, Guzman, et al. Detección y tipificación de virus papiloma humano en lesiones preneoplásicas de cuello uterino. Rev. méd. Chile v.138 n.11 Santiago nov. 2010. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001200001
122. Molano M, Murillo R, Cano A. Detección y tipificación del virus del papiloma humano (VPH) en mujeres con cáncer de cuello uterino en Bogotá y Barranquilla, 2009.
123. Melo A, Montenegro S, Hooper T, y otros. Tipificación del virus papiloma humano (VPH) en lesiones preneoplásicas y carcinoma del cuello uterino en mujeres de la IX Región-Chile, 2017
124. Picconi María. Op cit. P.102
125. Rivero Carrano, Juan. Importancia de la tipificación del Virus papiloma humano (VPH). Rev Venez Oncol 2002;14(3):175-177

ANEXOS

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables	Metodología	Técnica e instrumentos
<p>Problema general ¿Cuál es la tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa en relación a la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco, 2016-2017?</p> <p>Problemas Específicos ¿Cuáles son las características epidemiológicas de la población en estudio? ¿Cuáles son las características citopatológicas observadas en los resultados de la citología anormal por PAP en medio líquido y por PCR? ¿Cuál es el aspecto del cérvix mediante evaluación clínica y las anomalías de las células epiteliales en la población en estudio? ¿Cómo tipificar los virus del PVH mediante la técnica de la PCR? ¿Cuáles son los genotipos según riesgo oncogénico del VPH en la población en estudio?</p>	<p>Objetivo general ¿Cuál es la tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa en relación a la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco, 2016-2017?</p> <p>Objetivos Específicos Identificar las características epidemiológicas de la población en estudio Identificar las características citopatológicas observadas en los resultados de la citología anormal por PAP en medio líquido y por PCR Identificar el aspecto del cérvix mediante evaluación clínica y las anomalías de las células epiteliales en la población en estudio Tipificar los virus del PVH mediante la técnica de la PCR Clasificar los genotipos según riesgo oncogénico del VPH en la población en estudio.</p>	<p>H0 La tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa no se relaciona con la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco.</p> <p>H1 La tipificación de VPH por reacción en cadena de la polimerasa se relaciona con la citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud – Huánuco</p>	<p>Variable de estudio 1 Tipificación del Virus del Papiloma Humano (Genotipo) Indicadores: • Genotipos de alto riesgo oncogénico • Genotipos de bajo riesgo oncogénico</p> <p>Variable de estudio 2 Citología anormal de Papanicolaou Indicador: • Resultados de Citología anormal de Papanicolaou</p>	<p>Población de estudio Todas las pacientes mujeres de 21 años de edad / consultorio de Ginecología del Hospital II EsSalud – Huánuco, con resultado de PAP sugerente a infección a PVH . DIC/2016 a NOV/2017, = 67 pacientes.</p> <p>Muestra Todas las mujeres que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión, = 52 pacientes.</p> <p>Nivel: Descriptivo-correlacional Tipo: Observacional, prospectivo, longitudinal y biviado Diseño: Observacional, descriptivo, epidemiológico y relacional</p> 	<p>Técnica: 1° Análisis documental 2° Luego: observación, entrevista y los test de evaluación (Kits para el Papanicolaou en medio líquido y el PCR).</p> <p>Instrumentos Guía de entrevista, la ficha de observación y el informe de citología cervical en medio líquido y el informe del PCR</p> <p>Análisis de los resultados</p> <p>Estadística descriptiva Análisis inferencial: Rho Spearman</p>

ANEXO 2**Consentimiento Informado para Participantes de Investigación**

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por el Med. Ginecólogo Willams Venturo Castro, doctorando de la UNHEVAL- Huánuco. EL objetivo de este estudio es Determinar la tipificación por reacción en cadena de la polimerasa del papiloma virus humano en citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud-Huánuco 2016-2017

Si usted accede a participar en este estudio, se le pedirá responder preguntas en una entrevista y a su vez se le practicar la toma de una nueva muestra del cuello uterino. Esto tomará aproximadamente 20 minutos de su tiempo. Los resultados se le harán entrega inmediatamente lleguen a esta ciudad.

