



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE

MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



**Prevalencia de virus papiloma humano en pacientes de Gineco-obstetricia del
Hospital Regional Lambayeque, abril –mayo 2019**

TESIS

Para optar el título profesional de licenciado en:

Biología – Microbiología y Parasitología

Presentado por:

Br. Sebastian Alfredo Iglesias Osoreo

Asesor:

Dr. Pedro Jorge Chimoy Effio

Lambayeque, Perú

2020

UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE

MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA



**Prevalencia de virus papiloma humano en pacientes de Gineco-obstetricia del
Hospital Regional Lambayeque, abril –mayo 2019**

TESIS

Para optar el título profesional de licenciado en:

Biología – Microbiología y Parasitología

Presentado por:

Br. Sebastian Alfredo Iglesias Osoreo

Asesor:

Dr. Pedro Jorge Chimoy Effio

Lambayeque, Perú

2020

**Prevalencia de virus papiloma humano en pacientes de Gineco-obstetricia del
Hospital Regional Lambayeque, abril –mayo 2019**

TESIS

**Para optar el título profesional de licenciado en:
Biología – Microbiología y Parasitología**

Presentado por

Br. Sebastian Alfredo Iglesias Osores

Dra. Graciela Olga Albino Cornejo

Presidenta

Dra. Martha Arminda Vergara Espinoza

Secretaria

Dra. Ana María del Socorro Vásquez del Castillo

Vocal

Dr. Pedro Jorge Chimoy Effio

Asesor

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia (Mirtha, Manuel, Rossana, Eliseo, Aldo, Ricardo, Alfredo), amigos, comunidad científica y personas que alguna vez me ayudaron a cumplir este objetivo.

Agradecimiento

Agradezco al Área de Investigación del Hospital Regional Lambayeque, al Laboratorio de Biología Molecular y al Servicio de Ginecobstetricia del Hospital Regional Lambayeque, en especial al Dr. Luis Miguel Serquén López, la Dra. Mariela Vásquez Fernández, el Dr. Heber Silva Díaz, y a mi asesor, Dr. Pedro Chimoy Effio.

“Jesus, help me find my proper place.”

Lou Reed

“I am not an animal! I am a human being. I am a man.”

The Elephant Man

“Tengo un sueño, un solo sueño, seguir soñando. Soñar con la libertad, soñar con la justicia, soñar con la igualdad y ojalá ya no tuviera necesidad de soñarlas...”

Martin Luther King Jr.

“...Vosotros no sois máquinas, no sois ganado, sois hombres. Lleváis el amor de la Humanidad en vuestros corazones, no el odio...”

El Gran Dictador

Contenido	
Contenido	6
Índice de tablas	8
Índice de figuras	8
Resumen	i
Abstract	ii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Introducción	1
1.2. Antecedentes	3
1.3. Base teórica	7
1.3.1. Cáncer de Cuello Uterino	7
1.3.2. Epidemiología	8
1.3.3. Papiloma Virus Humano	9
1.3.4. Transmisión de VPH	10
1.3.5. Ciclo de vida del VPH	10
1.4. Detección y uso de técnicas moleculares	11
1.4.1. Extracción de ADN por el método de salting out	11
1.4.2. Reacción en cadena de la polimerasa	12
1.4.3. Enzima de restricción MY09 MY11 y PC04 GH20	12
II. MATERIAL Y MÉTODOS	12
2.1. Lugar de ejecución	13
2.2. Material	13
2.2.1. Población y muestra	13
2.2.2. Unidad de análisis	13
2.2.3. Criterios de inclusión	13
2.2.4. Criterios de exclusión	13
2.3. Método	14
2.3.1. Tipo de estudio	14
2.3.2. Diseño de investigación	14
2.3.3. Instrumentos de recolección de datos	14
2.3.4. Proceso de recolección de muestras	14
2.3.5. Caracterización molecular de muestras	15
2.3.5.1. Extracción y purificación de ADN mediante salting-out	15

2.3.5.2.	Determinación de la cantidad y la calidad de ADN.....	16
2.3.5.3.	Conservación del ADN	17
2.3.5.4.	Amplificación de ADN	17
2.3.5.5.	Preparación del mix de reacción.....	17
2.3.5.6.	Condiciones termodinámicas de reacción	17
2.3.5.7.	Electroforesis y visualización de banda.....	18
2.3.6.	Análisis estadísticos	18
2.3.7.	Consideraciones éticas.....	18
III.	RESULTADOS.....	19
IV.	DISCUSIÓN.....	23
V.	CONCLUSIONES	26
VI.	RECOMENDACIONES.....	27
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
VIII.	ANEXOS	40
7.1.	Consentimiento para participar en un estudio de investigación	40
7.2.	Concentraciones máster mix	42
7.3.	Ficha toma de datos Hospital Regional Lambayeque	43
7.4.	Geles de agarosa.....	45

Índice de tablas

Tabla 1. Concentraciones y volúmenes BGH Taq Platinum-Invitrogen.	18
Tabla 2. Concentraciones y volúmenes MY09-11 Taq Platinum-Invitrogen.	18
Tabla 3. Características generales de pacientes de ginecología.	21
Tabla 4. Diferencias según resultado de prueba de VPH en pacientes de ginecología.	22

Índice de figuras

Figura 1. Porcentaje de resultados de VPH de pacientes de ginecología	
Gineco-	
obstetricia.....	20
Figura 2. Lugares de procedencia de mujeres del estudio.....	22

Resumen

Introducción: el virus papiloma humano causa uno de los cánceres más frecuentes en las mujeres alrededor del globo. **Objetivo:** determinar la prevalencia de virus del papiloma humano en pacientes de obstetricia y ginecología atendidos en el Hospital Regional de Lambayeque. **Métodos:** estudio descriptivo de corte transversal. Se analizaron 187 muestras de pacientes entre abril –mayo de 2019. Se extrajeron las muestras de ADN del papiloma virus humano mediante el método de *salting out*. Se utilizó la técnica reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el ADN viral, utilizando los cebadores PC04 / GH20 y MY09 / MY11. Se utilizó estadística descriptiva y análisis bivariado. **Resultados:** se encontró una media de 45 años, una media de una pareja sexual y 2 partos vaginales, 23 pacientes con lesión cervical, 5 antecedente ITS, 135 anticonceptivo hormonal, 177 uso de condón, 22 fumadoras. Se encontró que 53 tuvieron un resultado positivo (29,94 %) y 124 pacientes dieron negativo para la prueba (70,06 %), para la presencia de virus del papiloma humano. No se encontró correlación estadística entre virus del papiloma humano y edad, edad de la primera relación sexual, promiscuidad, número de partos vaginales, lesiones cervicales, antecedentes de infecciones de transmisión sexual (ITS), uso de anticonceptivos hormonales, uso de condón y tabaquismo. **Conclusión:** existe un alto porcentaje del virus del papiloma humano en las pacientes que se atienden en el área de obstetricia y ginecología.

Palabras clave: reacción en cadena de la polimerasa, infecciones por papillomavirus, técnicas de laboratorio clínico.

Abstract

Introduction: human papillomavirus causes cancers in women around the globe. **Objective:** To determine the prevalence of human papillomavirus in obstetrics and gynecology patients at the Regional Hospital of Lambayeque.

Methods: Descriptive study, cross sectional. 187 patients' samples were analyzed between April and May 2019. Human papillomavirus DNA samples were extracted using the Salting Out method. The Polymerase Chain Reaction technique was used to amplify the viral DNA, using the primers PC04 / GH20 and MY09 / MY11. Descriptive statistics and bivariate analysis were used.

Results: a mean of 45 years was found, a mean of a sexual partner and 2 vaginal deliveries, 23 patients with cervical lesions, a history of STIs (5), hormonal contraceptives (135), condom use (177), smoker (22). It was found that 53 had a positive result (29.94 %) and 124 patients were negative for the test (70.06 %), they were infected with the human papillomavirus. No statistical correlation was found for human papillomavirus and age, age of first sexual intercourse, promiscuity, number of vaginal deliveries, cervical lesions, history of sexually transmitted infections (STIs), use of hormonal contraceptives, use of condoms, and smoking. **Conclusion:** there is a high percentage of the human papillomavirus in patients who are cared for in the OB / GYN area.

Keywords: polymerase chain reaction; papillomavirus infections; clinical laboratory techniques.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

El virus papiloma humano causa cáncer de cuello uterino, el cual es uno de los cánceres más mortales en mujeres en todo el mundo. Se estimó 585 278 nuevos casos y 327 899 muertes atribuibles en el 2010, de los cuales más del 80 % de los casos ocurrieron en países del tercer mundo. En la década del 2000 se calculó medio millón de nuevos casos y más de 200 000 defunciones por cáncer de cérvix (CC) al año, en todo el globo (Plummer et al., 2016). En el mundo la incidencia de cáncer de cuello uterino ocupa el primer o segundo lugar de acuerdo a la región geográfica (Ferlay et al., 2010).

El también llamado cáncer de cuello uterino es la principal causa de mortalidad en mujeres en todo el mundo, con mayor potencial preventivo comprobado (Iglesias-Osores & Pando-Sánchez, 2017). El CC es completamente prevenible y tratable utilizando medios económicos para detectar mujeres con citología desconocida, junto con un diagnóstico, tratamiento y seguimiento continuos (Lopez et al., 2017). Los programas que intentan prevenirlo en América del Sur y Central apenas han reducido la mortalidad de los pacientes (Lewis, 2004).

El cáncer de cérvix es causado por el virus papiloma humano, para su detección se usan métodos diagnósticos que son escogidos por su sensibilidad, especificidad y utilidad (De Brot et al., 2017). El desarrollo de cáncer de cuello uterino se asocia con una infección persistente del virus del papiloma humano de alto riesgo (Tian & Zhang, 2018). Existen más de cien tipos de virus del papiloma humano (VPH); los más comunes son el 16 y el 18; responsables del 89 % de los casos de cáncer de cuello uterino (Bosch et al., 2002). En el Perú, el CC es la principal causa de decesos por cáncer en mujeres (Luque et al., 2016). El cáncer de cérvix es una prioridad en los sistemas de salud y existen numerosos métodos de tamizaje disponibles (Luciani & Winkler, 2006).

Entre los más importantes métodos de detección tenemos a la inspección visual con ácido acético (IVAA) y Papanicolaou (PAP), en donde la sensibilidad de ambos es similar: 87,8 % y 80,5 %, respectivamente (Srivastava et al., 2020). El PAP es más específico que la IVAA, mientras que la IVAA tiene una mayor sensibilidad que el PAP (Ortiz-Uribe et al., 2020). A pesar de una alta tasa de errores, el PAP podría recomendarse como una herramienta de detección preliminar en entornos de escasos recursos de atención primaria como países en desarrollo (Srivastava et al., 2020).

Algunos tipos de papiloma humano tienen tropismo positivo por la piel y desempeñan un papel en el cáncer (de Sanjose et al., 2010). Existen técnicas moleculares que pueden detectar el VPH con una especificidad mayor del 90 % (Tian & Zhang, 2018). Como la PCR que demuestra su utilidad en el diagnóstico (Montoya-Fuentes et al., 2020). La tecnología más sensible y específica o estándar de oro en la detección del virus del papiloma humano es la tecnología que utiliza los cebadores comunes MY09 y MY11 para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y luego la secuenciación de genes (Gravitt & Manos, 1992).

