



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**“PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DEL PAPILOMA VIRUS HUMANO EN
MUESTRAS CÉRVICO UTERINAS Y SU RELACIÓN CON LOS FACTORES DE
RIESGO EN MUJERES CON VIDA SEXUAL ACTIVA DE LOS CANTONES
GUALACEO, PAUTE Y CHORDELEG DE LA PROVINCIA DEL AZUAY 2013-
2014”**

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

AUTORAS:

**FABIOLA MERCEDES CALLE VINTIMILLA
VIVIANA FABIOLA GUALPA GÓMEZ
SANDRA MARISOL REINOSO ORTIZ**

DIRECTOR - ASESOR:

DR. JOSÉ ANTONIO CABRERA VICUÑA.

**CUENCA - ECUADOR
2015**



RESUMEN

El virus del papiloma humano (VPH) es el agente causal del cáncer cérvico-uterino; con la técnica de la PCR en tiempo real se han identificado hasta el momento más de 200 genotipos de bajo y alto grado oncogénico; algunos tipos pueden causar papilomas benignos y otros producir el cáncer del cuello uterino. Está demostrado que más del 90% de esos cánceres son producidos por VPH de alto riesgo.

El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico-uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay.

Este estudio fue observacional de tipo transversal con una muestra aleatorizada de 200 mujeres pertenecientes a Gualaceo, Paute y Chordeleg; los exámenes se realizaron en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca, se utilizó la técnica de PCR en Tiempo Real; y el examen de Papanicolaou.

La prevalencia del VPH fue de 26,50%, el 4% corresponde a VPH de bajo riesgo y el 22,50% de alto riesgo.

La presencia de VPH de alto riesgo se encuentra en el 33,3% de las lesiones metaplásicas, en el 26,7% en las vaginosis y en el 21,6% de las inflamaciones.

Tienen significación estadística ($p < 0,05$; $OR > 1$) los siguientes factores de riesgo: número de compañeros sexuales y pareja masculina con varias compañeras sexuales.

PALABRAS CLAVES: GENOTIPO DEL VPH; PCR TIEMPO REAL; FACTORES DE RIESGO; PROVINCIA AZUAY.



ABSTRACT

The human papillomavirus (HPV) is the causative agent of cervical cancer; with the technique of real-time PCR have been identified so far over 200 genotypes of low and high oncogenic degree; some types can cause benign papillomas and other produce cancer of the cervix. It is shown that over 90% of these cancers are caused by high-risk HPV.

The objective of this research was to determine the prevalence of human papillomavirus genotypes in cervical specimens and their relationship with risk factors in women with active sexual life of Gualaceo, Paute and Chordeleg of the province of Azuay.

This study was observational, cross-sectional with a random sample of 200 women from Gualaceo, Paute and Chordeleg; examinations were performed in the laboratory of Molecular Biology of the Faculty of Medical Sciences of the University of Cuenca, the technique of Real Time PCR was used; and the Pap test.

The HPV prevalence was 26.50%, 4% are low-risk HPV and 22.50% high risk.

The presence of high-risk HPV is found in 33.3% of metaplastic lesions, 26.7% in vaginosis and in the 21.6% of inflammations.

Have statistical significance ($p < 0.05$; $OR > 1$) the following risk factors: number of sexual partners and male partner with multiple sexual partners

KEYWORDS: GENOTYPE OF HPV; REAL TIME PCR; RISK FACTORS; AZUAY PROVINCE.



ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCION.....	12
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
3. JUSTIFICACIÓN.....	14
4. FUNDAMENTO TEORICO.....	15
4.1. El Virus del Papiloma Humano.....	15
4.2. El VPH y el Cáncer	16
4.3. Ciclo de vida de VPH.....	17
4.4. Factores de riesgo	18
4.5. Vacunas para VPH	20
4.6. Datos epidemiológicos	21
5. OBJETIVOS.....	24
5.1. Objetivo General.....	24
5.2. Objetivos Específicos	24
6. METODOLOGÍA	25
6.1. Tipo y diseño general del estudio:.....	25
6.2. Universo y muestra	25
6.3. Criterios de inclusión y exclusión.....	26
6.4. Variables del estudio:.....	26
6.5. Operacionalización de las variables (ANEXO 1)	26
6.6. Métodos, técnicas y procedimientos	26
6.7. Análisis estadístico	32
6.8. Aspectos éticos	32
7. RESULTADOS	34
7.1. Tabla N°1	34
7.2. Tabla N° 2.....	35
7.3. Tabla N°3.....	35
7.4. Tabla N° 4	35



7.5.	Tabla N°5	36
7.6.	Tabla N° 6	36
7.7.	Tabla N° 7.	37
7.8.	Tabla N° 8	37
7.9.	Tabla N°9	38
7.10.	Tabla N°10.....	39
8.	DISCUSIÓN.....	41
9.	CONCLUSIONES.....	43
10.	RECOMENDACIONES	45
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
12.	ANEXOS.....	50
	ANEXO 1. Matriz de Operacionalización de variables.....	50
	ANEXO 2 (Consentimiento Informado).....	53
	ANEXO 3 (Encuesta)	55
	ANEXO 4 (papeleta de pedido para Biología Molecular y Citopatología)	60
	ANEXO 5 (Mapas de los cantones estudiados con su respectiva aleatorización).....	61
	ANEXO 6 (Fotografías del proceso de ubicación n de pacientes, recolección y procesamiento de las muestras).	63



Yo **Fabiola Mercedes Calle Vintimilla**, autora de la tesis “**Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay 2013 - 2014**”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Licenciada en Laboratorio Clínico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 18 de Diciembre del 2014

Fabiola Mercedes Calle Vintimilla

C.I: 0302401054



Yo **Viviana Fabiola Gualpa Gómez**, autora de la tesis **“Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay 2013 - 2014”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Licenciada en Laboratorio Clínico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 18 de Diciembre del 2014

Viviana Fabiola Gualpa Gómez

C.I: 0104823067



Yo **Sandra Marisol Reinoso Ortiz**, autora de la tesis **“Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay 2013 - 2014”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Licenciada en Laboratorio Clínico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 18 de Diciembre del 2014

Sandra Marisol Reinoso Ortiz

C.I: 0105262026



DEDICATORIA

A Dios por hacerme protagonista de este sueño, por mantenerme en el rumbo y cumplir mi objetivo; a mis padres: Alfonso y Oliva, por ser mi soporte y la razón de mi existir; a mis hermanas: Lorena y María, compañeras de soledades y penas, de alegrías y travesuras; a mis hermanos y familia: por darme aliento y esperanza; por creer en mí y en mi capacidad; a mis amigas Sandra y Viviana por soportarnos y ayudarnos en la realización de este trabajo; a Ti, Woody mi fiel acompañante, que me esperabas y cuidabas como un guardián y descomponías mi desierto hogar con tus juegos; sobre todo a ustedes: Alfonso y Oliva; que se marcharon, caminaron lejos y entregaron sus vidas para verme crecer.

Fabiola Mercedes Calle Vintimilla



DEDICATORIA

A Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza y brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Para mis padres Elvia y Gerardo a quienes amo infinitamente y que a pesar de la distancia, me han dado su apoyo, consejos y amor en todo momento, por confiar en mí y haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida.

A mis hermanos Javier y Allison que siempre me han brindado su sonrisa y cariño; a mi Abuelita, quien me ha ayudado a ser quien soy hoy y por enseñarme el camino de la vida, gracias por llevarme siempre en tus oraciones.

Viviana Fabiola Guallpa Gómez



DEDICATORIA

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios, que es mi inspiración y me ha permitido llegar hasta esta etapa de mi vida.

A mis padres, que creyeron en mí y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, y porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo ir hasta el final. Va por ustedes, por lo que valen, porque admiro su fortaleza y por lo que han hecho de mí.

A mis hermanitas que alegran mi vida y que las amo infinitamente y al amor sincero que ha estado acompañándome durante toda este tiempo Danilo.

Sandra Marisol Reinoso Ortiz



AGRADECIMIENTO

Queremos agradecer en primer lugar a Dios por darnos la sabiduría y fortaleza para llegar a este punto de nuestra formación profesional.

A nuestros padres por su amor incondicional y ser nuestros pilares fundamentales en todo momento.

Nuestro más sincero agradecimiento a nuestro Director de Tesis: Dr. José Cabrera Vicuña por su dedicación, interés, tiempo y apoyo incondicional en la investigación que por su asesoría logramos culminarla.

A las Casas de Salud, ginecólogo/as y pacientes de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg, a los profesionales del laboratorio de Biología Molecular y Citología de la Facultad de Ciencias Médicas por su colaboración y acogida durante el desarrollo de la investigación.

Fabiola, Viviana y Sandra.



1. INTRODUCCION

El estudio de la prevalencia de los genotipos del Virus del Papiloma Humano en muestras cérvico-uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay nace de la importancia de conocer cuáles son los genotipos de alto y bajo grado oncogénico más frecuentes utilizando el método de la PCR en Tiempo Real y relacionar con las lesiones intraepiteliales detectadas mediante el estudio citopatológico de Papanicolaou.

La mayor parte de las mujeres deben mostrar preocupación sobre la posibilidad de adquirir el VPH, ya que es el virus de transmisión sexual más frecuente y se lo considera como el agente causal del carcinoma cérvico-uterino. En el Ecuador la prevalecía del cáncer de cuello uterino se ha mantenido sin una reducción significativa durante los últimos 20 años. Según el INEC en el año 2008 se detectaron a nivel nacional 304 casos de muerte por cáncer de cuello uterino (INEC 2008).

Se conocen 2 tipos de vacunas contra la infección de VPH en la actualidad, pero es necesario que ante una infección prevalente y causante de una de las principales causas de muerte por cáncer en la mujer, se siga realizando constantes investigaciones ya que la vacuna solo se limita a actuar sobre ciertos genotipos que no siempre van a ser los de más alta incidencia ya que estos pueden variar según la población y las diferentes áreas geográficas (Ramírez 2014).

El presente estudio es parte de una línea de investigación que la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca y el Ministerio de Salud Pública se encuentran impulsando para determinar la prevalencia de los genotipos de VPH en mujeres de 17 a 50 años de edad que residen en los cantones de la provincia del Azuay.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

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

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

El cáncer cervical es un problema sanitario relevante en los países subdesarrollados. En el mundo se presentan cerca de 500.000 nuevos casos de cáncer cervical, con una tasa de incidencia de 44,2 por 100.000 mujeres. El 80% de estos casos se encuentran en África, América Central, y América del Sur, donde los sistemas de salud siguen siendo ineficientes y/o ineficaces. Anualmente en el mundo mueren 231.000 mujeres a causa del cáncer cérvico uterino que es el segundo en frecuencia en la población femenina a nivel mundial (Deluca 2007).