La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas a la entrevista y los datos recogidos en la guía de observación serán codificadas usando un número de identificación y por lo tanto, serán anónimas. Una vez culminado el estudio la información será resguardada por el término de dos años, a partir del cual serán desechados.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Si algún momento de la investigación se siente incómoda, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador y de retirarse

Desde ya le agradecemos su participación.

Yo.....,
identificada con DNI:, acepto participar voluntariamente en esta investigación titulada la “Tipificación por reacción en cadena de la polimerasa del papiloma virus humano en citología anormal del Papanicolaou en el Hospital II Essalud-Huánuco 2016-2017”, conducida por Med. Ginecólogo Willams Venturo Castro.

He sido informado (a) del objetivo de la investigación y de que estoy en la libertad de responder y de someterme a los procedimientos de toma de una nueva muestra del cuello uterino para las técnicas de Papanicolaou en medio líquido y del PCR; el cual demorará aproximadamente 20 minutos.

Reconozco que la información que yo provea en el curso de esta investigación es estrictamente confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de los de este estudio sin mi consentimiento. He sido informado de que puedo hacer preguntas sobre el proyecto en cualquier momento y que puedo retirarme del mismo cuando así lo decida, sin que esto acarree perjuicio alguno para mi persona.

De tener preguntas sobre mi participación en este estudio, puedo contactar al investigador al teléfono 962345634

Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada, y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio cuando éste haya concluido.

Nombre del Participante
(en letra imprenta)

Firma del Participante

Fecha

ANEXO 3: INSTRUMENTOS

GUÍA DE OBSERVACION

DATOS GENERALES:

Día: Lugar:

Hora de inicio de la observación:

Hora de finalización de la observación:

Unidad de Observación	Items Observables	Pruebas de descarte o confirmación
Cuello Uterino sano	-Sin muestra de lesiones macroscópicas por especuloscopia () -Sin muestras de lesiones microscópicas con el uso de la colposcopia ()	-Estudio por colposcopia () -Toma de muestra por Papanicolaou convencional (en lámina ()
Cuello Uterino sospechoso de tener VPH	-Sin muestra de lesiones macroscópicas por especuloscopia. () -Con muestra de lesiones Microscópicas con el uso de la colposcopia usando ácido acético al 3% (epitelio blanco) ()	-Estudio por colposcopia () - Papanicolaou en lámina. () -Papanicolaou en medio líquido. ()
Cuello uterino con Fuerte sospecha de VPH	-Con muestra de lesiones macroscópicas IVAA positivo dudoso. () -Con muestra de lesiones evidentes () positivos al ácido acético y lugol evaluado por colposcopia.	-Estudio por colposcopia. () -Papanicolaou en lámina. () -Papanicolaou en medio líquido ()
Cuello uterino con VPH	-Con muestra de lesiones macroscópicas IVVA positivo () -Con muestra de lesiones evidentemente positivos al ácido acético y lugol (test de Schiller) ()	-Estudio por colposcopia () Papanicolaou en medio líquido (). -Biopsia de cérvix. ()
Cuello uterino con LIE de bajo grado	-Con muestra de lesiones macroscópicas IVVA positivo () -Con muestra de lesiones aceto positivos () mostrando epitelio blanco, punteado vascular. ()	-Estudio por colposcopia () -Papanicolaou en medio líquido. () -Biopsia de cérvix. () -Tipificar o no el VPH por PCR. ()
Cuello uterino con LIE de alto grado	-Con muestra de cambios estructurales con o sin el uso del ácido acético al 3%. () -Con muestra evidente de epitelio blanco, mosaico, vasos tortuosos, lesiones elevadas en copos de nieve y otros. ()	-Estudio por colposcopia () -Papanicolaou en medio líquido. () -Biopsia de cérvix. () -Tipificación del VPH por PCR. ()
Cáncer de cuello uterino	-Con lesiones macroscópicas y microscópicas evidentes. ()	- Biopsia de cérvix. () -Tipificación del VPH por PCR. ()
VPH No Oncogénico	6(), 11(), 42(), 43(), 44(), 81()	-Tipificación del VPH por PCR. ()
VPH Oncogénico	16(), 18(), 31(), 33(), 35(), 39(), 45(), 51(), 52(), 53(), 56(), 58(), 59(), 66(), 68()	-Tipificación del PVH por PCR ()
Asociación de genotipos	Especifique:	-Tipificación del PVH por PCR ()