No existe información por regiones en el Perú en pacientes con citología desconocida; los estudios de prevalencia, utilizando métodos diagnósticos moleculares, son casi nulos en el Perú (Iglesias-Osores & Serquén-López, 2020). Existe una urgente necesidad de continuar investigando la realidad nacional respecto a prevalencia de la infección por VPH en distintas regiones y altitudes, así como la distribución por tipos que ayuden al diagnóstico, forma de transmisión, factores de riesgo, hasta la prevención. El conocimiento epidemiológico es crucial para esta distribución en la población general. El propósito de este estudio es determinar la prevalencia y factores asociados del virus del papiloma humano en pacientes de obstetricia y ginecología del Hospital Regional de Lambayeque.

1.2. Antecedentes

Schiffman et al. (2000) realizaron un estudio descriptivo con 11 742 mujeres seleccionadas al azar, 8554 mujeres no embarazadas, sexualmente activas y sin histerectomías que se sometieron a una prueba de ADN del VPH inicial utilizando la prueba de captura de híbridos. Se volvió a analizar una submuestra estratificada de 1119 especímenes utilizando el ensayo de segunda generación más sensible analíticamente: el ensayo Hybrid Capture II. Se detectó el 88,4 % de 138 lesiones y cánceres de alto grado, con una referencia colposcópica de 12,3 % de mujeres. Las pruebas de Papanicolaou con células escamosas atípicas de importancia indeterminada como punto de corte para la derivación dieron como resultado un 77,7 % de sensibilidad y un 94,2 % de especificidad, con un 6,9 % referido. La especificidad del ensayo de la segunda generación para la positividad de lesiones de alto grado y cáncer fue del 89 %, con el 33,8 % de los restantes sujetos positivos al ADN del VPH con lesiones microscópicas evidentes de bajo grado o equívocas. El umbral de detección más alto de 10 pg / mL utilizado con el ensayo original tuvo una sensibilidad de 74,8 % y una especificidad de 93,4 %.

Santos et al. (2001) realizaron un estudio de casos y controles en un hospital de Perú, en el que participaron 198 mujeres cuyo cáncer de cuello uterino se confirmó histológicamente y 196 como mujeres control. En su investigación, realizaron una detección basada en PCR en células cervicales desprendidas y muestras de biopsia. Entre ellos, el 95,3 % de los pacientes con carcinoma de células escamosas y el 92 % de los pacientes con adenocarcinoma tenían ADN de detección del VPH del 17,7 %, respectivamente. Además del VPH, el uso prolongado de anticonceptivos orales y el tabaquismo también aumentan el riesgo de enfermedad. El VPH es la principal causa de carcinoma de células escamosas y adenocarcinoma fibroso en mujeres peruanas.

Sijvarger et al. (2006) realizaron un estudio de casos y controles de 132 casos de exfoliación endocervical. La detección y tipificación del genoma viral se lleva a cabo mediante el análisis posterior del polimorfismo o

hibridación del fragmento de restricción. La tasa de infección general es del casi el 50 %, el grupo de control es del 26 % y los casos son del 71 %. El grupo de edad con mayor prevalencia de VPH es el de 14 a 24 años.

Appleby et al. (2006) recopilaron y combinaron datos personales de 13 541 mujeres con cáncer de cuello uterino y 23 017 mujeres sin cáncer de cuello uterino de 23 estudios epidemiológicos. El riesgo relativo y el intervalo de confianza del 95 % del cáncer de cuello uterino en relación con el tabaquismo se calcularon mediante la estratificación del estudio, la edad, la pareja sexual, la edad de la primera relación sexual, los anticonceptivos orales y la equiparación. En comparación con los que nunca han fumado, los fumadores actuales tienen un riesgo significativamente mayor de carcinoma de células escamosas de cuello uterino. El riesgo de carcinoma de células escamosas aumenta con la cantidad de cigarrillos al día y cuanto antes empiece a fumar.

En un estudio descriptivo de corte transversal llevado en una población estudiantil limeña, **Valderrama et al.** (2007) determinaron la prevalencia y factores relacionados del VPH entre las edades de 18 y 26 años, y realizaron un estudio transversal en dos universidades y el Instituto Técnico Superior de Lima desde agosto a diciembre de 2001. Se realizó un cuestionario práctico, se recolectaron muestras en Papanicolaou (PAP), y se detectaron ADN VPH 6, 11, 16, 18 por PCR. El análisis incluyó a 321 estudiantes que informaron actividad sexual. Según los resultados, la prevalencia del VPH (6, 11, 16, 18) fue del 8,4 % y la prevalencia de lesiones cervicales fue del 2,5 %. Las lesiones cervicales o VPH fueron más frecuentes en personas de 21 a 23 años. La edad de la primera relación sexual, el número de parejas sexuales y el uso de condones no fueron estadísticamente significativos.

Brebi et al. (2009), en su estudio, determinaron la frecuencia de genotipos del VPH en biopsias de adenocarcinoma de cuello uterino de mujeres en el área geográfica de Chile, y analizaron 41 biopsias de cuello uterino que fueron diagnosticadas patológicamente como adenocarcinoma, correspondientes a todas las mujeres diagnosticadas con este cáncer entre los años 2002 y 2004, en el cual se amplificó por PCR el gen viral L1 y se

genotipificó con Reverse Line Blot para VPH. Entre sus resultados el 71 % de las biopsias fueron positivas para el VPH. Los genotipos más comunes encontrados fueron VPH 16 (61 %), seguido de VPH 18 (19,5 %).

López et al. (2010) determinaron la frecuencia de genotipos de VPH en lesiones preneoplásicas cervicales, mediante el uso de una combinación de PCR y Reverse Line Blot, de 235 muestras de parafina fijadas con formalina y diagnóstico de lesión intraepitelial escamosa de bajo grado y lesión intraepitelial escamosa de alto grado. Los resultados fueron que se detectó VPH en 61,2 % de lesiones de bajo grado y 78,1 % de alto grado.

Mendoza et al. (2012) estudiaron muestras de 207 mujeres sometidas con citología negativa de los centros médicos de Asunción (Paraguay), de quienes escribieron por reacción en cadena de la polimerasa utilizando el primer MY09 / 11 y GP5 / GP6, seguido de RFLP e hibridación lineal inversa, respectivamente. Se reveló una alta incidencia de VPH (21 %), siendo el VPH 16 el tipo predominante (4,3 %), seguido del VPH 58 / 31 (2,4 % cada uno).

Sanoja, (2013) mediante métodos de PCR seguidos de análisis de endonucleasas de restricción (RFLP), determinó la frecuencia y el genotipo del VPH entre los estudiantes de una universidad de Venezuela. Se tomaron 43 muestras de estudiantes de 17 a 41 años para citología estándar y diagnóstico molecular. La tasa de virus positivos detectados fue del 34,9 %. Se identificaron cinco tipos de VPH: 6, 11, 53, 31 y 35. En cualquier caso, no se detectaron VPH 16, VPH 18 o más de una infección. Los genotipos de bajo riesgo representaron la mayoría, más de la mitad. El grupo de edad con mayor porcentaje de casos positivos es el de 20 a 24 años, con un 53,3 %.

Melo et al. (2014) determinaron la frecuencia del VPH en mujeres menores de 25 años, tratadas en el programa de detección de cáncer de cuello uterino y su seguimiento después del diagnóstico histopatológico. En el estudio fueron analizadas 173 muestras cervicales que luego se genotiparon por reacción en cadena de la polimerasa e hibridación inversa lineal, la frecuencia global de VPH fue de 84,8 %, siendo el VPH 16 más frecuente. En el 12,1 % de las mujeres, la lesión cervical persistió o

progresó. El 28,9 % de las mujeres tuvieron seguimiento irregular; en este grupo, el 88 % eran VPH positivo y el 52 % no tenía registro de la prueba de Papanicolaou en los últimos 3 años.

Leaungwutiwong et al. (2015) realizaron un estudio y se clasificó a un total de 300 participantes como mujeres en general, trabajadoras sexuales, hombres que tenían relaciones sexuales con hombres (HSH) y homosexuales. Las infecciones por VPH se identificaron mediante la prueba de Papanicolaou (PAP) y la PCR anidada. Se encontraron citología anormal en el 5 % de las mujeres en general, en el 10 % de las trabajadoras sexuales, en el 24 % de los HSH, y en el 28 % de las homosexuales trabajadoras sexuales. El VPH fue detectado en el 9 % de las mujeres en general, el 13 % en las trabajadoras sexuales, y el 30 % tanto en los HSH como en las trabajadoras sexuales. La prevalencia de genotipos de alto riesgo de VPH fue significativamente mayor en las trabajadoras sexuales y HSH, mientras que los genotipos de bajo riesgo y las verrugas genitales fueron significativamente mayores en las trabajadoras sexuales de HSH.

En un estudio descriptivo de corte transversal, **Sullcahuaman-Allende et al.** (2015) determinaron las características sociodemográficas de pacientes con VPH en 465 muestras de cuello uterino durante el período 2012-2014, en las que se determinaron por PCR en células cervicales por reacción. El estudio identificó un tercio de los casos VPH positivos, los genotipos más comunes fueron 16 y 6, y la presencia de VPH en mujeres fue mayor. Entre las mujeres solteras de entre 17 y 29 años, los genotipos de VPH de alto riesgo fueron más altos.

Reyna López et al. (2016) genotificaron en La Libertad (Perú), mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de tejido cervical con resultados citológicos normales para su análisis. Utilizando los cebadores comunes MY09 / MY11. Cuando se detectó una amplificación del genoma viral del VPH (los casos se interpretan como positivos) se utiliza una enzima de restricción llamada endonucleasa AFA-1. El VPH se detectó en 3 muestras de pacientes, además, se encontró una de las muestras positivas a VPH 16.

1.3.Base teórica

1.3.1. Cáncer de Cuello Uterino

El VPH infecta las células epiteliales y causa desde verrugas hasta neoplasias cervicales y cáncer (Doorbar, 2006). El genoma viral permanece en la capa basal y a medida que las células infectadas se mueven hacia la superficie epitelial, la expresión de genes virales se controla estrictamente. El patrón de expresión génica viral en las lesiones cervicales de bajo grado es similar al observado en las verrugas causadas por otros tipos de VPH (Bosch et al., 2013).

Hasta ahora, se han identificado más de 100 tipos diferentes de VPH, algunos de los cuales están clasificados como de alto riesgo (Tsakogiannis et al., 2017). El ADN del VPH de alto riesgo se encuentra en casi todos los cánceres de cuello uterino y el VPH 16 es el tipo más común en enfermedades de bajo grado y tumores de cuello uterino (Krishnan & Thomas, 2016).

La mayoría de los cánceres cervicales surgen dentro de la zona de transformación cervical en la unión escamosa columnar, y se ha sugerido que este es un sitio donde la infección productiva puede ser ineficientemente apoyada. En los últimos diez años, se ha observado un aumento en la incidencia anual de cáncer de células escamosas de la orofaringe, específicamente las amígdalas linguales y palatinas (McBride, 2017). Los factores de riesgo incluyen tener más parejas sexuales orales y vaginales a una edad temprana (D'Souza et al., 2007).

Las proteínas E6 y E7 de alto riesgo impulsan la proliferación celular a través de su asociación con las proteínas PDZ y Rb (proteína de la retinoblastoma) que contribuyen a la progresión neoplásica, mientras que la degradación de p53 mediada por E6 impide la reparación normal de mutaciones aleatorias en el genoma celular (Webb Strickland et al., 2018). El cáncer suele presentarse en personas que no pueden resolver

su infección y mantener la expresión de oncogenes durante años o décadas (Ho et al., 1995).