En el “Quinto Informe de Incidencia de Cáncer en el Cantón Cuenca” de SOLCA, publicado en diciembre del 2007, se expresa que considerando todos los cánceres femeninos la incidencia, en el cantón Cuenca, del cáncer de cuello uterino in situ es del 3,9 % y del cáncer invasor es del 17,5 % lo que al totalizar el 21,4 % constituye la primera causa de cáncer en el cantón (SOLCA 2007).

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

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



3. JUSTIFICACIÓN

Se sabe que el cáncer de cuello uterino, producido principalmente por el VPH, es un problema de salud que compromete la vida de las mujeres debido a que se aloja en la célula y ahí permanece en forma latente durante un período de tiempo, dependiendo del sistema inmunológico de la persona infectada.

Este estudio fue parte de una línea de investigación que estudió la prevalencia de los genotipos del Papiloma Virus Humano de las mujeres que residen en los catorce cantones de la provincia del Azuay, fue importante investigar sobre el tema para coadyuvar en la solución del problema oncológico disminuyendo la alta incidencia y prevalencia del cáncer cérvico uterino para, conociendo la distribución de los genotipos de alto grado oncogénico, instaurar las acciones preventivas, el diagnóstico y tratamiento oportunos para disminuir la alta morbilidad y mortalidad por cáncer cérvico uterino.

Además la Universidad de Cuenca está cumpliendo con una de sus funciones como es la investigación, en donde profesores y estudiantes que participaron en la misma contribuirán a mejorar la docencia, la investigación y la difusión; ya que nunca antes se ha realizado una investigación de este tipo.

Los resultados obtenidos en estos tres cantones, más los que se obtuvieron de todos los demás cantones, servirán para que las instituciones de salud pertinentes, elaboren las normas específicas de prevención, diagnóstico y tratamiento oportunos del cáncer cérvico uterino y de las lesiones benignas causadas por los diferentes genotipos del papiloma virus humano, colaborando en la solución de este grave problema de salud pública, generado por el papiloma virus y los factores predisponentes de nuestra población femenina cantonal. Los resultados obtenidos en esta investigación permitirán generalizar los mismos a todas las mujeres que habitan en los cantones mencionados.



4. FUNDAMENTO TEORICO

4.1. El Virus del Papiloma Humano

Datos históricos

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

Tipos de VPH

Los virus de papiloma humano se dividen en dos grandes grupos dependiendo en relación a su patogenia oncológica o lesiones cancerígenas: alto y bajo riesgo (INCan 2009).

Virus Papiloma Humano de Bajo Riesgo

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

Virus Papiloma Humano de Alto Riesgo

Son los que se encuentran con mayor frecuencia asociados en los casos de cáncer de cuello uterino, se incluyen el VPH 16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58. De estos tipos el VPH 16 y el 18 son, sin duda, los más importantes dado que se encuentran con más frecuencia vinculados al cáncer cérvico-uterino (Concha 2007). El VPH 16 es el tipo que aparece, fundamentalmente en los tumores invasivos y en los de alto grado de malignidad; el VPH 18 se relaciona con el carcinoma pobremente diferenciado y con un mayor compromiso de los ganglios linfáticos (León 2005).

Estructura del VPH

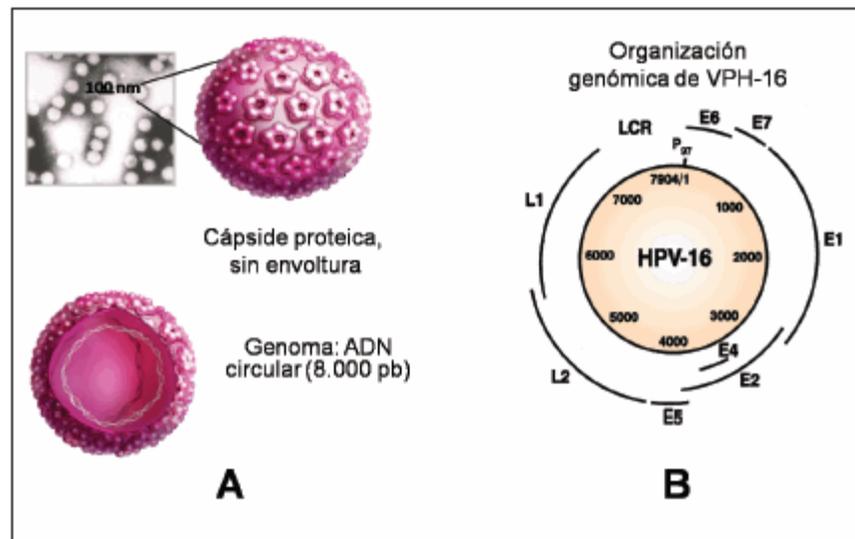
Los VPH son partículas icosaédricas sin envoltura, con un diámetro aproximado de 55nm, que contienen un genoma de ADN de doble cadena, circular, covalentemente cerrado, de 7.500 a 8.000 pares de bases y se completa con histonas celulares (Mandato 2003).

El genoma del VPH, lo conforman dos tipos de genes, los que son codificados en las etapas tempranas de la infección, conocidos como genes E, y aquellos que son codificados durante las etapas tardías del ciclo de replicación del mismo, conocidos como L.

Se conocen seis genes tempranos: E1, E2, E4, E5, E6 y E7 y dos tardíos: L1 y L2. Los genes tempranos codifican proteínas involucradas en la replicación y regulación viral y en su capacidad carcinogénica. Los genes tardíos codifican las proteínas estructurales que conforman la cápside viral (Sanabria 2004).

Grafico N°1

Estructura del Virus del Papiloma Humano



Fuente: Picconi 2013

4.2. El VPH y el Cáncer

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

Aunque las infecciones por VPH son muy comunes, casi todas aparecen sin síntomas y desaparecen sin tratamiento alguno en el transcurso de unos pocos años. Las infecciones persistentes por VPH de alto riesgo pueden causar anomalías en las células. Si no se tratan las zonas que tienen anomalías celulares, las cuales se llaman lesiones, pueden algunas veces convertirse en cáncer cérvico uterino que implica la progresión gradual de una serie de etapas secuenciales en que las células del cérvix presentan ciertas anomalías histológicas conocidas como Neoplasia Intraepitelial Cervical, NIC I (displasia leve), NIC II (displasia moderada), NIC III (displasia severa/carcinoma in situ) y finalmente un cáncer



invasor. Como regla general, en cuanto más graves sean los cambios celulares anormales, mayor será el riesgo de padecer cáncer (Clifford 2006).

Algunos tipos de VPH de bajo riesgo de transmisión sexual pueden causar que aparezcan verrugas alrededor de los genitales o del ano. La mayoría de las verrugas genitales (conocidas técnicamente como condilomas acuminados) son causadas por dos tipos de virus del papiloma humano, el VPH 6 y el VPH 11. Las verrugas pueden aparecer varias semanas después del contacto sexual con una persona infectada por VPH, o es posible que se tarden varios meses o años en aparecer; o puede ser que nunca aparezcan.

Las infecciones persistentes por VPH se consideran ahora como la causa prácticamente de todos los casos de cáncer cervical. El cáncer cervical es diagnosticado en cerca de medio millón de mujeres cada año en el mundo, y cobra 250.000 vidas anualmente.

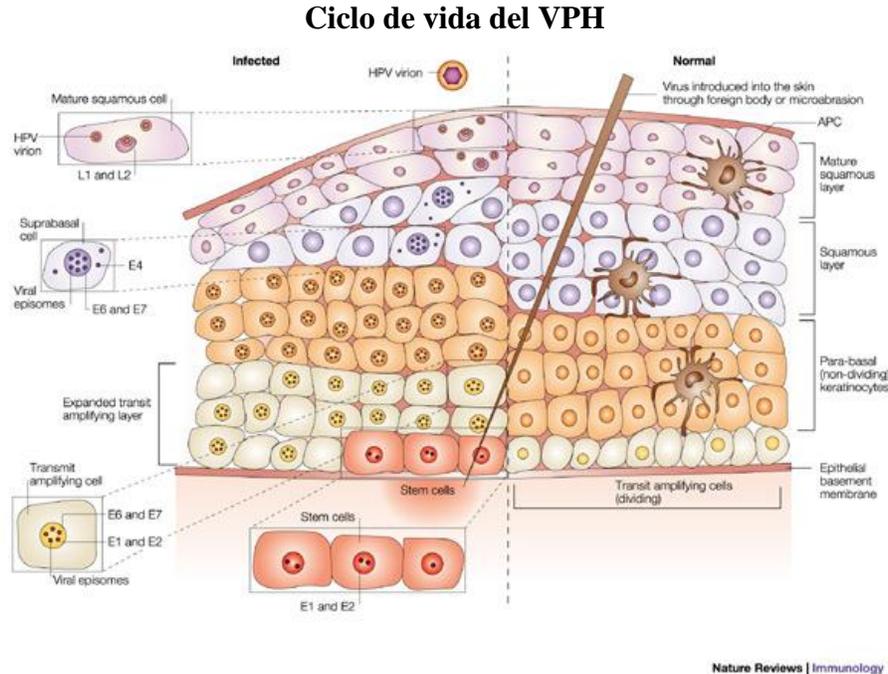
Se ha calculado que la infección por VPH representa aproximadamente 5% de todos los cánceres en el mundo.

Además, el hecho que una mujer infectada por VPH padezca cáncer cervical parece depender de una variedad de factores (edad, inicio a temprana edad de relaciones sexuales, ETS, tabaquismo, multiparidad, inmunodepresión o toma de anticonceptivos orales) que actúan juntos con las infecciones por los tipos de VPH de alto riesgo (Schiffman 2007).