Código:

Fecha: ___ / ___

GUÍA DE ENTREVISTA DE LAS CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLOGIAS

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN: Tipificación por reacción en cadena de la polimerasa del papiloma virus humano en citología anormal del papanicolaou en el hospital II Essalud-Huánuco 2016-2017

INSTRUCCIONES. Estimada Sra/Srta. sírvase responder de manera apropiada respecto a sus características Epidemiológicas. Para el efecto sírvase marcar con un aspa (x) dentro de los paréntesis las respuestas que Usted considere pertinente.

Sus respuestas serán manejadas con carácter confidencial por lo cual le solicitamos veracidad.

I. Características epidemiológicas:

1. ¿Cuántos años tiene usted? _____
2. ¿Tiene usted resultado de Papanicolaou anormal o positivo a papiloma virus?
 - a. Si ()
 - b. No ()
 Descripción: _____
3. ¿Tiene usted estudio de colposcopia?
 - a. Si ()
 - b. No ()
 Descripción: _____
4. ¿Tiene usted estudio de biopsia cervical?
 - a. Si ()
 - b. No ()
 Descripción: _____
5. ¿Cuál es su estado civil?

a. Soltero ()	b. Casado ()	c. Conviviente ()
d. Divorciada ()	e. Separada ()	f. Viuda ()
6. Paridad

a. Nulipara ()	b. De 1 a 3 hijos ()	c. Mas de 3 partos()
-----------------	-----------------------	-----------------------
7. Uso de Métodos anticonceptivos:

a. Si	()
b. No	()
8. Sexarquía (inicio de las relaciones sexuales):

a. 10 - 11 años ()	b. 12 - 14 años ()	c. 15 - 17 años ()
---------------------	---------------------	---------------------
9. Número de parejas

a. 1 Pareja	()
b. 2 Parejas	()
c. 3 a + Parejas	()
10. Fuma cigarrillo

a. Si	()
b. No	()

Gracias por su colaboración

NOTA BIOGRÁFICA**DATOS GENERALES:**

Apellidos y nombres: Venturo Castro, Willans Gerber
DNI: 07122551
Fecha de nacimiento: Huánuco, 08 de agosto de 1960

ESTUDIOS:

- SUPERIOR
1985 – 1986 Internado en Medicina Humana en el Hospital Hipólito Unanue, UNFV. Lima – Perú
1978 – 1985 Estudios de medicina Humana en la Universidad Nacional Federico Villareal. Lima – Perú.
- SECUNDARIA
1973 – 1977 Institución Educativa Libertador San Martin, Lima – Perú.

GRADOS Y TÍTULOS:

- 2018 Doctorado en Ciencias de la Salud. Universidad Nacional Hermilio Valdizán de Huánuco
- 2015 Maestría en Lipoescultura Escuela internacional de Lipoescultura Ortostática profesor Dr Giorgio Fischer
- 2002 Maestría en Administración y Gerencia en Salud. Universidad Nacional Hermilio Valdizán. Huánuco – Perú
- 1985 Bachiller en Medicina Humana: Universidad Nacional Federico Villareal. Lima – Perú.
- 1985 Título en Medicina Humana: Universidad Nacional Federico Villareal. Lima – Perú.