1.3.2. Epidemiología

La prevalencia global en un momento dado del virus del papiloma humano (VPH) en mujeres con citología normal es aproximadamente del 10 %, lo que indica que el VPH es una de las infecciones de transmisión sexual más comunes en el mundo (Bosch et al., 2008). El tipo carcinogénico de infección por VPH es la causa de cáncer de cuello uterino, que es uno de los cánceres más comunes entre las mujeres en todo el mundo. La tasa de recolección de VPH es alta, especialmente entre los jóvenes sexualmente activos (Baseman & Koutsky, 2005).

Las estimaciones informadas de la infección incidente por VPH entre las mujeres inicialmente negativas alcanzaron hasta el 60 % de positividad durante un período de seguimiento de 5 años (Baseman & Koutsky, 2005). Los modelos de comportamiento sexual entre los grupos de edad y las poblaciones son importantes para la circulación del VPH y del riesgo de infección, incluido el número de parejas sexuales de por vida (Baseman & Koutsky, 2005; Bosch et al., 2008).

El VPH 16 es el tipo más común y el VPH18, el segundo con algunas diferencias regionales menores. Además, en todo el grupo de lesiones cervicales, el VPH 16 siempre ha sido el tipo más común, representando el 50-55 % de los casos de neoplasias de cuello uterino invasivo, lo que indica claramente que este tipo de virus tiene las ventajas biológicas de transmisión, persistencia y transformación (Bosch et al., 2008).

La tasa de exposición de las mujeres jóvenes es muy alta y suele incluir varios tipos. La tasa de detección de ADN del VPH en la población de mediana edad disminuye de forma natural y rápida, pero aumenta en el segundo año después de la menopausia (Bosch et al., 2008).

Las evaluaciones correspondientes por región son: África, 22,1 %; Centroamérica y México, 20,4 %; Norteamérica, 11,3 %; Europa, 8,1 %; y,

Asia 8 %. En todas las regiones del mundo, la prevalencia del VPH es más alta entre las mujeres menores de 35 años, mientras que ha disminuido entre las mujeres mayores. En África, América y Europa se observó una alta prevalencia entre mujeres mayores de 45 años. Según estas estimaciones, aproximadamente 291 millones de mujeres en todo el mundo son portadoras del ADN del VPH y el 32 % de ellas están infectadas con VPH 16, VPH 18 o ambos. Aunque las contribuciones relativas de VPH 16 y VPH 18 son significativamente menores en mujeres citológicamente normales, los tipos de VPH detectados con mayor frecuencia son similares a los tipos más comunes en casos de cáncer (de Sanjosé et al., 2007).

1.3.3. Papiloma Virus Humano

Los virus del papiloma humano son diferentes tipos de virus de ADN pertenecientes a la familia *Papillomaviridae*, no tienen envoltura y miden alrededor de 52-55 nm de diámetro, por lo general se transmiten sexualmente y causan enfermedades de transmisión sexual (Ma et al., 2017). El VPH es un virus que se replica específicamente en el núcleo de las células escamosas o queratinocitos (Moody, 2017). Las proteínas de la cápside de los diferentes tipos de VPH son antigénicamente similares, por lo que el VPH no se puede clasificar por serotipo, por lo que se divide en genotipos y subtipos según las diferencias en las secuencias de ADN (Doorbar, 2006).

Las partículas de virus están compuestas por cápsides de proteínas compuesta por un 95 % de proteína L1 y, aproximadamente, un 5 % de proteína L2, que se combinan para formar un capsómero icosaédrico (Finnen et al., 2003). Dentro de la cápside hay un ADN circular de doble hebra de aproximadamente 8000 pares de bases, que consta de 8 genes y una región reguladora no codificante, que contiene los sitios de unión para las proteínas del huésped y los factores hormonales requeridos por el virus para su replicación (Bernard, 2005).

La mayoría codifica ocho proteínas principales, 6 ubicadas en la región temprana (E1, E2, E4, E5, E6 y E7) 2 en la región tardía L1 y L2 (Graham, 2010). Los genes tempranos desempeñan funciones en la replicación y transcripción del genoma del VPH, el ciclo celular, la señalización celular y el control de la apoptosis, la modulación inmunitaria y la modificación estructural de la célula infectada (Coico-Vega et al., 2018). Por otro lado, los genes tardíos comprenden la cápside del virus necesaria para la propagación y supervivencia de virus en el medio ambiente (Chen et al., 2015; Plummer et al., 2016; Tsakogiannis et al., 2015).

El virus del papiloma humano es un virus cosmopolita con más de 200 genotipos, divididos en genotipos que pueden infectar a una amplia gama de mamíferos, aves y reptiles (Bernard et al., 2010). El VPH se encuentra a menudo en las células epiteliales y persiste durante mucho tiempo, incluso en ausencia de daño, y su latencia es tal que algunos de ellos forman parte de la microflora de nuestra piel y es más probable que participen en la homeostasis de la piel (Fouéré et al., 2016).

1.3.4. Transmisión de VPH

Se ha demostrado que el virus del papiloma humano se transmite en varios modos. Los modos de transmisión incluyen: contacto sexual, contacto no sexual (ya sea directa o indirectamente) y el contacto materno, ya sea directa o indirectamente (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2005; Doerfler et al., 2009; Syrjänen & Puranen, 2000). El contacto sexual es el modo primario de transmisión tanto en adultos como en niños (Syrjänen & Puranen, 2000). La transmisión puede ocurrir a través del contacto sexual penetrante o el contacto genital íntimo (Doerfler et al., 2009). La mayor parte de la infección neonatal por VPH es la transmisión vertical al nacer (Syrjänen, 2010).

1.3.5. Ciclo de vida del VPH

El VPH infecta las células epiteliales basales en división donde su genoma episómico de ADNds ingresa a los núcleos. Tras la división celular basal, una célula hija infectada comienza el proceso de diferenciación de los queratinocitos que desencadena un patrón estrechamente orquestado de expresión génica viral para lograr una infección productiva. Un subconjunto de VPH infeccioso de la mucosa, los llamados VPH de "alto riesgo" (VPH-AR), causan enfermedad cervical, clasificada como de bajo o alto grado (Graham, 2017).

La mayoría de las personas experimentarán una infección transitoria de VPH-AR durante su vida, pero estas infecciones no progresarán a una enfermedad o cáncer cervical clínicamente significativo porque el sistema inmunitario finalmente reconoce y elimina el virus. La progresión del cáncer se debe a una infección persistente con un VPH-AR. La infección por VPH-AR es la causa de > 99,7 % de cánceres cervicales en mujeres y un subconjunto de cánceres orofaríngeos, predominantemente en hombres (Doorbar, 2005). El VPH 16 (genotipo VPH-AR 16) es la causa más frecuente en todo el mundo y la principal causa de cánceres asociados al VPH. A nivel molecular, la progresión del cáncer se debe a una mayor expresión de las oncoproteínas virales E6 y E7, que activan el ciclo celular, inhiben la apoptosis y permiten la acumulación de daño en el ADN (Huang et al., 2017).

1.4. Detección y uso de técnicas moleculares

1.4.1. Extracción de ADN por el método de salting out

Es un proceso de extracción ADN con sal que se utiliza con éxito para amplificar mediante una técnica de PCR anidada empleando una solución salina como acetato de amonio (2 y 4 M) para precipitar proteínas e isopropanol para precipitar ADN (Howe et al., 1997), produciendo buenos rendimientos de ADN de calidad, incluso de

muestras de varias décadas de antigüedad, que se puede amplificar fácilmente mediante PCR (Howe et al., 1997).

1.4.2. Reacción en cadena de la polimerasa

Esta tecnología se basa en las características naturales del ADN polimerasa para replicar las cadenas de ADN. Por esta razón, después de cada etapa de replicación, los ciclos alternos de alta y baja temperatura pueden separar las cadenas de ADN recién formadas entre sí y luego dejar que las cadenas de ADN se recombinen entre sí para copiarlos de nuevo (Tao et al., 2017). La PCR proporciona un medio rápido y preciso de amplificar el ADN facilitando la investigación biomédica y el diagnóstico de enfermedades proporcionando una mayor comprensión de los procesos de las enfermedades y ahora sirven como base para el diagnóstico y la investigación científica básica (Ishmael & Stellato, 2008).

El método de PCR se ha introducido como el método más sensible para la detección del ADN del VPH en muestras clínicas.

1.4.3. Enzima de restricción MY09 MY11 y PC04 GH20

La detección de VPH mediante PCR convencional con iniciadores cebadores degenerados MY09 (CGTCCMARRGGAWACTGATC), MY11 (GCMCAGGGWCATAAYAATGG), que reconocen la región del genoma viral consenso L1 del genoma viral y los genotipos de bajo riesgo (tipos 6, 11, 42 y 44) y alto riesgo (tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 y 58), para obtener un producto de amplificación de 450 pb (Hildesheim et al., 1994; Ho et al., 1995) y los primers GH20 (GAAGAGCCAA GGACAGGTAC) and PC04 (CAACTTCATC CACGTTCCACC) de 260 pb que detectan la betaglobina humana como control de calidad (Gravitt et al., 2000).

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.Lugar de ejecución

La recolección de muestras se realizó en el Área de Ginecobstetricia, mientras que el procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular del Área de Investigación del Hospital Regional Lambayeque.

2.2.Material

2.2.1. Población y muestra

El tamaño de muestra estuvo conformado por 187 pacientes del área de gineco obstetricia, que aceptaron participar en el estudio que asistieron al área de ginecobstetricia de abril a mayo de 2019. Se calculó la muestra en base a las pacientes recibidas el año pasado en el área ginecobstetricia.

2.2.2. Unidad de análisis

Infección por virus papiloma humano en pacientes de ginecobstetricia: la muestra estuvo conformada por los citocepillados del cuello uterino de pacientes de ginecobstetricia del Hospital Regional Lambayeque que acudan a realizarse su Papanicolaou en el periodo de abril a mayo de 2019.

2.2.3. Criterios de inclusión

- Pacientes procedentes de ginecobstetricia del Hospital Regional Lambayeque que se realicen la toma de muestra del Papanicolaou durante el periodo de abril a mayo de 2019.

2.2.4. Criterios de exclusión

- Que hayan tenido relaciones sexuales en los últimos 2 o 3 días anteriores al examen.
- Que estén usando tampones, espumas anticonceptivas, medicamentos vía vaginal, cremas o polvos vaginales porque inhiben el PCR.
- Que estén recibiendo tratamiento para cáncer de cérvix, porque ya están recibiendo tratamiento.

2.3.Método

2.3.1. Tipo de estudio

Se trata de un estudio descriptivo transversal realizado en el Hospital Regional Lambayeque. Basado en la hora del incidente y el registro de la información, este estudio es prospectivo.

2.3.2. Diseño de investigación

Por conveniencia, se adoptó un método de muestreo continuo no probabilístico, que incluye el reclutamiento de todos los pacientes que cumplen con los criterios de selección durante el período de reclutamiento establecido para el estudio desde abril a mayo 2019, en los servicios de obstetricia y ginecología del Hospital Regional Lambayeque.

2.3.3. Instrumentos de recolección de datos

El instrumento utilizado es una hoja de recolección de datos elaborada por el Laboratorio de Biología Molecular del Hospital Regional de Lambayeque, que contiene datos sociodemográficos (Anexo N°1).

2.3.4. Proceso de recolección de muestras

Se aplicó un consentimiento informado y se explicó a la paciente el procedimiento de la toma de muestra (Anexo N°2).