4.3. Ciclo de vida de VPH

El ciclo de vida del VPH está ligado al programa de diferenciación de la célula huésped infectada, el queratinocito, pero la expresión de altos niveles de proteínas virales y el ensamblaje viral ocurren exclusivamente en las capas superiores, es decir, en el estrato espinoso y en el epitelio granuloso del epitelio escamoso. Las células en la capa basal consisten en células troncales y células en tránsito que se están dividiendo continuamente y proveen un reservorio de células para las regiones suprabasales. La infección de estas células por el VPH conduce a la activación de la expresión en cascada de los genes virales que provoca la producción de aproximadamente 20 a 100 copias extra-cromosómicas del ADN viral por célula. Este promedio de número de copias es establemente mantenido en las células basales indiferenciadas a través del curso de la infección.

Grafico N° 2



Fuente: Frazer 2004

La integración viral es más común que ocurra en las células que contienen este número de episomas. En los episomas, la expresión de genes virales es mínima y en particular, la expresión de los oncogenes E6 y E7 está bajo un control muy estricto, y sus proteínas son discretamente detectables. Cuando el queratinocito infectado entra al compartimento de diferenciación, sale del ciclo celular, hay una regulación positiva de la expresión de los genes virales, ocurre la replicación del ADN viral y entonces el número de copias virales aumenta al menos a 1000 copias/célula, y se observa abundante expresión de los genes tempranos E6 y E7 y de los genes tardíos. Las infecciones genitales por el VPH son transmitidas principalmente por contacto sexual, se considera que a través de microabrasiones del epitelio que expone a la infección viral a las células de la capa basal (Alazawi 2012).

4.4. Factores de riesgo

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

1) Factores del hospedero: comportamiento sexual (uso de preservativo, número de parejas sexuales, inicio de la vida sexual) y la paridad, el status hormonal, factores genéticos y otros relacionados con la respuesta inmunitaria de la paciente.



2) Factores medio-ambientales o exógenos: uso de contraceptivos orales, tabaquismo, dieta, trauma cervical, y coinfecciones con el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y otros agentes de transmisión sexual.

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

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

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

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

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

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

Los factores hormonales pueden actuar como cofactores ya que los anticonceptivos hormonales pueden provocar un aumento en la incidencia de ectropión cérvico uterino, lo cual va a favorecer a una mayor exposición de la unión escamo-columnar a potenciales agentes carcinogénicos. El estrógeno y la progesterona también podrían afectar directamente las células cérvico-uterino, aumentando la proliferación celular y estimulando



la actividad transcripcional (transactivación) de los oncogenes E6 y E7 del VPH (Solís 2010).

El papel del hombre en la transmisión de la infección se atribuye al semen ya que al producirse la eyaculación dentro de la vagina, los espermatozoides ascienden a través del canal endocervical y una elevada cantidad de ellos se deposita en los pliegues mucosos de las glándulas cervicales cercanas a la unión escamocolumnar, lugar donde se desarrolla el mayor número de neoplasias. Además, el plasma seminal contiene componentes inmunosupresores que afectan las funciones de diferentes células del sistema inmune y este efecto local puede constituir un factor que contribuya al desarrollo de neoplasias (Rodríguez 2014).

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

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

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

4.5. Vacunas para VPH

Actualmente en el mercado existen dos tipos de vacunas:

a. Vacuna bivalente VPH 16 y 18 o Cervarix: Sintetizada por un sistema de expresión celular de un baculovirus, combinado con un compuesto de aluminio más lípido A monofosforilado, que permite protección e inducción de altos y prolongados títulos de anticuerpos, además de un aumento de la inmunidad mediada por células.

b. Vacuna tetravalente VPH 6, 11, 16 y 18 o Gardasil: Preparada mediante una proteína recombinante sintetizada en levaduras, administrada también con un compuesto aluminico convencional.



La vacuna para el VPH se administra inicialmente en tres dosis intramusculares a las adolescentes de 12 años, requiriendo dosis de refuerzo a los 10 ó 20 años, según protocolos. El efecto protector se prolonga más allá de diez años de la dosis de refuerzo. La mayoría de los efectos secundarios son de intensidad leve o moderada. El más frecuente es la reacción en el lugar de inyección, que cursa con dolor, tumefacción y enrojecimiento; pero el síntoma sistémico más común es la cefalea (Muñoz 2006).

4.6. Datos epidemiológicos

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

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

La prevalencia de la infección por VPH en mujeres chilenas (14,0%) es similar a la descrita en otros países de América Latina; en México, 14,5%; Costa Rica, 16,0%; y Colombia, 14,8%, pero más alta que en muchas partes de Europa (2,12%) y Asia (13, 14%) (Ferreccio 2003). En el Hospital Clínico Regional Valdivia de las 108 muestras cervicales analizadas, el 24% (26/108) fue positiva para infección por VPH y el 76% (82/108) negativas, según la técnica de PCR con los partidores MY09/11 utilizada en el estudio. Ello permitió estimar una prevalencia de infección por VPH de 24% (26/108) en las mujeres con citología ASCUS. (Ott 2004).

La mayor parte del VPH de alto riesgo oncogénico se encuentra en África y América latina por los genotipos 16, 18, 31, 33, 35,45, 51, 52, 58, 59. El VPH 16 es el más frecuente en el mundo, excepto Argelia e Indonesia donde el VPH 18 es el más frecuente. El VPH 45 tiene alta incidencia en África Occidental. Los tipo 33, 39 y 59 se encuentran con mayor frecuencia en Centro América y Sudamérica (Esquivias 2009).

A medida que la vacunación esté más disponible, la tamización para el cáncer de cuello uterino debe reformularse para permitir un sinergismo máximo entre citología y detección de anticuerpos ADN contra el virus del papiloma humano. La utilización masiva de la vacunación depende de las políticas de salud pública destinadas a la creación de programas que contemplen su uso en la población en riesgo (Castell 2009).

En el Ecuador la prevalecía del cáncer de cuello uterino se ha mantenido sin una reducción significativa durante los últimos 20 años. Según el INEC en el año 2008 se detectaron a nivel nacional 304 casos de muerte por cáncer de cuello uterino. Durante el año 2008 se



detectaron 1224 nuevos casos de cáncer de cuello uterino, y desde el año 2005 la incidencia aumentó en un 60%.

Un estudio realizado en Ecuador, en 250 mujeres, identificó VPH 16 y 18 en coinfección en lesiones intraepiteliales de alto grado; se identificó al VPH 16 en lesiones de bajo grado; este estudio concluye que la PCR tiene el potencial para proporcionar información epidemiológica importante en muchas zonas de escasos recursos de los países en desarrollo (Cecchini 2001).

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

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

Los genotipos de alto riesgo más comunes fueron 16 y 31; 6 de bajo riesgo y 41 y el tercero más común de VPH, grupo detectado en esta cohorte, fue VPH 66. VPH 6 mostró la mayor prevalencia. VPH 66 se asoció con citología atípica y fue encontrado en las mujeres con citología limítrofe, lesiones de baja y alta calidad, pero fue más frecuente en el grupo de umbral. Se examinó un caso de coexistencia de 2 genotipos juntos 51 y 58. Encontraron muy baja prevalencia de VPH18 solo o VPH16 y 18. En 25 muestras, 20.16% (25/124) se encontró presencia de VPH pero no pudieron identificar el genotipo. Se necesita más estudios con una amplia muestra para completar un patrón geográfico de distribución de VPH (González 2009).

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



estudios para determinar si estos resultados son representativos de todas las mujeres ecuatorianas y para determinar si el cáncer cervical en las mujeres ecuatorianas es causado por los mismos tipos de VPH encontrados en las muestras recogidas con los hisopos obtenidas en este estudio (Braz 2009).

En otro estudio realizado en Cuenca-Ecuador (SOLCA) en el 2006, se investigó a 70 pacientes con lesiones de cérvix uterino mediante la técnica de PCR. Los resultados mostraron un 55,71% (39 casos) de casos positivos para DNA viral. El rango de edad estuvo comprendido entre los 39-48 años. De los 39 casos, 22 fueron positivos para DNA viral de alto grado (31.43%); para grado intermedio 13 casos (18.57%); y bajo grado 4 (5.71%). En los de alto grado (31,43%) el tipo 16 fue el de mayor frecuencia. La alta incidencia de VPH de alto riesgo oncogénico sugiere que debe considerarse la determinación del DNA viral como un método complementario en las pacientes con diagnóstico citológico de ASCUS (Picón 2006).

En el Azuay se realizaron 26.253 citologías durante el año 2007, pese al gran volumen, la cobertura, para el año 2009 no alcanza el 10% de la meta esperada en la provincia (INEC 2009).

La Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca realizó una investigación sobre genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico-uterinas de 500 mujeres de la ciudad de Cuenca, obteniéndose los siguientes resultados: prevalencia del VPH 35.9% para los genotipos de alto riesgo, 14.3% para los genotipos de bajo riesgo; 8% ASC-US, 2.6% de lesiones intraepiteliales de bajo grado y 1.0% de lesiones intraepiteliales de alto grado (Cárdenas 2014).



5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Determinar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay. 2013-2014.

5.2. Objetivos Específicos

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



6. METODOLOGÍA

6.1. Tipo y diseño general del estudio:

Epidemiológico observacional de tipo transversal.

6.2. Universo y muestra

Universo: Mujeres en etapa reproductiva que residen en las zonas urbanas de los 14 cantones de la provincia del Azuay 53.102.

Muestra: La representatividad de la muestra está garantizada por cuanto se la obtuvo de manera aleatoria y el tamaño de la muestra es 200 mujeres distribuidas de la siguiente manera:

Gualaceo: 107

Paute: 62

Chordeleg: 31

TOTAL: 200

Forma del cálculo de la muestra:

Determinacion Del Tamaño De La Muestra Considerado El Universo Finito

Fórmula del Cálculo

$$n = \frac{Z^2 * N * p * q}{e^2 * (N-1) + (Z^2 * p * q)}$$

Donde:

Z= Nivel de confianza (Correspondiente con tabla de valores de Z).

p= Porcentaje de la población que tiene el atributo deseado.

q= Porcentaje de la población que no tiene el atributo deseado= 1-p.

Nota: Cuando no hay indicación de la población que posee o no el atributo, se asume 50% para p y 50% para q.

N= Tamaño del universo (Se conoce puesto que es finito).

e= Error de estimación máximo aceptado.

n= Tamaño de la muestra.

Ingreso de Datos

Z=	2.98
p=	10%
q=	90%
N=	53.102
e=	4%



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

Prevalencia: 10%

Confianza: 99%

Precisión absoluta 4%

La muestra total de la línea de investigación es de 500 mujeres para los 14 cantones.