CENTRO/S LABORAL/ES ACTUAL/ES – CARGO/S:

Gerente de la Clínica Huánuco
Medico asistencia - Servicio de Ginecología y Obstetricia

Huánuco, 08 de julio del 2019



ACTA DE DEFENSA DE TESIS DE DOCTOR

En el Auditorio de la Escuela de Posgrado; siendo las 17:00 h, del día jueves 27 DE DICIEMBRE 2018; el aspirante al Grado de Doctor en Ciencias de la Salud, Willans Gerbert VENTURO CASTRO, procedió al acto de Defensa de su Tesis titulado: "TIPIFICACIÓN POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN CITOLOGÍA ANORMAL DEL PAPANICOLAOU EN EL HOSPITAL II ESSALUD – HUÁNUCO 2016-2017", ante los miembros del Jurado de Tesis señöres:

Dr. Abner FONSECA LIVIAS	Presidente
Dra. Enit VILLAR CARBAJAL	Secretaria
Dra. Nancy VERAMENDI VILLAVICENCIOS	Vocal
Dra. Marina LLANOS MELGAREJO	Vocal
Dr. Reynaldo OSTOS MIRAVAL	Vocal

Asesora de Tesis: Dra. Maria VILLAVICENCIO GUARDIA (Resolución N° 0819-2016-UNHEVAL/EPG-D)

Respondiendo las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y público asistente.

Concluido el acto de defensa, cada miembro del Jurado procedió a la evaluación del aspirante a Doctor, teniendo presente los criterios siguientes:

- a) Presentación personal.
- b) Exposición: el problema a resolver, hipótesis, objetivos, resultados, conclusiones, los aportes, contribución a la ciencia y solución a un problema social y Recomendaciones.
- c) Grado de convicción y sustento bibliográfico utilizados para las respuestas a las interrogantes del Jurado y público asistente.
- d) Dicción y dominio de escenario.

Así mismo, el Jurado planteó a la tesis las observaciones siguientes:

.....
.....
.....
.....

Obteniendo en consecuencia el Doctorando la Nota de Dieciocho (18)
Equivalente a Muy Bueno, por lo que se declara Aprobado
(Aprobado ó desaprobado)

Los miembros del Jurado, firman la presente ACTA en señal de conformidad, en Huánuco, siendo las 19:00 horas del 27 de diciembre de 2018.

.....
PRESIDENTE
DNI N° 72412106

.....
SECRETARIA
DNI N° 22408286

.....
VOCAL
DNI N° 22421418

.....
VOCAL
DNI N° 22418598

.....
VOCAL
DNI N° 22420141

Leyenda:
19 a 20: Excelente
17 a 18: Muy Bueno
14 a 16: Bueno

(Resolución N° 03210-2018-UNHEVAL/EPG-D)

AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE TESIS ELECTRÓNICAS DE POSGRADO

1. IDENTIFICACIÓN PERSONAL:

Apellidos y Nombres: Venturo Gerbert, Willans Gerbert

DNI: 07122551

Correo electrónico: clinicahuanuco1@hotmail.com

Teléfonos: Casa: 514026

Celular: 962971080

2. IDENTIFICACIÓN DE LA TESIS:

POSGRADO
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

Grado Académico obtenido: Doctor en ciencias de la salud

Título de la Tesis:

TITULO DEL ESTUDIO: TIPIFICACIÓN DE VPH POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN RELACIÓN A LA CITOLOGÍA ANORMAL DEL PAPANICOLAOU EN EL HOSPITAL II ESSALUD – HUÁNUCO, 2016-2017

Tipo de acceso que autoriza(n) el (los) autor (es):

Marcar (X)	Categoría de Acceso	Descripción del Acceso
X	PÚBLICO	Es público y accesible al documento a texto completo por cualquier tipo de usuario que consulta el repositorio.
	RESTRINGIDO	Solo permite el acceso al registro del metadato con información básica, más no al texto completo

Al elegir la opción "Público", a través de la presente autorizo de manera gratuita al Repositorio Institucional - UNHEVAL, a publicar la versión electrónica de esta tesis en el Portal Web repositorio.unheval.edu.pe, por un plazo indefinido, consintiendo que con dicha autorización cualquier tercero podrá acceder a dichas páginas de manera gratuita, pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla, siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente.

En caso haya(n) marcado la opción "Restringido", por favor detallar las razones por las que se eligió este tipo de acceso:

Asimismo, pedimos indicar el periodo de tiempo en que la tesis tendría el tipo de acceso restringido:

1 año

3 años

2 años

4 años

Luego del periodo señalado por usted(es), automáticamente la tesis pasará a ser de acceso público.

Huánuco, 07 de julio del 2019


Willans Gerbert Venturo Gerbert
DNI 07122551