Se insertó un espéculo vaginal estéril para la visualización del cuello uterino. Se insertó un cepillo en el endocérvix, de 1 a 1,5 cm, desde el orificio externo del cuello uterino, hasta que las cerdas externas del cepillo toquen el cuello uterino. El cepillo gira tres veces en sentido antihorario. El cepillo no está completamente insertado en el canal cervical. Terminada la operación, se retiró el cepillo celular del canal cervical y se colocó en un tubo Falcón con una solución conservante para mantener la integridad de la muestra (contiene tampón fosfato PBS), evitando así que las cerdas entren en contacto con el tubo o cualquier otro externo. Los sujetos también se marcaron con un código de paciente, que se almacenó a -4 °C hasta su procesamiento.

2.3.5. Caracterización molecular de muestras

La identificación de virus papiloma humano de pacientes de ginecología del Hospital Regional Lambayeque se evaluó mediante marcadores moleculares por la técnica de PCR convencional.

2.3.5.1. Extracción y purificación de ADN mediante salting-out

Método de purificación basado en ADN genómico, utilizado para identificar la extracción de ADN del virus del papiloma humano (Sargent, 2004).

Se realizó el siguiente procedimiento:

- **Tratamiento previo:**

Se agitó con vórtex el tubo que contiene el citocepillo, a fin de desprender todas las células que puedan quedar en el mismo. Se retiró con cuidado el citocepillo y toda la solución restante, se traspasó a un tubo de 1.5 ml. Se concentró la muestra por

centrifugación a 12 000 rpm por 5 minutos, luego se eliminó todo el sobrenadante y se añadió el tubo blanco de extracción.

- **Extracción y purificación:**

Se agregó 360 μ l de tampón de lisis y 3 μ l de β -mercaptoetanol a la muestra. Se incubó en un baño de agua a 65 °C durante una (1) hora, agitando cada 10 minutos. Se agregó 90 μ L de acetato de potasio 8 M, se centrifugó a 12 000 rpm durante 5 minutos y luego se recuperó el sobrenadante en otro tubo de ensayo de 1,5 ml; se repitió este paso dos veces.

- **Precipitación:**

Se añadió 450 μ L de isopropanol y se centrifugó a 12 000 rpm por 5 minutos, luego se eliminó el sobrenadante. Se lavó con 450 μ L de etanol al 70 % y se centrifugó a 12 000 rpm por 5 minutos. Luego se dejó secar hasta eliminar la humedad. Se resuspendió en 25 μ L de H₂O PCR.

2.3.5.2. Determinación de la cantidad y la calidad de ADN

La calidad e integridad del ADN genómico se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa y la electroforesis en gel de agarosa se preparó con tampón TAE a una concentración del 1%. Para ello, se disolvió la agarosa en tampón TAE y esta se calentó en el microondas hasta que hirvió, luego se vertió en el soporte con un peine hasta que gelificó. Se colocó el gel preparado en la cámara de electroforesis que contiene el tampón TAE 1X.

En los pocillos del gel de agarosa, se cargó 1 μ L de muestra que se ha mezclado con 1 μ L de colorante de tampón de carga y 8 μ L de H₂O PCR. Bajo la fuente de alimentación, se aplicó una corriente a 30 V durante 10 minutos, 70 V durante 30 minutos y 30 V durante

10 minutos. Posteriormente, el gel se tiñó en una solución de bromuro de etidio con una concentración de 0,5 mg / mL, y luego se observó la imagen de ADN y se capturó con una foto con el dispositivo de documentos *PharosFx Plus*.

La calidad y cantidad de ADN se determinó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%. La cuantificación se realizó usando un marcador con una concentración conocida.

2.3.5.3. Conservación del ADN

El ADN se rehidrató añadiendo 50 µL de H₂O PCR y se mantuvo a 4 °C hasta su posterior análisis.

2.3.5.4. Amplificación de ADN

El ADN que se extrajo se amplificó mediante técnica de PCR. Todas las muestras se amplificarán para los primers MY09 y MY11, y un control interno de calidad para verificar si es ADN amplificable BGH con los primers PC04/GH20. Para observar sus componentes ver Tabla N° 1 y N°2 (anexos).

2.3.5.5. Preparación del mix de reacción

La preparación del mix de reacción para PCR BGH y VPH se llevó a cabo según la Tabla N° 1 y N° 2 (anexos) a un volumen final de 12,5 µL en cada reacción.

2.3.5.6. Condiciones termodinámicas de reacción

La reacción de amplificación de VPH PCR se realizó en un termociclador *Eppendorf* y la secuencia de oligonucleótidos MY09/MY11 con la secuencia MY09 (CGTCCMARRGGAWACTGATC), MY11 (GCMCAGGGWCATAAYAATGG) y PC04/GH20. Las

condiciones termodinámicas óptimas constaron de los siguientes pasos:

- Prenaturalización: 3 minutos a 94 °C.
- Anillamiento (annealing): 35 ciclos por 45 segundos a 94 °C, 1 minuto a 55 °C y 1 minuto a 72 °C.
- Extensión: a 72 °C por 7 minutos.

2.3.5.7. Electroforesis y visualización de banda

Las muestras resuspendidas fueron examinadas por electroforesis en un gel de agarosa al 1,5 % usando un marcador de peso molecular de 100 pares de bases. Posteriormente, se llevó a una corrida electroforética a 70 V por 10 minutos y luego a 120 V por 45 minutos. Luego los geles se tiñeron por 10 minutos en una solución de concentración 0.5 mg/mL de bromuro de etidio. Para su visualización se empleó un scanner molecular, marca Pharos Fx Plus.

2.3.6. Análisis estadísticos

El procesamiento de los geles de identificación se fotodocumentó mediante el escáner molecular Pharos Fx Plus Biorad, las bandas registradas se procesaron por el software Quantity One Biorad (Análisis flexible de carriles y bandas, analizador de pureza y cuantificación).

El análisis de la prueba de VPH en la muestra de cuello uterino se consideró positivo o negativo, se utilizó la prueba de chi-cuadrado y t-student para el análisis bivariado y así establecer la media. Y si las características epidemiológicas están relacionadas con la infección, se establece un intervalo de confianza OR del 95 % (IC) petróleo crudo. Considerando que el nivel de significancia es 0,05, se utiliza el software estadístico Stata versión 14.

2.3.7. Consideraciones éticas

El protocolo de investigación ha sido aprobado por el Comité de Ética del Hospital Regional Lambayeque. Todas las mujeres que participaron en el estudio firmaron un formulario de consentimiento informado personal, explicando e investigando la información con anticipación. El procesamiento de todos los informes de datos y resultados respeta la confidencialidad de los participantes. En cuanto a la confidencialidad de los datos, los investigadores siguieron el acuerdo del Hospital Regional de Lambayeque en la divulgación de los datos de los pacientes. Con respecto a la privacidad y el consentimiento informado, los investigadores obtuvieron el consentimiento informado de los pacientes o sujetos referidos. La población se beneficiará del diagnóstico e identificación precoces del virus del papiloma humano.

III. RESULTADOS

Se analizaron 187 muestras de pacientes del Área de Ginecobstetricia del Hospital Regional Lambayeque, entre abril a mayo de 2019, 53 tuvieron un resultado positivo (29,94 %) y 124 pacientes un resultado negativo para la prueba (70,06 %) (Figura 1). En cuanto a la procedencia de las pacientes, fueron de Chiclayo, 79 (44,63 %); La Victoria, 16 (9,04 %); y José Leonardo Ortiz, 26 (14,69 %) en mayor proporción del distrito de Chiclayo, Lambayeque y 56 (31,64 %) fuera de Chiclayo, ver Figura 2.

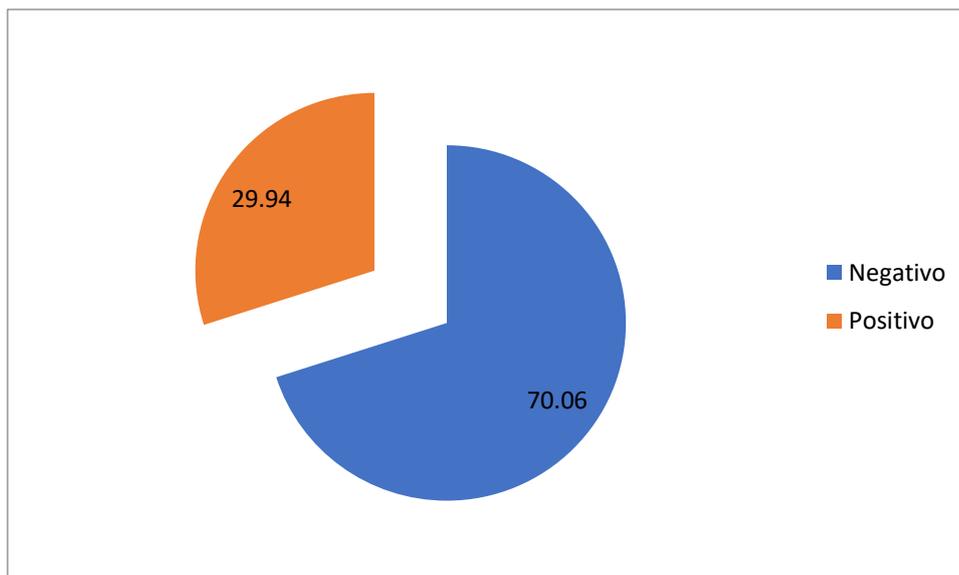


Figura 1. Prevalencia de VPH de pacientes atendidas en el área de ginecobstetricia.

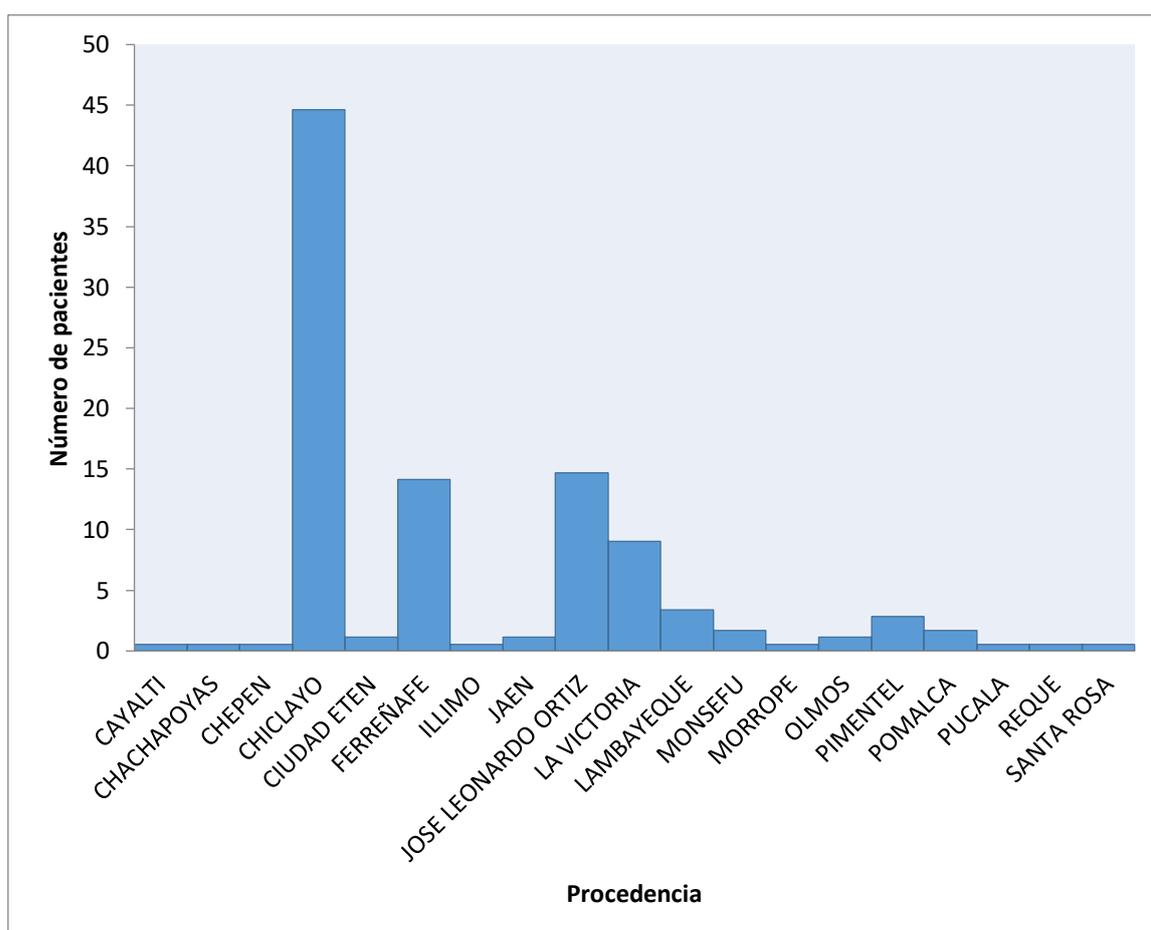


Figura 2. Procedencia de pacientes atendidas en el área de ginecobstetricia.