Tamaño De Muestra:

Para los 14 cantones $494,88 = 500$

Para los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg: 200

Este estudio es parte de una línea de investigación que fue financiada por la Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca (DIUC), realizada por docentes investigadores y estudiantes de la Facultad de Ciencias Médicas de dicha Universidad, realizada en los 14 cantones de la provincia del Azuay.

6.3. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión.

- Mujeres que fueron designadas por aleatorización, que residían en los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay.
- Con edades comprendidas entre los 17 a 50 años.
- Que ya hayan tenido relaciones sexuales.
- De cualquier condición social.
- Que expresaron su deseo de participar en la investigación y que firmaron reflexivamente el consentimiento informado.

Criterios de exclusión.

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

6.4. Variables del estudio:

- Variable dependiente: genotipo
- Variables independientes: de persona, lesiones cervicales y factores de riesgo

6.5. Operacionalización de las variables (ANEXO 1)

6.6. Métodos, técnicas y procedimientos

Este estudio se realizó aplicando el siguiente protocolo:



- Aleatorización de los cantones.
- Ubicación en el mapa (Cantón, parroquia, sector, manzana, domicilio)
- Sondeo de las pacientes de acuerdo a las manzanas seleccionadas
- Entrevista, firma del consentimiento informado y entrega de turnos.
- Llamada telefónica previa cita médica
- Encuesta y toma de muestra.
- Traslado de las muestras al laboratorio.
- Procesamiento de las muestras.
- Entrega de resultados.

Selección de las mujeres

La población estudiada representa una muestra probabilística, estratificada considerando los sectores que conforman el área urbana de los mencionados cantones, obtenida de manera aleatoria entre las mujeres de 17 a 50 años de edad, con vida sexual activa que habitan en la zona urbana. Se aleatorizaron los sectores, manzanas y viviendas de la zona urbana de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay en el que residían.

Procedimientos y Técnicas

Toma de la muestra cérvico-uterina

Para la toma de la muestra endo y exocervical, el médico ginecólogo utilizó la siguiente técnica:

1. Aplicación de un espéculo vaginal estéril para visualizar el cuello uterino. Se retiró el exceso de mucosidad del orificio externo del cuello uterino y de los alrededores del exocérvix con una torunda de algodón. Se desechó la torunda que sirvió para la limpieza.
2. Se introdujo el cepillo (citobrush) en el endocérvix entre 1 y 1,5 cm desde el orificio externo del cuello uterino hasta que las cerdas exteriores del cepillo toquen el exocérvix. Se hizo girar el cepillo tres veces por completo en sentido contrario a las agujas del reloj. No se introdujo completamente el cepillo en el canal cervical. Terminado el procedimiento se retiró el cepillo del canal cervical y se introdujo en el tubo o cilindro de transporte de la muestra, evitando que las cerdas toquen la parte exterior del tubo o cualquier otro objeto.
3. Se introdujo la punta del cepillo en el fondo del tubo de transporte. Se partió el bastoncillo en la marca del borde, dejando el cepillo dentro del tubo. Se colocó la tapa en el tubo, ajustándola hasta que se escuche un chasquido.
4. Para el examen citopatológico se tomó una muestra con la espátula de Ayre y citobrush que se extendió en una placa que fue fijada para su preservación.



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

Estudio Citopatológico (Papanicolaou)

Su propósito principal es detectar células anormales que pueden convertirse en cáncer si no son tratadas. La prueba de Papanicolaou puede también encontrar estados no cancerosos, como infecciones e inflamación y células cancerosas.

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

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

Informe de una citología Cérvico-uterino: Sistema Bethesda

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

El Sistema Bethesda se divide en las siguientes secciones:

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

Categorización general:

- 1. Negativa para lesión intraepitelial o malignidad.*
- 2. Anormalidad en las células*
- 3. Otros.*

1. - Negativa para lesión o malignidad, se debe reportar: Debe especificarse el tipo de lesión identificada. Estas son:

a. Microorganismos:



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

b. Otros hallazgos no neoplásicos:

Cambios celulares reactivos asociados:

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

2. - Anormalidades en las células:

Debe especificarse el tipo de lesión identificada. Éstas son:

a. Células escamosas atípicas (ASC):

Células escamosas atípicas de significado indeterminado (ASC-US).

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

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

Extracción del ADN

Para la extracción de ADN total de cada una de las muestras se utilizó el kit de preparación High Pure Template (Roche, Alemania) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Para esto cada uno de los eppendorf que contenga la muestra, ya sin el cepillo citobrush, se centrifugó por 1 minuto a 13000 revoluciones para precipitar la muestra al fondo del eppendorf y eliminar el PBS.

A las muestras ya sin PBS, se les adicionó 200 µl de Buffer de Lisis de Tejido más 40 µl de proteinasa K; las muestras fueron homogenizadas en vortex e incubadas a 55 °C por una hora en un thermomixer. Luego de este período a cada tubo eppendorf que contiene la muestra ya lisada, se le añadió 200 µl de Binding buffer y se homogenizó por 15 seg en vortex, para luego ser incubados a 70 °C por 10 minutos en una incubadora de rotación. Posterior al tiempo de incubación, a cada una de las muestras se les añadió 100 µl de isopropanol y se las homogenizó en el vortex.



La solución fue procesada utilizando columnas de elusión. Para esto, se transfirió todo el volumen de solución al filtro de la primera columna, la misma que fue centrifugada a 9300rpm en una centrífuga de temperatura a 25 °C. La columna con el sobrenadante fue desechada y el filtro se colocó en la siguiente columna, al mismo que se le añadió 500 µl de Inhibidor removal buffer; y se lo centrifugó nuevamente a 9300 rpm en la centrífuga a temperatura de 25 °C.

Se desechó la columna con el sobrenadante, colocando al filtro en una nueva columna, al mismo que se le añadió 500 µl de Buffer de lavado y se lo centrifugó tal como los pasos anteriores. Se realizaron dos lavados del filtro, posterior a esto solamente se colocó el filtro en un tubo eppendorf de 1,5 ml, mientras que la columna fue desechada.

Se añadió 200 µl de Buffer de elusión (previamente calentado a 70 °C por 5 minutos) a cada uno de los filtros y se los centrifugó junto con el tubo eppendorf a 9300 rpm. Al final se desechó el filtro y en el eppendorf nos queda 200 µl de ADN en suspensión.

PCR Real Time TOCE (Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension)

HPV28AnyplexTMII es un ensayo in vitro cualitativo para la detección de los virus del papiloma en citología de base líquida y muestras de frotis cervicales. La detección de HPV28AnyplexTMII consta de dos reacciones de PCR (set A y set B). Es un ensayo múltiple que permite la amplificación simultánea de ADN del virus del papiloma humano de alto riesgo y bajo riesgo.

Sets	Genotipos
A	14 tipos de Alto Riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).
B	5 tipos de Alto Riesgo (26, 53, 69, 73, 82). 9 tipos de Bajo Riesgo (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70).

La detección es un ensayo de PCR multiplex en tiempo real que permite la amplificación simultánea, detección y diferenciación de ácidos nucleicos de 19 tipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82) y 9 tipos de bajo riesgo del VPH (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70), así como de control interno (CI).

Preparación para la PCR en tiempo real

- Deben utilizarse tubos y tapas correctas.
- Usar guantes de nitrilo ajustados para evitar contaminación.
Descongelar los reactivos.
Centrifugar los tubos de reactivos para retirar las gotas de la tapa.
- Calcular la cantidad necesaria de cada reactivo de acuerdo al número de las reacciones (muestras y controles).
Utilizar puntas estériles con filtro para cada muestra.

- Para el control negativo, utilizar 5ul de agua libre de RNasa.
Para el control positivo, utilizar 5ul de cada mix de VPH28PC1, PC2 y PC3.
- No marcarla tapa de los tubos de reacción ya que la fluorescencia se detecta a través de la misma.
 - Para evitarlas burbujas de aire, se mezclan todos los reactivos con cuidado.

Preparación de PCR Mastermix para diferente número de reacciones.

5 ul	4XHP28 A TOM or B TOM
5 ul	4X Anyplex PCR Master Mix (con UDG)
5 ul	Agua libre de RNasa
5 ul	ADN
20 ul	Total volume of PCR reaction

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

- Pre-configuración de Análisis de Datos:
 1. Crear carpeta especificada para guardar los datos.
 2. Exportar todos los datos de las hojas de datos a Excel desde el menú Herramientas.
 3. Guardar el resultado en la carpeta designada "1".
 4. Abra el programa Seegene Viewer en la pantalla.
 5. Clic en Abrir para encontrar el archivo guardado en la carpeta designada "1".
 6. Aplicación de Seegene Visor Arrastre los pocillos de muestra.
 7. Clic en la columna de menú y seleccione Anyplex™ II Detección de HPV28.
 8. Clic en Aplicar.
 9. Compruebe el resultado para cada pozo.

Grafico N° 3

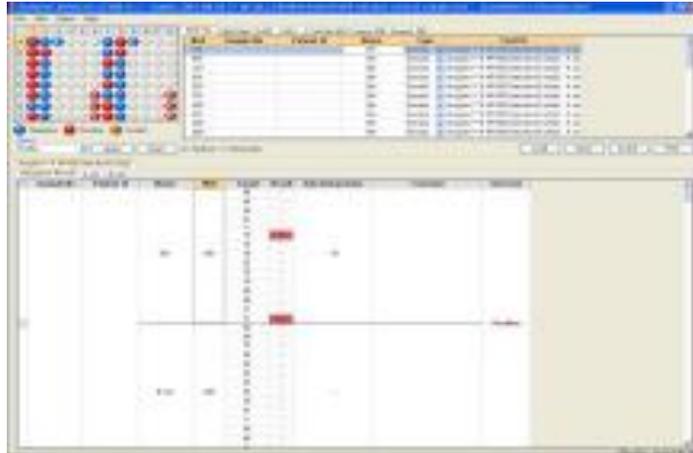
Resultado de pico de fusión



Fuente: *Seegene Anyplex™ II HPV28 Detection.2014*

Grafico N° 4

Resultado de la prueba CFX96TM en Seegene Visor.