Se encontró una edad media de 45,12 años, una media de 18 para el inicio de vida sexual, una media de una pareja sexual y una pareja sexual en los últimos seis meses, ir a la Tabla N° 3.

Tabla 3. Factores asociados de pacientes que se atienden en el área de ginecología del Hospital Regional Lambayeque.

	N	%
Edad*	45,12	11,86
Primera RS+	18	16 a 21
Número parejas sexuales+	1	1 a 2
Parejas en los últimos 6 meses+	1	1
Número partos vaginales*	2,24	1,49
Lesión cervical	23	12,99
Antecedente ITS	5	2,82
Anticonceptivo hormonal	135	76,27
Uso de condón		
Nunca	90	50,85
Frecuentemente	82	46,33
Siempre	5	2,82
No fumadora	22	12,43
Resultado+	53	29,94

***Se usó la media y DS. + Se usó la mediana y RIQ. RS: Relación sexual**

No se encontró diferencia estadística significativa entre los factores de edad de la primera relación sexual, número de partos vaginales, lesión de cuello uterino,

antecedente de ITS, uso de anticonceptivo hormonal y de barrera (condón), promiscuidad, tabaquismo con un resultado positivo (Tabla 4).

Tabla 4. Factores asociados en de pacientes que se atienden en el área de ginecobstetricia del Hospital Regional Lambayeque con resultado positivo.

Diferencias según resultado de prueba de VPH				
	Positivo	Negativo	p	IC 95%
Edad*	47,43 (10,71)	44,15 (12,23)	0,091	-7,11 a 0,53
Primera RS+	18 (17 a 22)	18 (16 a 21)	0,489	-1,69 a 0,81
Número partos vaginales*	2,34 (1,57)	2,2 (1,46)	0,57	-0,62 a 0,35
Lesión cuello uterino (Si)	6 (26,09)	17 (73,91)	0,665	0,34 a 1,97
Lesión cuello uterino (No)	47 (30,52)	107 (69,48)		
Antecedente ITS (Si)	1 (20)	4 (80)	0,622	0,66 a 5,11
Antecedente ITS (No)	52 (30,23)	120 (69,77)		
Anticonceptivo hormonal (Si)	40 (26,63)	95 (70,37)	0,87	0,82 a 1,18
Anticonceptivo hormonal (No)	13 (30,95)	29 (62,05)		
Uso de condón				
Frecuentemente/Siempre	25 (28,74)	62 (68,89)	0,73	0,67 a 1,31
Nunca	28 (31,11)	62 (71,26)		

Fumadora (Si)	5 (22,73)	17 (77,27)	0,429	0,26 a 1,76
Fumadora (No)	48 (30,97)	107 (69,03)		

***Se usó la media y DS. + Se usó la mediana y RIQ. RS: Relación sexual**

Para ver las capturas fotográficas de los geles de agarosa (ver figuras 3-6) en anexos.

IV. DISCUSIÓN

Con una media de edad de 45 años, en este estudio se obtuvo un resultado positivo para virus papiloma humano de 29,94 %, estos resultados se asemejan a los resultados encontrados por Mendoza et al. (2012) en la que se detectó alta frecuencia de VPH de 21 %, estos resultados se asemejan también al estudio de Winer et al. (2003) con 32,3 %. Nuestro estudio difiere con los resultados de De Brot et al. (2017) donde encontró una alta prevalencia (63 %) en una población brasileña y el estudio de Ingabire et al. (2017), en el que se encontró que el 8,6 % de pacientes fueron positivas a VPH. Serquén-López et al. (2018), en su estudio llevado a cabo en la región de Lambayeque (Perú), encontró 23,5 % de trabajadoras sexuales con resultado positivo para VPH en trabajadoras sexuales, un resultado similar a los encontrados en esta investigación.

En cuanto al inicio de la vida sexual activa fue de 18 años, una media de una pareja sexual, y se evaluó promiscuidad mediante el número de parejas sexuales en los últimos seis meses, en el que se encontró una media de una pareja sexual. No obstante, este resultado difiere de los obtenidos en otros estudios en los que la promiscuidad y el número de parejas sexuales son factores de infección por VPH (Bosch et al., 2002; Sathian et al., 2017), y del estudio de Franceschi et al. (2009), en el que menciona que la relación entre

infección por VPH y la edad de la primera relación sexual incrementa la infección por VPH. La promiscuidad incrementa el riesgo de contraer infecciones de transmisión sexual (Grossman, 2013). Estos son factores de riesgo sexual asociados con la infección por VPH (Rohde et al., 2018).

En este estudio no se encontró asociación entre estos factores y un resultado positivo para VPH. En el estudio de Rodríguez-álvarez et al. (2018) se encontró una fuerte asociación entre la infección por VPH y la promiscuidad, estos resultados difieren de lo encontrado en esta investigación, quizás porque la población es conservadora y el número de parejas recientes fue bajo (Schmitt & Shackelford, 2008).

Se observó en este estudio que el número de partos vaginales tuvo una media de 2,24; en el que no tuvo una asociación significativa con el riesgo de infección por VPH. Estos resultados son similares en los encontrados en el estudio de Alirezai et al. (2020) entre el número de nacimientos y la infección por VPH. Una alta paridad es también un factor de riesgo para la infección de VPH (Silvia Franceschi et al., 2003).

En este estudio, menos de la mitad de las pacientes declaró usar condón como método anticonceptivo de barrera. Los estudios indican que el uso de condones son factores de protección contra el VPH, su falta puede ser un factor de riesgo en la infección de VPH (Rodríguez-álvarez et al., 2018). Un grupo pequeño de pacientes era fumadora y usaba anticonceptivos hormonales por largo tiempo (>5 años), estos son factores de riesgo importantes en la infección por VPH (Hellberg & Stendahl, 2005). El uso prologando de anticonceptivos hormonales incrementa el riesgo de una infección persistente de VPH (Smith et al., 2003). Las mujeres fumadoras tienen mayor riesgo de tener CC por una infección persistente de VPH (Hellberg & Stendahl, 2005).

No se encontró significancia estadística entre el haber tenido alguna lesión de cuello uterino y la infección por virus del papiloma humano, esto difiere de estudios como el de Bosch et al. (2002), Oliveira et al. (2017), Motoyama et al. (2004), Naqvi et al. (2004) y Harden & Munger (2017) en que se encontró mayor frecuencia de VPH en pacientes con estos antecedentes.

Según los resultados de este estudio los factores como el número de parejas sexuales y la infección por VPH no tienen relación. Esto puede deberse a que se realizó el estudio en una población bajo número de parejas sexuales, una sociedad conservadora, siendo este factor importante en el contagio y la persistencia del VPH en el organismo. Se encontró también que poca población es fumadora por lo que este factor carcinogénico no se podría reflejar muy bien en la población ya que se necesitaría una mayor población fumadora participante en el estudio. Se pudo ver que un porcentaje significativo de las pacientes fueron violadas iniciando así su vida sexual, además que las pacientes tenían tendencia a disminuir el número de parejas sexuales durante la entrevista, al igual que hubo mucho desconocimiento entre los tipos de métodos anticonceptivos.

Una fortaleza de este estudio es que se trató de recopilar toda la información que se pudo por medio de la ficha de datos, ya que normalmente en los servicios de los hospitales existen muchos datos faltantes, lo que dificulta una correcta recopilación de datos. Las muestras con resultado indeterminado se repitieron hasta encontrar un resultado final. Los resultados de este estudio podrán dar una mejor visión a los servicios ginecológicos y oncológicos de los hospitales, y permitirán mejorar los programas de tamizaje ya que se encontraron estos resultados en pacientes con citología negativa. Este es uno de los primeros estudios llevados a cabo en la región Lambayeque.

Una debilidad del estudio es no haber genotipificado a las muestras positivas de VPH ni haber incluido en otro grupo a las pacientes con carcinoma epiteliales en cualquiera de sus estadios, lo cual habría dado una mejor visión de los tipos que están circulando por la región. Se recomienda, en estudios posteriores, incrementar el número de muestra, estratificando mejor a las pacientes, y ampliando la prueba a los varones ya que son estos los reservorios de la enfermedad. Se debe fortalecer la investigación en este tema que es una importante causa de mortalidad femenina.

V. CONCLUSIONES

- Se encontró que el 29,94 % de las pacientes que fueron atendidas en el área de ginecología del Hospital Regional Lambayeque entre los meses de abril a mayo de 2019 está infectada con virus papiloma humano.
- No se encontró diferencia estadística significativa entre la infección por virus del papiloma humano y la edad, la edad de primera relación sexual, promiscuidad, número de partos vaginales, lesión cervical, antecedente de ITS, uso de anticonceptivo hormonal, uso del condón y tabaquismo.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios cohorte en población de riesgo con tamizaje molecular de VPH del Hospital Regional Lambayeque.
- Se debe usar nuevas técnicas moleculares para el diagnóstico de VPH más precisas como el PCR-RT.
- La toma de muestra es fundamental por lo tanto debe ponerse énfasis en esta parte del proceso, así como en su conservación.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alirezaei, M., Movahhed, T. K., Khazani, M., Mansour, F. N., Zarean, M., Hamta, A., & Fotouhi-Ardakani, R. (2020). Assessing genetic evolution and detecting human papillomavirus by matching two complementary highly sensitive approaches, nested-qPCR and sequencing. *Infection, Genetics and Evolution*, 81, 104274. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104274>
- American College of Obstetricians and Gynecologists. (2005). ACOG Practice Bulletin #61: Human Papillomavirus. *Obstetrics & Gynecology*, 105(4), 905–918. <https://doi.org/10.1097/00006250-200504000-00056>
- Appleby, P., Beral, V., Berrington De González, A., Colin, D., Franceschi, S., Goodill, A., Green, J., Peto, J., Plummer, M., & Sweetland, S. (2006). Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: Collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *International Journal of Cancer*, 118(6), 1481–1495. <https://doi.org/10.1002/ijc.21493>
- Baseman, J. G., & Koutsky, L. A. (2005). The epidemiology of human papillomavirus infections. *Journal of Clinical Virology*, 32, 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.12.008>
- Bernard, H. (2005). The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *Journal of Clinical Virology*, 32(SUPPL.), 1. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.10.021>
- Bernard, H., Burk, R. D., Chen, Z., van Doorslaer, K., zur Hausen, H., & de Villiers,