Fuente: *Seegene AnyplexTM II HPV28 Detection.2014*

6.7. Análisis estadístico

Los datos registrados en el formulario de recolección de la información y el resultado de los dos exámenes de laboratorio, de cada mujer investigada, fueron introducidos en el programa estadístico SPSS versión 22, se dispuso para ello de la colaboración de un médico con especialización en bioestadística. El modelo estadístico que se utilizó corresponde al de los estudios de prevalencia y correlación. Se determinó: frecuencias, porcentajes, media, mediana, moda para determinar la prevalencia del VPH de acuerdo a la edad. Se correlacionaron las frecuencias de los diferentes genotipos del VPH con los genotipos de las dos vacunas existentes para evitar las infecciones malignas y benignas causadas por el papiloma virus humano: Cervarix (16,18, 31, 45) y Gardasil (6,11, 16,18). Para valorar la relación de los genotipos con los factores de riesgo se utilizó el Odds Ratio (OR) e intervalo de confianza (IC).

6.8. Aspectos éticos

Esta investigación (refiriéndonos al proyecto en su conjunto), se realizó aplicando los principios de la Declaración de Helsinki y a las leyes y reglamentos del país, que confiere mayor protección al individuo. Se consideraron los principios señalados en la Guía para la Buena Práctica Clínica y Lineamiento Tripartita de la ICH.

Para cumplir este propósito se procedió a:



- Recibir el visto bueno del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca para la realización de la investigación.
- Elaborar un texto de Consentimiento Informado para ser avalado por el comité, documento necesario para el ingreso libre y voluntario de la persona que ingresa al estudio. (**ANEXO 2**)
- Los resultados obtenidos fueron utilizados con extrema confidencialidad precautelando los derechos de las pacientes.



7. RESULTADOS

7.1. Tabla N°1

Características demográficas y socioeconómicas de 200 mujeres de tres cantones de la provincia del Azuay, 2013 – 2014.

Cantón de residencia	No	%
Gualaceo	107	53,50
Paute	62	31,00
Chordeleg	31	15,50
Edad		
< 20	2	1,00
20 – 29	57	28,50
30 – 39	69	34,50
40 – 50	72	36,00
Estado civil		
Casada	117	58,50
Soltera	35	17,50
Divorciada	27	13,50
Viuda	1	0,50
Unión libre	20	10,00
Ingreso mensual personal		
< 340	148	74,00
340 – 680	45	22,50
> 680	7	3,50
Ingreso mensual pareja		
< 340	124	62,00
340 – 680	64	32,00
> 680	12	6,00
Educación		
Ninguna	0	0,00
Primaria	71	35,50
Secundaria	87	43,50
Superior	42	21,00

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

El 53.50% de las mujeres que participaron en el estudio residen en el cantón Gualaceo. El 36% corresponden al grupo etario de 40 a 50 años, apenas el 1% fueron menores de 20 años; el 58.50% son casadas; el 62% tiene un promedio de ingreso mensual por pareja de menos de 340\$; el 43.50% tienen una educación secundaria y el 21% superior.

**7.2. Tabla N° 2****Prevalencia del VPH en la población estudiada. Azuay 2013-2014.**

VPH	No	%
Positivo	53	26,50
Negativo	147	73,50
Total	200	100

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La prevalencia del VPH fue del 26,50% en la población estudiada

7.3. Tabla N°3**Prevalencia del VPH de alto y bajo riesgo en la población estudiada. Azuay 2013-2014**

VPH	N°	%
Alto Riesgo	45	22,5
Bajo Riesgo	8	4,0
Total	53	26,5

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La prevalencia del VPH de alto riesgo fue del 22,5% y del VPH de bajo riesgo el 4%

7.4. Tabla N° 4**Prevalencia del VPH en los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la Provincia del Azuay 2013-2014.**

CANTÓN	VPH				TOTAL	%
	NEGATIVO	%	POSITIVO	%		
CHORDELEG	24	77,4	7	22,6	31	100
GUALACEO	72	67,3	35	32,7	107	100
PAUTE	51	82,3	11	17,7	62	100

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La prevalencia de casos positivos para VPH es la siguiente: mujeres de Chordeleg el 22,6%, de Gualaceo 32,7% y de Paute el 17,7%.

**7.5. Tabla N°5**

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

TIPO DE LESIÓN	VPH						Total	
	Alto riesgo		Bajo Riesgo		Negativo		N°	%
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
INFLAMATORIA	29	21,6	5	3,7	100	74,6	134	100
VAGINOSIS	8	26,7	2	6,7	20	66,7	30	100
METAPLASIA	2	33,3	0	0,0	4	66,7	6	100
LIEAG – LIEBG	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	100
ASCUS	1	7,7	1	7,7	11	84,6	13	100
OTROS	5	29,4	0	0,0	12	70,6	17	100

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La presencia de VPH de alto riesgo se encuentra en el 33,3% de las lesiones metaplásicas, en el 26,7% en las vaginosis y en el 21,6% de las inflamaciones.

7.6. Tabla N° 6

Prevalencia de genotipos de VPH de alto riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Genotipo de VPH	N°	%
16	5	7,94
18	2	3,17
26	0	0,00
31	6	9,52
33	5	7,94
35	0	0,00
39	0	0,00
45	0	0,00
51	6	9,52
52	2	3,17
53	0	0,00
56	3	4,76
58	2	3,17
59	3	4,76
66	8	12,70
68	7	11,11
69	0	0,00
73	0	0,00
82	0	0,00

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores



De los genotipos de alto riesgo, el 66 es el de mayor prevalencia con el 12,70%, seguido por el 68 con un 11,11%, el 31 y 51 cada uno con el 9,52% y los genotipos 16 y 33 cada uno con el 7,94%.

7.7. Tabla N° 7.

Prevalencia de genotipos de VPH de bajo riesgo en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Genotipo de VPH	N°	%
6	2	3,17
11	0	0,00
40	0	0,00
42	3	4,76
43	0	0,00
44	1	1,59
54	3	4,76
61	4	6,35
70	1	1,59

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

De los genotipos de bajo riesgo el 61 es de mayor prevalencia con el 6,35%, seguido por el 54 y 42 cada uno con el 4,76% y el genotipo 6 con el 3,17 %.

7.8. Tabla N° 8

Prevalencia de VPH por grupos de edad, en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

VPH	GRUPOS DE EDAD								TOTAL	
	< 20		20 - 29		30 - 39		> 40			
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Positivo	1	1,9	21	39,6	17	32,1	14	26,4	53	100
Negativo	1	0,7	43	29,3	55	37,4	48	32,7	147	100

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La prevalencia de VPH positivos por grupo de edad es: 39,6% de 20 a 29 años, 32,1% de 30 a 39 años y 26,4% en mayores de 40 años.



7.9. Tabla N°9

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

Grupos de edad Genotipo VPH	<20		20 – 29		30 – 39		40 y más		Total	
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%
16	0	0,00	2	2,99	2	2,82	1	1,47	5	2,43
18	0	0,00	0	0,00	1	1,41	1	1,47	2	0,97
26	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
31	0	0,00	6	8,96	0	0,00	0	0,00	6	2,91
33	0	0,00	1	1,49	4	5,63	0	0,00	5	2,43
35	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
39	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
45	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
51	1	50,00	3	4,48	0	0,00	2	2,94	5	2,43
52	0	0,00	2	2,99	0	0,00	0	0,00	2	0,97
53	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
56	0	0,00	1	1,49	2	2,82	0	0,00	3	1,46
58	0	0,00	0	0,00	1	1,41	1	1,47	2	0,97
59	0	0,00	2	2,99	1	1,41	0	0,00	3	1,46
66	0	0,00	5	7,46	2	2,82	1	1,47	8	3,88
68	0	0,00	1	1,49	2	2,82	4	5,88	7	3,40
69	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
73	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
82	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
6*	0	0,00	1	1,49	0	0,00	1	1,47	2	0,97
11*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
40*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
42*	0	0,00	2	2,99	0	0,00	0	0,00	2	0,97
43*	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
44*	0	0,00	1	1,49	0	0,00	0	0,00	1	0,49
54*	0	0,00	1	1,49	1	1,41	0	0,00	2	0,97
61*	0	0,00	1	1,49	2	2,82	1	1,47	4	1,94
70*	0	0,00	1	1,49	0	0,00	0	0,00	1	0,49
Ninguno	1	50,00	37	55,22	53	74,65	56	82,35	147	71,36
Total	2	100	67	100	71	100	68	100	200	100

*Genotipos de bajo riesgo oncogénico.

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores

La mayor prevalencia de los genotipos de VPH por grupo de edad es la siguiente: el genotipo 31 con el 8,96% y el 66 con el 7,46% en el grupo de 20 a 29 años, el 33 con el 5,63% en el grupo de 30 a 39 años y el 68 con el 5,88% en el grupo de más de 40 años.

**7.10. Tabla N°10**

Factores de riesgo asociados con VPH en mujeres con vida sexual activa de los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg de la provincia del Azuay 2013 – 2014.

Factores de riesgo	Con VPH		Sin VPH		OR	IC 95%	
	No	%	No	%			
Edad de primera relación sexual							
< 20	43	26,9	117	73,1	0,90	0,40	2,01
20 – 25	10	26,3	28	73,7	1,01	0,45	2,25
> 25	0	0,00	2	100,00			
Años de vida sexual							
< 5	10	38,5	16	61,5	0,52	0,22	1,24
5 – 10	28	25,0	84	75,0	1,19	0,63	2,23
> 10	15	24,2	47	75,8	1,19	0,59	2,37
Número de compañeros sexuales							
1	18	15,5	98	84,5	0,25	0,13	0,49
2	21	40,4	31	59,6	2,45	1,24	4,83
3	8	38,1	13	61,9	1,83	0,71	4,70
> 3	6	54,5	5	45,5	3,62	1,05	12,42
Pareja masculina con varias parejas							
Si	34	34,0	66	66,0	2,19	1,14	4,20
No	12	17,4	57	82,6	0,46	0,22	0,95
No sabe	7	22,6	24	77,4	0,77	0,31	1,93
Número de gestas							
0	7	58,3	5	41,7	0,23	0,07	0,76
1	36	26,3	101	73,7	1,03	0,52	2,03
2	9	20,9	34	79,1	1,47	0,65	3,31
3 y más	1	12,5	7	87,5	2,60	0,31	21,64
Anticonceptivos hormonales							
Si	33	23,7	106	76,3	0,63	0,32	1,23
No	20	32,8	41	67,2	1,56	0,8	3,03
Exceso de peso (recordatorio)							
Si	32	29,4	77	70,6	0,72	0,38	1,36
No	21	23,1	70	76,9	1,38	0,73	2,22

Fuente: Base de datos. Elaboración: los autores.

Los factores de riesgo con significación estadística son: Número de compañeros sexuales (OR 3,62; IC 95% 1,05 – 12,42), pareja masculina con varias compañeras sexuales (OR 2,19; IC 95% 1,14 – 4,20).



La mayor cantidad de años de vida sexual, la edad de la primera relación sexual, mayor número de gestaciones si bien constituyen factores de riesgo, pero en la presente investigación no están asociados de manera significativa.

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

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

Las vacunas disponibles en el mercado son: GARDASIL y CERVARIX. La primera sirve para prevenir cáncer producido por 4 tipos de VPH: 6, 11 (de bajo riesgo), y 16, 18 (de alto riesgo) y la segunda, por dos tipos (16 y 18); pero según el presente estudio, no son dichos virus los más frecuentes, así la prevalencia encontrada fue de 7, 94% para el genotipo 16 y 3, 17 % para el genotipo 6 y 18 respectivamente; el 11 no fue detectado en la población estudiada.



8. DISCUSIÓN

En esta investigación participaron mujeres con vida sexual activa, mayores de 17 años de edad, en su mayoría casadas, con bajos ingresos mensuales y nivel educativo medio, que residen en los cantones Gualaceo, Paute y Chordeleg, de la provincia del Azuay. Según la bibliografía revisada, la mayoría de investigaciones realizadas en el Ecuador en su mayoría han sido efectuadas en los hospitales de SOLCA (García 2006; Picón 2006; SOLCA Núcleo de Cuenca 2007), en otros servicios de salud (González 2009), muy pocos estudios se han realizado en mujeres de poblaciones abiertas y de manera aleatorizada (Cárdenas 2014).

La prevalencia del VPH, en nuestro estudio fue de 26,50%, resulta más alto que los resultados reportados en investigaciones realizadas en poblaciones similares de otros países de América Latina como Chile (14%), Colombia (15%), Argentina (17%) y Costa Rica (16%), así como de otros continentes Europa (2,12%) y Asia (13, 14%) (Otth 2004).

Entre los genotipos de VPH de alto riesgo oncogénico que identificamos en las mujeres residentes en los tres cantones están: el 16, 18, 31, 33, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68. Los genotipos de bajo riesgo oncogénico encontrados fueron: el 6, 42, 44, 54, 61 y 70. El orden de prevalencia de los genotipos es el siguiente: el 66 (12,70%), 68 (11,11%), 33 y 51 (9,52%), 16 y 33 (7,94%), 61 (6,35%), 42, 54, 56 y 59 (4,76%), 6, 18, 52 y 58 (3,17%) y el 70 (1,59).

Estos datos difieren con los resultados de otros estudios realizados en el país, posiblemente porque corresponden a otra realidad geográfica y cultural; así tenemos que en el Hospital Metropolitano de la ciudad de Quito, el genotipo más común fue el 6 (8,8%), seguido por el 66 (4,8%) y los tipos 16, 31, 44 que alcanzan el 2,4%; en tanto que los tipos 11, 34, 35, 54, 59, 62 y 67 mostraron un porcentaje equivalente a 1,6% para cada uno, y los tipos restantes mostraron una frecuencia de 0,8%.

En Santa Elena, Guayas-Ecuador, los serotipos más frecuentemente detectados, fueron: 16, 52, 58 y 59, 62, 71, 72 y 83 (Braz 2009). En otro estudio realizado en Ecuador los genotipos más comunes fueron HPV 16 (64,5%) y VPH 81 (29%) seguido por VPH 31, 53, 56 y 58 (Tornesello 2009).

En el estudio realizado, la presencia de VPH de alto riesgo se encuentra en el 33,3% de las lesiones metaplásicas, en el 26,7% en las vaginosis, y en el 21,6% de las inflamaciones.

La Dirección de Investigación de la Universidad de Cuenca realizó una investigación sobre genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico-uterinas de 500 mujeres de la ciudad de Cuenca, obteniéndose los siguientes resultados: prevalencia del VPH 35.9% para los genotipos de alto riesgo, 14.3% para los genotipos de bajo riesgo; 8% ASC-US, 2.6% de lesiones intraepiteliales de bajo grado y 1.0% de lesiones intraepiteliales de alto grado (Cárdenas 2014).



Las vacunas utilizadas por el MSP protegen a las mujeres de los genotipos 6, 11, 16, 18; los resultados de la investigación demuestra que estos genotipos no son los más frecuentes, puesto que la prevalencia del genotipo 16 es apenas del 7, 94% de todos los genotipos y la prevalencia del genotipo 6 y 18 es de 3, 17 %. El genotipo 11 no fue detectado en la población estudiada. Se debería prestar mayor atención a los genotipos de alto riesgo que tienen una mayor prevalencia como son el 66 (12,70%) y el 68 (11,11%).

Con respecto a los factores de riesgo, en la literatura varios autores plantean que se incrementa la probabilidad de infección por VPH cuando las mujeres tienen inicio temprano de las relaciones sexuales (Aguilar 2008), promiscuidad sexual (Oviedo 2004), la multiparidad (Rodríguez 2014), ingesta de anticonceptivos hormonales (Solís 2010), el hábito de fumar y la ingesta de bebidas alcohólicas (Ortiz 2004), el estado nutricional deficiente (Cordero 2008); en la presente investigación, los factores asociados al VPH que tienen una relación estadísticamente significativa fueron: número de compañeros sexuales, número de gestas, pareja masculina con varias parejas sexuales, años de vida sexual, y edad de la primera relación sexual.



9. CONCLUSIONES

1.-Los resultados de la investigación confirman que la infección por el papiloma virus humano es frecuente en las mujeres con vida sexual activa que habitan en los cantones de la provincia del Azuay, puesto que el 26,50% de ese grupo poblacional lo padece.

2.- Llama la atención que los genotipos de alto riesgo son más frecuentes (22,5 %) que los genotipos de bajo riesgo (4%), lo cual debe alertar a las autoridades sanitarias para emprender acciones preventivas y a los investigadores para profundizar las investigaciones en miras a identificar si los genotipos de alto riesgo encontrados son o no los causantes del cáncer cérvico uterino en las mujeres de la provincia.

3.- Los genotipos de bajo riesgo de mayor prevalencia a nivel mundial son el 6 y el 11; en el presente estudio, el genotipo 6 apenas se encuentra en el 3,17% de las mujeres, y el 11 no estuvo presente. Los genotipos de alto riesgo de mayor prevalencia a nivel mundial son el 16 y el 18; en la presente investigación ambos genotipos alcanzan apenas el 11,11%. Son otros los genotipos más frecuentes en nuestro medio, como el 61, 42, 54.

4.-En las mujeres que residen en el cantón Gualaceo se encontró una mayor prevalencia de infección por PVH (32,7%) en comparación con las que habitan en Chordeleg (22,6) y Paute (17,7%), importante para considerar acciones de carácter preventivo.

5.- La prevalencia de los genotipos de alto riesgo es variable en relación con la edad de las mujeres, en las mujeres jóvenes la frecuencia es mayor, y va descendiendo conforme avanza en edad; entre 20-29 años (39%), 30-39 años (33,1%), >de 40 años (26,4%).

6.-La relación entre la infección por VPH con la presencia de otros patógenos de transmisión sexual y con las lesiones epiteliales es evidente ya que se encuentra presente en el 33,30% de metaplasias, 33,14% de las vaginosis, en el 25% de las alteraciones inflamatorias, 7,7% de ASCUS, aunque este último hallazgo no concuerda, se puede determinar que dichos patógenos al destruir la membrana celular, permite el fácil ingreso del VPH al citoplasma y núcleo celular como lo evidencian muchas investigaciones a nivel mundial.

7.-Al relacionar la prevalencia de los genotipos del papiloma virus de alto y bajo grado oncogénico encontrados en las mujeres en estudio, con los genotipos presentes en las dos vacunas, CERVARIX (genotipo 16-18) y GARDASIL (genotipos 6,11,16 y 18) que se encuentra aplicando el MSP en el país, se concluye que las dos vacunas no cubren los genotipos con mayor prevalencia encontrados en la población estudiada, por lo tanto ambas expresan baja protección en esta población; es necesaria una investigación que demuestre si los genotipos de alto riesgo encontrados son los causantes del cáncer cérvico uterino en las mujeres de la provincia.

8.-Los factores de riesgo más importantes con los que está asociada la infección por VPH son los siguientes: número de compañeros sexuales, cuando hay 3 o más compañeros



sexuales se incrementa en tres veces la posibilidad de infectarse por el VPH; la pareja masculina con varias parejas incrementa el doble.

La mayor cantidad de años de vida sexual, la edad de la primera relación sexual, mayor número de gestaciones si bien constituyen factores de riesgo, pero en la presente investigación no están asociados de manera significativa.