- E.-M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, 401(1), 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.02.002>
- Bosch, F. X., Broker, T. R., Forman, D., Moscicki, A.-B.-B., Gillison, M. L., Doorbar, J., Stern, P. L., Stanley, M., Arbyn, M., Poljak, M., Cuzick, J., Castle, P. E., Schiller, J. T., Markowitz, L. E., Fisher, W. A., Canfell, K., Denny, L. A., Franco, E. L., Steben, M., ... Related Diseases'Vaccine Volume 30 Supplement 5, 2012. (2013). Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*, 31(Suppl 5), 1. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.07.026>
- Bosch, F. X., Burchell, A. N., Schiffman, M., Giuliano, A. R., de Sanjose, S., Bruni, L., Tortolero-Luna, G., Kjaer, S. K., & Muñoz, N. (2008). Epidemiology and Natural History of Human Papillomavirus Infections and Type-Specific Implications in Cervical Neoplasia. *Vaccine*, 26, K1–K16. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.05.064>
- Bosch, F. X., Lorincz, A., Muñoz, N., Meijer, C. J. L. M., & Shah, K. V. (2002). The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of Clinical Pathology*, 55(4), 244–265. <https://doi.org/10.1136/jcp.55.4.244>
- Brebi M, P., Ili G, C. G., López M, J., García M, P., Melo A, A., Montenegro H, S., Leal R, P., Guzmán G, P., & Roa S, J. C. (2009). Detección y tipificación de virus papiloma humano en adenocarcinoma de cuello uterino mediante reverse line blot, Región de La Araucanía, Chile. *Revista Medica de Chile*, 137(3), 377–382. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872009000300008>
- Chen, A. A., Gheit, T., Franceschi, S., Tommasino, M., & Clifford, G. M. (2015). Human Papillomavirus 18 Genetic Variation and Cervical Cancer Risk Worldwide. *Journal of Virology*, 89(20), 10680–10687. <https://doi.org/10.1128/JVI.01747-15>
- Coico-Vega, M. M., Iglesias-Osores, S., & Aguilar-Gamboa, F. R. (2018). Detección de oncoproteínas e6/e7: una alternativa para el tamizaje de cáncer de cérvix. *Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque*, 4(3).

<http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/245>

- D'Souza, G., Kreimer, A. R., Viscidi, R., Pawlita, M., Fakhry, C., Koch, W. M., Westra, W. H., & Gillison, M. L. (2007). Case–Control Study of Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer. *New England Journal of Medicine*, *356*(19), 1944–1956. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa065497>
- De Brot, L., Pellegrini, B., Moretti, S. T., Carraro, D. M., Soares, F. A., Rocha, R. M., Baiocchi, G., da Cunha, I. W., & de Andrade, V. P. (2017). Infections with multiple high-risk HPV types are associated with high-grade and persistent low-grade intraepithelial lesions of the cervix. *Cancer Cytopathology*, *125*(2), 138–143. <https://doi.org/10.1002/cncy.21789>
- de Sanjosé, S., Diaz, M., Castellsagué, X., Clifford, G., Bruni, L., Muñoz, N., & Bosch, F. X. (2007). Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. En *Lancet Infectious Diseases* (Vol. 7, Número 7, pp. 453–459). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70158-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70158-5)
- de Sanjose, S., Quint, W. G., Alemany, L., Geraets, D. T., Klaustermeier, J. E., Lloveras, B., Tous, S., Felix, A., Bravo, L. E., Shin, H. R., Vallejos, C. S., de Ruiz, P. A., Lima, M. A., Guimera, N., Clavero, O., Alejo, M., Llombart-Bosch, A., Cheng-Yang, C., Tatti, S. A., ... Bosch, F. X. (2010). Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *The Lancet Oncology*, *11*(11), 1048–1056. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70230-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70230-8)
- Doerfler, D., Bernhaus, A., Kottmel, A., Sam, C., Koelle, D., & Joura, E. A. (2009). Human papilloma virus infection prior to coitarche. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *200*(5), 487.e1-487.e5. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.12.028>
- Doorbar, J. (2005). The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology*, *32*(SUPPL.), 7. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.12.006>
- Doorbar, J. (2006). Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical Science*, *110*(5), 525–541.

<https://doi.org/10.1042/CS20050369>

Ferlay, J., Shin, H.-R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. (2010).

Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008.

International Journal of Cancer, 127(12), 2893–2917.

<https://doi.org/10.1002/ijc.25516>

Finnen, R. L., Erickson, K. D., Chen, X. S., & Garcea, R. L. (2003). Interactions

between Papillomavirus L1 and L2 Capsid Proteins. *Journal of Virology*,

77(8), 4818–4826. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.8.4818-4826.2003>

Fouéré, S., Biver-Dalle, C., Prétet, J.-L., Mougin, C., & Aubin, F. (2016). Lesiones

cutáneas y mucosas asociadas al virus del papiloma humano. *EMC -*

Dermatología, 50(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/s1761-2896\(16\)76333-](https://doi.org/10.1016/s1761-2896(16)76333-3)

3

Franceschi, S., Plummer, M., Clifford, G., de Sanjose, S., Bosch, X., Herrero, R.,

Muñoz, N., & Vaccarella, S. (2009). Differences in the risk of cervical cancer

and human papillomavirus infection by education level. *British Journal of*

Cancer, 101(5), 865–870. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605224>

Franceschi, Silvia, Rajkumar, T., Vaccarella, S., Gajalakshmi, V., Sharmila, A.,

Snuders, P. J. F., Muñoz, N., Meijer, C. J. L. M., & Herrero, R. (2003). Human

papillomavirus and risk factors for cervical cancer in Chennai, India: A

case-control study. *International Journal of Cancer*, 107(1), 127–133.

<https://doi.org/10.1002/ijc.11350>

Graham, S. V. (2010). Human papillomavirus: Gene expression, regulation and

prospects for novel diagnostic methods and antiviral therapies. *Future*

Microbiology, 5(10), 1493–1506. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.107>

Graham, S. V. (2017). The human papillomavirus replication cycle, and its links

to cancer progression: A comprehensive review. *Clinical Science*, 131(17),

2201–2221. <https://doi.org/10.1042/CS20160786>

Gravitt, P. E., & Manos, M. M. (1992). Polymerase chain reaction-based methods

for the detection of human papillomavirus DNA. *IARC scientific publications*,

119, 121–133. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1330905>

- Gravitt, P. E., Peyton, C. L., Alessi, T. Q., Wheeler, C. M., Coutlée, F., Hildesheim, A., Schiffman, M. H., Scott, D. R., & Apple, R. J. (2000). Improved amplification of genital human papillomaviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1), 357–361.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88724/pdf/jm000357.pdf>
- Grossman, L. C. (2013). Sexually transmitted infections. En *Porth's Pathophysiology: Concepts of Altered Health States: Ninth Edition* (pp. 1–2). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781118663219.wbegss064>
- Harden, M. E., & Munger, K. (2017). Human papillomavirus molecular biology. En *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 772, pp. 3–12). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.07.002>
- Hellberg, D., & Stendahl, U. (2005). The biological role of smoking, oral contraceptive use and endogenous sexual steroid hormones in invasive squamous epithelial cervical cancer. *Anticancer Research*, 25(4), 3041–3046.
- Hildesheim, A., Schiffman, M. H., Gravitt, P. E., Glass, A. G., Greer, C. E., Zhang, T., Scott, D. R., Rush, B. B., Lawler, P., Sherman, M. E., Kurman, R. J., & Manos, M. M. (1994). Persistence of type-specific human papillomavirus infection among cytologically normal women. *Journal of Infectious Diseases*, 169(2), 235–240. <https://doi.org/10.1093/infdis/169.2.235>
- Ho, G. Y. F., Burk, R. D., Klein, S., Kadish, A. S., Chang, C. J., Palan, P., Basu, J., Tachezy, R., Lewis, R., & Romney, S. (1995). Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *Journal of the National Cancer Institute*, 87(18), 1365–1371.
<https://doi.org/10.1093/jnci/87.18.1365>
- Howe, J. R., Klimstra, D. S., & Cordon-Cardo, C. (1997). DNA extraction from paraffin-embedded tissues using a salting-out procedure: a reliable method for PCR amplification of archival material. *Histology and histopathology*, 12(3), 595–601. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9225139>

- Huang, S.-S., Hao, D.-Z., Zhang, Y., Liu, H.-M., & Shan, W.-S. (2017). Progress in studies of the mechanisms and clinical diagnosis of cervical carcinoma associated with genomic integration of high-risk human papillomavirus DNA. *Yi chuan = Hereditas*, 39(9), 775–783.
<https://doi.org/10.16288/j.ycz.17-151>
- Iglesias-Osores, Sebastian, & Pando-Sánchez, H. (2017). Tamizaje en cáncer de cérvix como prevención. *Revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque*, 3(2), 82.
<https://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/91/82>
- Iglesias-Osores, Sebastián, & Serquén-López, L. M. (2020). Virus papiloma humano y factores asociados en pacientes con citología desconocida atendidas en el norte de Perú. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 66(3), 1–7.
- Ingabire, C., Lim, M. K., Won, Y.-J., & Oh, J.-K. (2017). HPV Genotype-Specific Persistence and Potential Risk Factors Among Korean Women: Results from a 2-Year Follow-up Study. *Cancer Research and Treatment*, 1–26.
<https://doi.org/10.4143/crt.2017.340>
- Ishmael, F. T., & Stellato, C. (2008). Principles and applications of polymerase chain reaction: basic science for the practicing physician. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 101(4), 437–443. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)60323-7](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)60323-7)
- Krishnan, K., & Thomas, A. (2016). Correlation of cervical cytology with high-risk HPV molecular diagnosis, genotypes, and histopathology - A four year study from the UAE. *Diagnostic Cytopathology*, 44(2), 91–97.
<https://doi.org/10.1002/dc.23391>
- Leaungwutiwong, P., Bamrungsak, B., Jittmittraphap, A., Maneekan, P., Kosoltanapiwat, N., Kalambaheti, T., & Kelley, J. F. (2015). Molecular Genotyping of Human Papillomavirus L1 Gene in Low-Risk and High-Risk Populations in Bangkok. *Sexually Transmitted Diseases*, 42(4), 208–217.
<https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000259>

- Lewis, M. J. (2004). Análisis de la situación del cáncer cervicouterino en América Latina y el Caribe. En *Organización Mundial De La Salud*. [https://doi.org/ISBN 92 75 32531 6](https://doi.org/ISBN%2092%2075%2032531%206)
- López, J. M., Gloria Ili, C. G., Brebi, P. M., García, P. M., Capurro, I. V, Guzmán, P. G., Suárez, E. P., Manuel Ojeda, J. F., & Carlos Roa, J. S. (2010). Detección y tipificación de virus papiloma humano en lesiones preneoplásicas de cuello uterino. *Rev Med chile*, *138*, 1343–1350. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v138n11/Art01.pdf>
- Lopez, M. S., Baker, E. S., Maza, M., Fontes-Cintra, G., Lopez, A., Carvajal, J. M., Nozar, F., Fiol, V., & Schmeler, K. M. (2017). Cervical cancer prevention and treatment in Latin America. *Journal of Surgical Oncology*, *115*(5), 615–618. <https://doi.org/10.1002/jso.24544>
- Luciani, S., & Winkler, J. (2006). Prevención del cáncer cervicouterino en el Perú: Lecciones aprendidas del proyecto demostrativo TATI. En *Organización Panamericana de la Salud*. [https://doi.org/ISBN 9275326746](https://doi.org/ISBN%209275326746)
- Luque, J. S., Maupin, J. N., Ferris, D. G., & Guevara Condorhuaman, W. S. (2016). Reaching women in the Peruvian andes through cervical cancer screening campaigns: Assessing attitudes of stakeholders and patients. *Patient Preference and Adherence*, *10*, 2107–2116. <https://doi.org/10.2147/PPA.S119886>
- Ma, S., Stern, J. E., Feng, Q., Hughes, J. P., Hawes, S. E., & Winer, R. L. (2017). Incidence and risk factors for human papillomavirus infections in young female online daters. *Journal of Medical Virology*, *89*(11), 2029–2036. <https://doi.org/10.1002/jmv.24891>
- Mcbride, A. A. (2017). Oncogenic human papillomaviruses. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, *372*(1732). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0273>
- Melo, A., Vásquez, A. M., Andana, A., Matamala, M., Pino, T., Guzmán, P., Hoffstetter, R., Ili, C., Brebi, P., & Roa, J. C. (2014). Genotipificación del virus papiloma humano en mujeres bajo 25 años de edad participantes del

Programa Nacional del Cáncer Cérvico-uterino en la Región de la Araucanía, Chile. *Revista chilena de infectología*, 31(5), 542–548.
<https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000500005>

- Mendoza, L., Arbiza, J., Páez, M., Kasamatsu, E., Castro, A., Giménez, G., Basiletti, J., Gonzalez, J., Mongelós, P., & Picconi, M. (2012). Características clínico-demográficas y tipificación del virus de papiloma humano en mujeres paraguayas con citologías negativas para lesión escamosa intraepitelial. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud Junio*, 10(1), 46–55. <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v10n1/v10n1a06.pdf>
- Montoya-Fuentes, H., Rodriguez-Martin, A., Pena-Iniguez, D. I., Gonzalez-Bonilla, C. R., Rosales-Gomez, R. C., Gallegos-Arreola, M. P., Santoscoy-Ascencio, G., & Gutierrez-Rubio, S. A. (2020). Molecular Detection and Typing of Human Papillomavirus in Men from Northwestern Mexico. *Archives of Medical Research*, 56(7), 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.06.019>
- Moody, C. (2017). Mechanisms by which HPV Induces a Replication Competent Environment in Differentiating Keratinocytes. *Viruses*, 9(9), 261.
<https://doi.org/10.3390/v9090261>
- Motoyama, S., Ladines-Llave, C. A., Luis Villanueva, S., & Maruo, T. (2004). The role of human papilloma virus in the molecular biology of cervical carcinogenesis. *The Kobe journal of medical sciences*, 50(1), 9–19.
<http://www.med.kobe-u.ac.jp/journal/contents/50/9.pdf>
- Naqvi, S. H., Wajid, S., & Mitra, A. B. (2004). Restriction fragment length polymorphism of L1 amplicon using Rsa 1 detects five different human papillomavirus types and their co-infections among women attending a gynaecological outpatient department. *Journal of Virological Methods*, 117(1), 91–95. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2003.12.002>
- Oliveira, G. R. de, Siqueira, J. D., Finger-Jardim, F., Vieira, V. C., Silva, R. L., Gonçalves, C. V, Soares, E. A., Martinez, A. M. B. de, & Soares, M. A. (2017). Characterisation of complete high- and low-risk human papillomavirus genomes isolated from cervical specimens in southern Brazil. *Memorias do*

Instituto Oswaldo Cruz, 112(10), 728–731. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170121>

Ortiz-Uribe, W., Iglesias-Osores, S., & Rafael-Heredia, A. (2020). Relación entre hallazgos citológicos e histológicos en pacientes de un hospital amazónico en Perú. *Universidad Médica Pinareña*, 17(1), e549. <http://revgaleno.sld.cu/index.php/ump/article/view/549>

Plummer, M., de Martel, C., Vignat, J., Ferlay, J., Bray, F., & Franceschi, S. (2016). Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *The Lancet Global Health*, 4(9), e609–e616. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(16\)30143-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(16)30143-7)

Reyna López, L., Gonzalez Cabeza, J., Araujo Jiménez, A., Avila Vereau, E., Gómez Castro, K., & Terán Rojas, Y. (2016). Detección y genotipificación de papiloma virus humano por PCR-RFLP en pacientes atendidas en el hospital distrital Walter Cruz Vilca La Libertad-2015. *Pueblo Continente*, 27(2), 331–342. <http://journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/view/687>

Rodríguez-álvarez, M. I., Gómez-Urquiza, J. L., Husein-El Ahmed, H., Albendín-García, L., Gómez-Salgado, J., & Cañadas-De la Fuente, G. A. (2018). Prevalence and risk factors of human papillomavirus in male patients: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10), 2210. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102210>

Rohde, R. L., Adjei Boakye, E., Christopher, K. M., Geneus, C. J., Walker, R. J., Varvares, M. A., & Osazuwa-Peters, N. (2018). Assessing university students' sexual risk behaviors as predictors of human papillomavirus (HPV) vaccine uptake behavior. *Vaccine*, 36(25), 3629–3634. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.05.022>

Sanoja, L. M. (2013). Detección y tipificación del virus del papiloma humano mediante reacción en cadena de polimerasa, en muestras cervicales de estudiantes. *Comunidad y Salud*, 11(2), 1–10. <http://www.redalyc.org/html/3757/375740253002/>

- Santos, C., Muñoz, N., Klug, S., Almonte, M., Guerrero, I., Alvarez, M., Velarde, C., Galdos, O., Castillo, M., Walboomers, J., Meijer, C., & Caceres, E. (2001). HPV types and cofactors causing cervical cancer in Peru. *British Journal of Cancer*, 85(7), 966–971. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6691948>
- Sargent, T. (2004). Current protocols in molecular biology. *Analytical Biochemistry*, 171(1), 223–224. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90147-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90147-9)
- Sathian, B., Babu, M. R., Van Teijlingen, E. R., Banerjee, I., Roy, B., Subramanya, S. H., Rajesh, E., & Devkota, S. (2017). Ethnic Variations in Perception of Human Papillomavirus and its Vaccination among Young Women in Nepal. *Nepal Journal of Epidemiology*, 7(1), 647. <https://doi.org/10.3126/nje.v7i1.17757>
- Schiffman, M., Herrero, R., Hildesheim, A., Sherman, M. E., Bratti, M., Wacholder, S., Alfaro, M., Hutchinson, M., Morales, J., Greenberg, M. D., & Lorincz, A. T. (2000). HPV DNA Testing in Cervical Cancer Screening. *JAMA*, 283(1), 87. <https://doi.org/10.1001/jama.283.1.87>
- Schmitt, D. P., & Shackelford, T. K. (2008). Big Five Traits Related to Short-Term Mating: From Personality to Promiscuity across 46 Nations. *Evolutionary Psychology*, 6(2), 147470490800600. <https://doi.org/10.1177/147470490800600204>
- Serquén-López, L. M., Iglesias-Osores, S. A., & Arce-Gil, Z. L. (2018). Prevalencia de Papilomavirus Humano en trabajadoras sexuales atendidas en dos centros de salud de Chiclayo. *Revista Del Cuerpo Médico Del HNAAA*, 10(4), 6–9. <https://cmhnaaa.org.pe/ojs/index.php/rcmhnaaa/article/view/21/21>
- Sijvarger, C. C., González, J. V., Prieto, A., Messmer, A. G., Mallimaci, M. C., Alonio, V. L., Teyssié, A. R., & Picconi, M. A. (2006). Epidemiología de la infección cervical por virus Papiloma humano en Ushuaia, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 38(1), 19–24. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v38n1/v38n1a05.pdf>
- Smith, J. S., Green, J., Berrington De Gonzalez, A., Appleby, P., Peto, J., Plummer,

- M., Franceschi, S., & Beral, V. (2003). Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: A systematic review. *Lancet*, 361(9364), 1159–1167. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12949-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12949-2)
- Srivastava, A., Sinha, P., Vatsal, P., Khatoon, F., & Lal, N. (2020). Visual Inspection with Acetic Acid Versus Papanicolaou Test in Cervical Cancer Screening. *Indian Journal of Gynecologic Oncology*, 18(3), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s40944-020-00438-z>
- Sullcahuaman-Allende, Y., Castro-Mujica, M. del carmen, Mejía-Farro, R., Castaneda, C. A., Castillo, M., Dolores-Cerna, K., & Poquioma, E. (2015). Características sociodemográficas de mujeres peruanas con virus papiloma humano detectado por PCR-RFLP. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 32(3), 509–514. http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342015000300015&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Syrjänen, S, & Puranen, M. (2000). Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists*, 11(2), 259–274. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12002819>
- Syrjänen, Stina. (2010). Current concepts on human papillomavirus infections in children. En *APMIS* (Vol. 118, Números 6–7, pp. 494–509). <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2010.02620.x>
- Tao, X., Zheng, B., Yin, F., Zeng, Z., Li, Z., Griffith, C. C., Luo, B., Ding, X., Zhou, X., & Zhao, C. (2017). Polymerase Chain Reaction Human Papillomavirus (HPV) Detection and HPV Genotyping in Invasive Cervical Cancers with Prior Negative HC2 Test Results. *American Journal of Clinical Pathology*, 147(5), 477–483. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqx027>
- Tian, Y. B., & Zhang, C. T. (2018). Molecular detection and genotyping of human papillomavirus. *Zhonghua zhong liu za zhi [Chinese journal of oncology]*, 40(10), 729–735. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2018.10.003>

- Tsakogiannis, D., Diamantidou, V., Toska, E., Kyriakopoulou, Z., Dimitriou, T. G., Ruether, I. G. A., Gortsilas, P., & Markoulatos, P. (2015). Multiplex PCR assay for the rapid identification of human papillomavirus genotypes 16, 18, 45, 35, 66, 33, 51, 58, and 31 in clinical samples. *Archives of Virology*, *160*(1), 207–214. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2261-6>
- Tsakogiannis, D., Gartzonika, C., Levidiotou-Stefanou, S., & Markoulatos, P. (2017). Molecular approaches for HPV genotyping and HPV-DNA physical status. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, *19*, e1. <https://doi.org/10.1017/erm.2017.2>
- Valderrama, M. C., Campos, F. E., Cárcamo, C. P., & García, P. J. (2007). Factores asociados a lesiones cervicales o presencia del virus del papiloma humano en dos poblaciones de estudiantes de Lima. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, *24*(3), 234–239. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342007000300006&script=sci_arttext
- Webb Strickland, S., Brimer, N., Lyons, C., & Vande Pol, S. B. (2018). Human Papillomavirus E6 interaction with cellular PDZ domain proteins modulates YAP nuclear localization. *Virology*, *516*, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2018.01.003>
- Winer, R. L., Lee, S.-K., Hughes, J. P., Adam, D. E., Kiviat, N. B., & Koutsky, L. A. (2003). Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *American journal of epidemiology*, *157*(3), 218–226. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12543621>

VIII. ANEXOS

7.1. Consentimiento para participar en un estudio de investigación

CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

INSTITUCIÓN : HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE

INVESTIGADOR: Bach. Blgo. Sebastian A. Iglesias Osores

TÍTULO: PREVALENCIA DE VIRUS PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES DE GINECOBSTETRICIA DEL HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE, abril – mayo, 2019

Propósito del Estudio:

Lo estamos invitando a participar en el estudio denominado: PREVALENCIA DE VIRUS PAPILOMA HUMANO EN PACIENTES DE GINECOBSTETRICIA DEL HOSPITAL REGIONAL LAMBAYEQUE, abril – mayo, 2019. Este es un estudio desarrollado por investigadores del Hospital Regional Lambayeque, para estandarizar un protocolo que nos permita la detección precoz del virus papiloma humano empleando técnicas especializadas de Biología Molecular.