10. RECOMENDACIONES

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



11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abba, Mc; Gómez, Ma; Golijow Cd. Distribución de los genotipos del virus papiloma humano (VPH) en infecciones cervicales en mujeres de La Plata, Argentina. Revista Argentina de Microbiología. Sociedad Argentina de Microbiología, Buenos Aires, Argentina. Año: 2003. vol.35 p.74-79
- Aguilar Fabre K, Ríos Hernández M, Hernández Méndez M, Aguilar Vela de Oro F, Silveira Pablos M, Nápoles M. Papiloma Virus Humano. Revista Cubana de Obstétrica y Ginecología. 2008; Vol. (34). En revision. (BVS Cuba)
- Alazawi W, Pett M, Arch B, Scott L, Freeman T, Stanley MA, Coleman N. Changes in cervical keratinocyte gene expression associated with integration of human papillomavirus 16. Cancer Res 2012.
- Braz J Med Biol Res. 2009 Jul; 42 (7):629-36. Human papillomavirus infection and its association with cervical dysplasia in Ecuadorian women attending a www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19578642. 2009.
- Cárdenas O, Cabrera J, Campoverde A. Prevalencia de genotipos del papiloma virus en mujeres de cuenca. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. Abril de 2014. Vol. 32(1): 6-15 Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/20038>
- Carrillo A, Mohar A, Meneses A, Frias-Mendiviil M, Solorza G, Lizano M. Utilidad en la combinación de oligonucleótidos universales para la detección del Virus del Papiloma Humano en cáncer Cérvicouterino y lesiones premalignas. Instituto Nacional de Salud Pública México INSP.MX. México. 2003. Revisado : 10 de diciembre del 2013 ; Vol. (46) pág. 8-11 (Scielo)
- Castell, Isague y colab. Epidemiología de la infección por VPH y del cáncer de cuello de útero. Nuevas opciones preventivas. Hospital Universitario San Cecilio-Granada. Departamento de Anatomía Patológica 2009.
- Cecchini G, y colab. Cervical cáncer screening programs in low-income communities. Experiences from Ecuador. Low cost detection of HPV infection in a developing country.2001.
- Clifford G, Goncalves M, Franceschi S. Human papillomavirus types among women infected with HIV: A meta-analysis. AIDS.2006; Vol20:2337-2344. Disponible en: http://www.hu.ufsc.br/projeto_hpv/Human%20papillomavirus%20types%20among%20women%20infected.pdf
- Concha M. Diagnóstico y terapia del Virus del Papiloma Humano. Revista Chilena de Infectología. 2007; Vol.(24): pág. 209-214 (Scielo)



- Concha M. Diagnóstico y terapia del Virus del Papiloma Humano. Revista Chilena de Infectología. 2007. Vol. (23). Pág. 209-214. En revision (Scielo)
- Cordero Martínez J. Factores de riesgo para el cáncer del cuello del útero; Ministerio de Salud Pública Filial de Ciencias Médicas de la Habana Hospital general docente Leopoldito Martínez San José de las Lajas. Cuba. 2007.
- De Guglielmo, Zoraya y colab. Laboratorio de Microbiología Molecular - Instituto de Biomedicina, MPPS Universidad Central de Venezuela. Rev. Obstet. Ginecol. Venez. 2008; pág. 240-247.
- Deluca, Gerardo y colab. Cáncer de Cérvix; Instituto de Medicina Regional Área de Biología Molecular; UNNE; Redes Nacionales de laboratorios. Argentina 2007. Pág. 87.
- Disponible en:<http://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-de-poblacion-y-vivienda/>
- Esquivias López-Cuervo, Javier y colab. Citología cervical tipos de VPH presentes en citologías ginecológicas procedentes de lesiones de cérvix de Santa Cruz de la Sierra (Bolivia). Hospital Universitario San Cecilio- Granada. Departamento de Anatomía Patológica ESPAÑA. Instituto Oncológico del Oriente Boliviano-Servicio de Anatomía Patológica BOLIVIA. 2009.
- Ferreccio, Catterina y colab. Prevalencia poblacional y distribución por edad del Virus Papiloma Humano entre mujeres en Santiago, Chile; Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Centro de Oncología Preventiva, Universidad de Chile, 2003.
- González-Andrade F, Sánchez D. HPV genotyping in anogenital abnormal samples of Ecuadorian women. Department of Medicine, Hospital Metropolitano, Quito, Ecuador. fabriciogonzaleza@yahoo.es. 2009.
- Hernández, Carlos-Girón, y colab. Prevalencia de infección por virus de papiloma humano (VPH) de alto riesgo y factores asociados en embarazadas derechohabientes del IMSS en el estado de Morelos. Salud pública. México; vol.47 N°6; Cuernavaca. 2005.
- INEC; Anuario de nacimientos y Defunciones. Ecuador. 2009.
- INEC; Ecuador en cifras. Ecuador. 2010.
- Infección genital por Virus del Papiloma Humano. España. Centros para el control y la prevención de enfermedades; 15 de mayo del 2013. Revisado: 8 de diciembre del 2013. Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/Spanish/STDFact-HPV-s.htm> (CDC).



- Infección por Virus del Papiloma Humano: epidemiología, historia natural y carcinogénesis. Instituto Nacional de Cancerología INCan. 2009; Vol. (4). Pág. 205-210. (Incan).
- León Cruz G, Bosque Diego O. Infección por Virus del papiloma Humano y Factores relacionados con la actividad sexual en la génesis del cáncer cérvicouterino. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología. 2005. VOL (31): PAG 2-8 (Scielo).
- León Cruz G, Bosque Diego O. Infección por Virus del papiloma Humano y Factores relacionados con la actividad sexual en la génesis del cáncer cérvicouterino. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología. 2005. VOL (31): PAG 2-8 (Scielo).
- Mandato Pérez S, Hoedo Quiñones W, Gran Oramas B, Domínguez Álvarez C, Lazo Del Valiin S, Elvirez Gutiérrez A. Virus del Papiloma Humano: Actualicion y presentación de un caso clínico de carcinoma esofágico asociado a HPV. Revista Mexicana de Patología Clínica. 2003; Vol. (50): pág. 12-19. (Scielo).
- Mandato Pérez S, Hoedo Quiñones W, Gran Oramas B, Domínguez Álvarez C, Lazo Del Valiin S, Elvirez Gutiérrez A. Virus del Papiloma Humano: Actualicion y presentación de un caso clínico de carcinoma esofágico asociado a HPV. Revista Mexicana de Patología Clínica. 2003; Vol. (50): pág. 12-19. (Scielo).
- Muñoz N. HPV in the Etiologic of human cancer. Vaccine. 2006; 24 Suppl 3.
- Otth Lagunas, Carola y colab. Genotipos de HPV y prevalencia de infección en las mujeres con citología ASCUS del Hospital Clínico Regional Valdivia. Universidad Austral de Chile. 2004.
- Palma Lazcano, Invert. Epidemiología del virus del papiloma humano. Revista Paceaña Med Fam; La Paz- Bolivia. 2006; pág. 67-70.
- PCR en tiempo real Pdf Disponible en: www.cultek.com/inf/otros/.../Soluciones-Q-PCR-Introduccion.pdf.
- Picón Gabriela, Neira Hernán, Sánchez Isabel, Campoverde Alfredo, Cordero Leoncio, Ugalde Jorge. Detección del ADN del virus del papiloma humano mediante PCR en pacientes con citología de ASCUS; instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca.2005-2006.Revista Oncología. Vol. 16. Cuenca. Ecuador. 2006.
- Ramírez T. Vacunación contra HPV. Revista médica de costa rica y Centroamérica LXXI (611) 529 - 532, 2014 Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/611/art28.pdf>.



- Ramírez T. Vacunación contra HPV. Revista médica de costa rica y Centroamérica LXXI (611) 529 - 532, 2014 Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/611/art28.pdf>.
- Sanabria Negrín JG. Virus del Papiloma Humano. Revisión Bibliográfica. Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río. 2010. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156131942009000400019&lng=en
- Sanabria, José Guillermo y colab. Prevalencia del virus del papiloma humano en el cuello uterino. Pinar del Río. Dirección Provincial de Salud Pública, Facultad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, Cuba. 2004 (6).
- Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. Lancet 2007; 370(9590):890–907. [PubMed Abstract].
- Sehna B, Dusek L, Cibula D, Zima T, Halasica M, Drial D, Slama J. The relationship between the cervical and anal Human Papiloma Virus Infection in Women with Cervical Intraepithelial neoplasia. Journal of Clinical Virology.2013; Vol (54). PAG 205-2013 (PubMed)
- SOLCA. Registro de Tumores Cuenca. Quinto informe: incidencia del cáncer en el cantón Cuenca. 1996-2004. Instituto del Cáncer SOLCA, Núcleo de Cuenca. Cuenca, 2007. Disponible en : http://www.institutodelcancer.med.ec/index_archivos/registro_tumores.htm
- Tornesello ML, y colaboradores. A pilot study on the distribution of human papillomavirus genotypes and HPV-16 variants in cervical neoplastic lesions from Ecuadorian women. 2009.



12. ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de Operacionalización de variables

Variable	Concepto	Dimensión	Indicador	Escala
<i>Características sociodemográficas</i>				
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de la entrevista.	Años cumplidos.	Fecha de nacimiento en la cédula de identidad	< 20 20 -29 30 - 39 40 y +
Estado civil	Situación legal o de hecho de las personas determinada por sus relaciones de familia, provenientes del matrimonio o del parentesco, que establece ciertos derechos y deberes.	Relación familiar.	Formulario de recolección de datos	- Soltera - Casada - Divorciada - Viuda - Separada - Unión libre
Residencia	La persona que usualmente vive en la vivienda, siempre y cuando al momento de la entrevista tenga más de seis meses de vivir en uno de los cantones seleccionados para el estudio.	Ubicación geográfica.	Formulario de recolección de datos.	- Gualaceo -Paute -Chordeleg
Educación	Nivel de instrucción educativa que tiene la persona.	Estatus de educación formal.	Formulario de recolección de datos.	-Superior -Secundaria -Primaria -Ninguna.
Ingresos mensuales	Constituye la suma de la renta mensual que percibe cada uno de los miembros de la familia.	Estatus económico.	Formulario de recolección de datos.	< 340 340 - 680 > 680
<i>Factores de riesgo para infección por PVH</i>				
Edad de primera relación sexual	Edad en la que tuvo la primera relación sexual.	Conducta sexual.	Formulario de recolección de datos.	< 20 20 - 25 > 25
Años de vida sexual	Tiempo en años que mantiene relaciones sexuales, desde la primera vez	Conducta sexual.	Formulario de recolección de datos.	< 5 5 - 10 > 10
Número de compañeros	Número de personas del sexo masculino con las	Conducta sexual.	Formulario de	1 2



sexuales	que ha tenido relaciones sexuales.		recolección de datos.	3 > 3
Compañeros sexuales de alto riesgo	Personas del sexo masculino con las que ha tenido relaciones sexuales quienes a su vez han tenido relaciones sexuales con prostitutas.	Conducta sexual.	Formulario de recolección de datos.	- Si - No - No sabe
Ingesta prolongada de anticonceptivos hormonales	Si ha recibido anticonceptivos hormonales vía oral, inyectable o implantes, por más de 5 años consecutivos.	Clínica	Formulario de recolección de datos.	- Si - No
Número de embarazos	Cantidad de embarazos que ha tenido. El embarazo entendido como el proceso de la reproducción que comienza con la implantación del cigoto en la mujer y termina en un parto o aborto.	Número total de embarazos	Formulario de recolección de datos.	- 1 -2 a 3 Más de 3
Exceso de peso u obesidad	Se determina cuando el Índice de Masa Corporal es igual o superior a 25.	Índice de masa corporal	Formulario de recolección de datos.	- Si - No
<i>Lesiones cervicales</i>				
Estado del cérvix y cuello uterino	Presencia o ausencia de células con alteraciones provocadas por el VPH y otros microorganismos causantes de lesiones inflamatorias, detectadas por Papanicolaou	Lesiones microscópicas características tipo coilocititas	Resultados de la prueba de Papanicolaou	-Inflamatorio -Vaginosis -Metaplasia -ASC-US -LIE de bajo grado -LIE de alto grado -Otros
<i>Papiloma virus humano</i>				
Presencia papiloma virus humano (VPH)	Virus del papiloma humano con doble cadena de ADN, causantes de lesiones benignas y malignas del cuello del útero y factible de ser identificado mediante la PCR	Identificación del VPH	Reporte de las secuencias virales del VPH por PCR	-Positivo -Negativo



Genotipos de papiloma virus humano.	Información genética del ADN del VPH	Identificación de genes del VPH	Reporte de la prueba PCR: observación de bandas de ADN en el gel de electroforesis.	-VPH de alto riesgo oncogénico: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82 -VPH de bajo riesgo oncogénico: 6,11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70
-------------------------------------	--------------------------------------	---------------------------------	---	--



ANEXO 2 (Consentimiento Informado)

Consentimiento Informado Para los investigadores

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

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

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

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

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

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

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

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



Para la mujer

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

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

.....