Esto nos permitirá utilizar técnicas moleculares como herramienta para la prevención del cáncer de cuello uterino. El papiloma virus humano nos permite detectar el riesgo de contraer cáncer de cuello uterino; siendo esta neoplasia, la primera en la región Lambayeque y es la primera causa de muerte por cáncer a nivel nacional en mujeres.

Procedimientos:

Se realizó una encuesta para recoger sus datos de manera personal y la toma de muestra será la misma del Papanicolaou.

Riesgos:

No se prevén riesgos por participar en esta fase del estudio. Pues no se realizó ninguna intervención ajena a la atención que viene recibiendo.

Beneficios:

Esta investigación permitirá generar evidencia sobre la presencia de la enfermedad bajo estudio, lo que redundará en mejores alternativas terapéuticas en beneficio a los pacientes.

Costos e incentivos:

Usted no deberá pagar nada por participar en el estudio. Igualmente, no recibirá ningún incentivo económico ni de otra índole, únicamente la satisfacción de colaborar a la generación de evidencia sobre su enfermedad.

Confidencialidad:

Nosotros guardaremos su información con códigos y no con nombres. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrará ninguna información que permita la identificación de las personas que participan en este estudio. Sus archivos no serán mostrados a ninguna persona ajena al estudio sin su consentimiento.

Derechos del paciente:

Si usted decide participar en el estudio, puede retirarse de éste en cualquier momento, o no participar en una parte del estudio sin perjuicio alguno. Si tiene alguna duda adicional, por favor pregunte al personal del estudio, o llamar al Blgo. Luis Miguel Serquén López (979925554) o Sebastian Iglesias (991547292).

Si usted tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar al Comité de Ética e Investigación del Hospital Regional Lambayeque, teléfono (074) 480433.

CONSENTIMIENTO:

Acepto voluntariamente QUE MI MUESTRA SEA PROCESADA PARA EL DIAGNÓSTICO Y GENOTIPIFICACIÓN DE VIRUS PAPILOMA HUMANO, comprendo en qué consiste esta prueba; y que no significa riesgo alguno ni procedimiento adicional a la toma de muestra de un Papanicolaou; también entiendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

Fecha : _____

Firma: _____

Testigo o Apoderado:

Fecha : _____

Firma: _____

Investigador:

Fecha : _____

Firma: _____

7.2. Concentraciones máster mix

Tabla 1. Concentraciones y volúmenes BGH Taq Platinum-Invitrogen.

BGH Taq Platinum-Invitrogen			
1 reacción			
	Conc. Inicial	Conc. final	Vol. inicial
Buffer 10x	10	1	1,25
Primer forward 10mM	10	0,2	0,25
Primer reverse 10mM	10	0,2	0,25
Dntps 5mM/C	5	0,2	0,5
MgCl ₂ 50mM	50	1,5	0,375
Platinum Taq 5U/ μ L	5	0,625	0,125
ADN	>100ng		3
Agua			6,75
Volumen final			12,5

Tabla 2. Concentraciones y volúmenes MY09-11 Taq Platinum-Invitrogen.

MY09-11 Taq Platinum-Invitrogen	
1 reacción	

	Conc. inicial	Conc. final	Vol. inicial
Buffer 10x	10	1	1,25
Primer forward 10mM	10	0,2	0,25
Primer reverse 10mM	10	0,2	0,25
Dntps 5mM/C	5	0,2	0,5
MgCl2 50mM	50	2,75	0,6875
Platinum Taq 5U/ μ L	5	0,625	0,125
ADN	>100ng		5
Agua			44,375
Volumen final			12,5

7.3.Ficha toma de datos Hospital Regional Lambayeque



CÓDIGO:

FECHA:

FICHA CLÍNICA - PCR VIRUS PAPILOMA HUMANO

DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS:

NOMBRE Y APELLIDOS:

EDAD:		SEXO:	F / M	DNI:	
PROCEDENCIA:		DISTRITO:		PROVINCIA:	
GRADO DE INSTRUCCIÓN (marcar):			ESTADO CIVIL: (encerrar o marcar)	SOLTERA	OCUPACIÓN:
PRIMARIA:	incompleta	completa		CONVIVIENTE	OCUPACIÓN DE LA PAREJA:
SECUNDARIA:	incompleta	completa		CASADA	
SUPERIOR:	incompleta	completa		SEPARADA O VIUDA	

FACTORES DE RIESGO:

EDAD 1° RELACION SEXUAL:			N° PAREJAS SEXUALES (últimos 6 meses):		
TOTAL DE PAREJAS SEXUALES (poner número):			0	1-2	≥3
ANTECEDENTE LESIÓN CÉRVIX:	SI	NO	ANTECEDENTE ITS: Hepatitis A, B, Sífilis, Gonorrea.	SI	NO
USO DE ANTICONCEPTIVOS HORMONALES:			USO DE ANTICONCEPTIVOS DE BARRERA:		
TIEMPO DE USO			CONDON:	NUNCA	FRECUENTE
NÚMERO DE PAREJAS SEXUAL			1-2	3-4	≥5
RELACIONES SEXUALES SIN PROTECCIÓN			NUNCA	FRECUENTE	SIEMPRE
FUMADORA:	NUNCA ANTES ACTUALIDAD	CANTIDAD		<5	5-14
		TIEMPO	AÑO	MES	SEMANA
					≥15 DÍA

DATOS CLÍNICOS

TIPO DE MUESTRA:

DIAGNÓSTICO CLÍNICO:

OBSERVACIONES:

TOMA DE MUESTRA:	PROCESAMIENTO MUESTRA:

7.4. Geles de agarosa

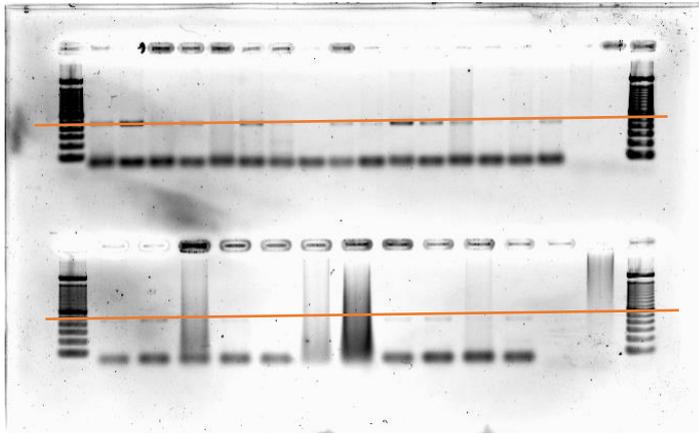


Figura 3. Gel de agarosa mostrando los valores de 450 pb (valor positivo VPH- línea naranja).

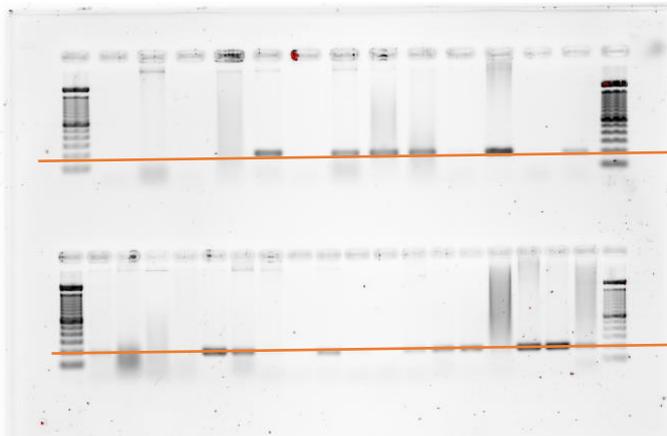


Figura 4. Gel de agarosa mostrando los valores de 260 pb (valor positivo BGH- línea naranja).

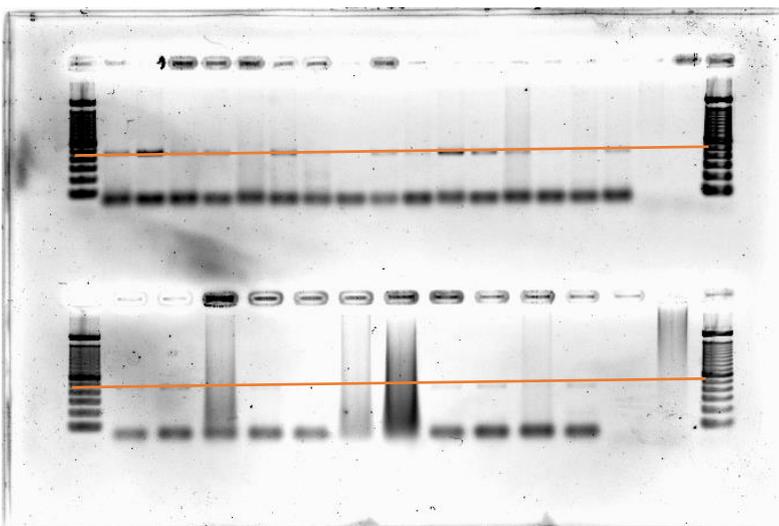


Figura 5. Gel de agarosa mostrando los valores de 450 pb (valor positivo- línea naranja).

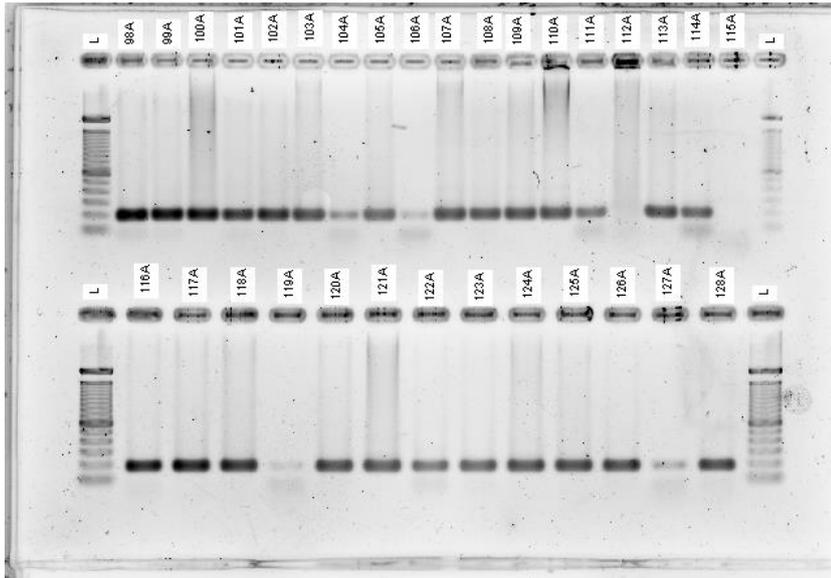


Figura 6. Gel de agarosa mostrando los valores de 450 pb negativos (valor positivo- línea naranja).