Firma de la paciente

.....

Firma del Investigador

Fecha:.....

**ANEXO 3 (Encuesta)****MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
COORDINACIÓN ZONAL 6****UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN - DIUC****Prevalencia de los genotipos del papiloma virus humano en muestras cérvico uterinas
y su relación con los factores de riesgo en mujeres con vida sexual activa de los
cantones de la provincia del Azuay. 2013-2014****Formulario de recolección de datos.**Fecha dd/mm/año: Número de encuesta: **1. Identificación y características demográficas:**1.1 Código de la persona entrevistada: 1.2 Cantón: 1.3 Edad en años cumplidos: 1.4 Estado Civil: Soltera Casada Divorciada Viuda Unión Libre 1.5 Teléfono: 1.6 Domicilio: Calle..... Número 1.7 Lugar de nacimiento (debe ser en el cantón): 1.8 Años de residencia en el Cantón: 1.9 Peso: Kg Talla: cm1.10 Ingresos mensuales, paciente: dólares1.11 Ingresos mensuales de la pareja: dólares1.12 Educación: Número de años terminados: años

2. Factores de riesgo:



Antecedente de examen ginecológico, sin Papanicolaou:

Ninguno Último hace qué tiempo años

Antecedente de Papanicolaou:

Último hace que tiempo en años:

6 meses 1 año 2 años 3 años Más de 3 años

Diagnóstico:

No recuerdo

Antecedente o infección por HPV

Ha sido diagnosticada de infección por HPV mediante Papanicolaou? Sí No

Por antecedentes clínicos: Si No Por colposcopia: Si No

Diagnóstico y sugerencia del colposcopista

2.5 Lesiones citológicas indeterminadas y premalignas para HPV mediante técnica de papanicolaou.

No Si ¿Cuál?:

CLASIFICACIÓN DE BETHESDA:

ASC-US Atypical squamous cells of undetermined significance (atipias epiteliales de significado indeterminado)

ASC-H Atypical squamous cells – cannot exclude HSIL (atipias glandulares de significado indeterminado)

L-SIL Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (LGSIL)= (Sil de bajo grado)

H-SIL High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (HGSIL) = (Sil de alto grado, premaligno)

AGC-NOS Atypical Glandular Cells not otherwise specified

AGC-NEOPLASTIC Atypical Glandular Cells, suspicious for AIS or cancer



AIS Adenocarcinoma *in situ*

Hace qué tiempo en meses: meses

BIOPSIAS. RESULTADOS (Histología):

CIN 1: Infecciones transitorias por HPV
neoplasias

CIN 2 Y CIN 3: Auténticas

Vacunación para HPV: No: Sí ¿Hace qué tiempo? Meses Años

¿Cuántas dosis?: 1 2 3 ¿Qué vacuna?

Paridad

Edad del primer embarazo a término Años

Gesta Para Abortos Cesáreas Ectópicos Mola

Número de embarazos a término (completados)

Número de embarazos no a término (no completados)

Desgarros cervicales durante el parto. Desgarros cervicales: No Sí Sutura: Sí
No

Antecedentes familiares de cáncer cervical.

No Sí ¿Qué parentesco?

Otro pariente ¿Qué parentesco?

Antecedente de anticoncepción hormonal y/o uso actual:

No Sí

Tabletas combinadas No Sí ¿Cuántos meses en total?

Tabletas solo con progestágeno: No Sí ¿Cuántos meses en total?

Ampollas de 1 mes: No Sí ¿Cuántos meses en total?.....

Ampollas de 3 meses: No Sí ¿Cuántos meses en total?.....



Implantes No Si ¿Cuál?:..... ¿Cuántos meses en total?.....

PRESERVATIVOS: No Si Frecuentemente Ocasionalmente Por cuántos años? :

DIU. No Si: Por cuántos años? :

Alimentación

En su dieta diaria consume usted pocos vegetales? (Verduras, frutas, ensaladas, vegetales rojos, amarillos). No Si

Exceso de peso.

Ha existido exceso de peso, según la paciente: No Si Qué tiempo en años

Ha existido bajo peso, según la paciente: No Si Qué tiempo en años

Tabaquismo. No Si Cuántos tabacos diarios Cuántos años

Alcohol: No Si Frecuentemente Ocasionalmente Tiempo en años

Uso de medicamentos e intervenciones

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

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

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

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

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

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

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

Enfermedades de transmisión sexual, secreción cervical persistente

Enfermedad de transmisión sexual. No Si

¿Cuál enfermedad de transmisión sexual?

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



Uso de tampones. Si No

Uso de protectores. Si No

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

Número de años de vida sexual.....

Número de compañeros sexuales:.....

Pareja masculina con muchas parejas sexuales

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

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

Firma del Ginecólogo o Médico.....

Firma de la paciente.....



ANEXO 4 (papeleta de pedido para Biología Molecular y Citopatología)

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
COORDINACIÓN ZONAL 6

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

SOLICITUD DE ESTUDIO CITOLÓGICO CERVICAL (PAPANICOLAOU).

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

Cantón:

Número del pedido.....

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

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

Antecedentes clínicos y hallazgos:

.....
.....

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

Firma.....

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
COORDINACIÓN ZONAL 6

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

SOLICITUD DE ESTUDIO PARA BIOLOGÍA MOLECULAR

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

Cantón:

Número del pedido.....

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

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

Antecedentes clínicos y hallazgos:

.....
.....

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

Firma.....

ANEXO 5 (Mapas de los cantones estudiados con su respectiva aleatorización).

GUALACEO



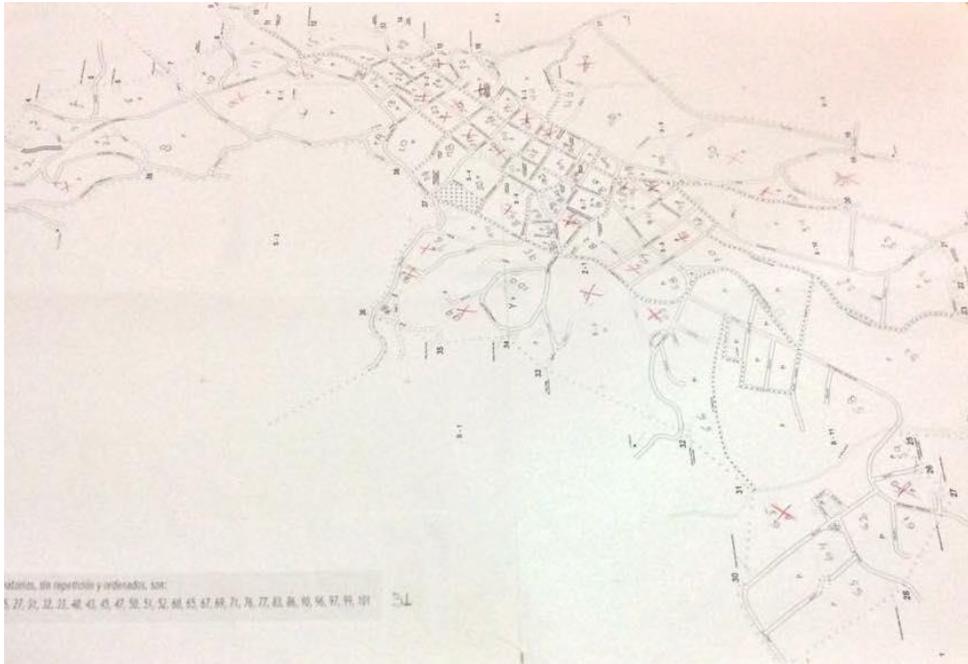
Fuente: Las Autoras

PAUTE



Fuente: Las Autoras

CHORDELEG



Fuente: Las Autoras

ANEXO 6 (Fotografías del proceso de ubicación n de pacientes, recolección y procesamiento de las muestras).

Foto 1. Ubicación de los pacientes



Fuente: Las Autoras

Foto 2. Recolección y procesamiento de muestras



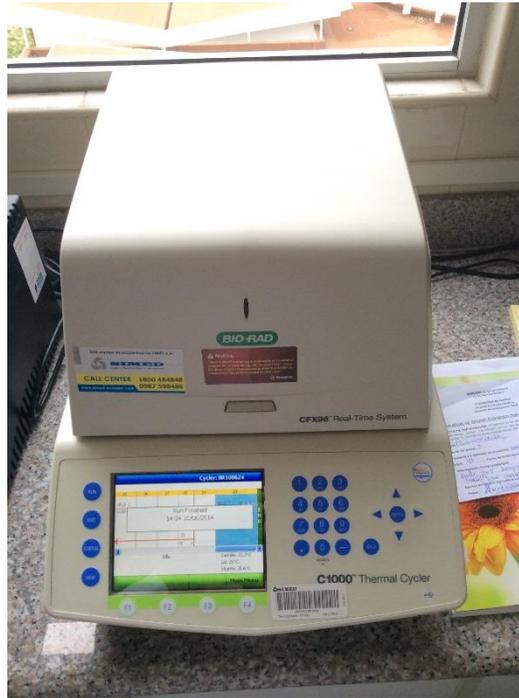
Fuente: Las Autoras



Fuente: Las Autoras



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



Fuente: Las Autoras