



Facultad de Medicina



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

**“PREVALENCIA DE GENOTIPOS VPH-16 Y VPH-18 DETECTADOS
MEDIANTE PCR EN MUESTRAS DE CITOLOGÍA CERVICAL EN EL
LABORATORIO ESTATAL DEL ESTADO DE COAHUILA”**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN MEDICINA (GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA)**

**PRESENTA:
DR. LUIS CARLOS PÉREZ GONZÁLEZ**

**ASESOR CLÍNICO:
DR. EDUARDO IVÁN GARZA GARZA**

HOSPITAL GENERAL SALTILLO

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO

NOVIEMBRE 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

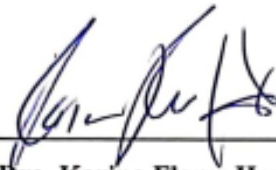
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE FIRMAS




Dr. Jorge Serrano Sandoval
Director del Hospital General de Saltillo



Dra. Karina Flores Hernández
Jefa de enseñanza e investigación del Hospital General de Saltillo



Dr. Allan Efraín Alatorre Ordaz
Profesor titular



Dr. Eduardo Iván Garza Garza
Asesor clínico



Dr. Miguel Ángel Valencia Moreno
Asesor metodológico y profesor titular del seminario de investigación



INDICE

I.	Introducción.....	11
1.1	Antecedentes bibliográficos y de investigación.....	11
1.1.2	Antecedentes históricos del Virus del Papiloma Humano.....	11
1.1.3	El descubrimiento del virus.....	12
1.1.4	Mecanismos genéticos virales de la infección	13
1.1.5	Variedades de VPH	14
1.1.6	Antecedentes históricos de la PCR.....	15
1.1.7	¿Qué elementos químicos se necesitan?.....	16
1.1.8	¿Cómo funciona la reacción?.....	17
1.1.9	PCR en tiempo real: Fundamentos.....	18
1.1.10	Algoritmo de detección y tamizaje en México y el Estado de Coahuila.....	19
1.1.11	Antecedentes de investigación.....	22
1.2	Planteamiento del problema.....	24
1.3	Justificación.....	25
1.4	Pregunta de investigación.....	26
1.5	Hipótesis	27
1.6	Objetivo	28
1.6.1	Objetivo General.....	28
1.6.2	Objetivo Específico	28
II.	Metodología	29
2.1	Tipo de investigación.....	29
2.2	Población de estudio y muestra	29
2.3	Ubicación espacio temporal	29
2.4	Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	29
2.4.1	Criterios de inclusión.....	29
2.4.2	Criterios de exclusión	30
2.4.3	Criterios de eliminación.....	30

2.5 Descripción de variables.....	31
2.6 Descripción del estudio	32
2.7 Recursos humanos.....	33
2.8 Recursos materiales	33
2.9 Aspectos de ética	33
2.10.Análisis estadístico	33
III. Resultados	34
IV. Discusión	42
V. Conclusiones	43
VI. Referencias bibliográficas	44
VII. Anexos	47

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1. Tabla de variables.....	31
Tabla 2. Tabla de cuantificación de muestras positivas por jurisdicción.....	36
Tabla 3. Edades de muestras positivas al genotipo VPH-16 en años 2021 y 2022.....	38
Tabla 4. Frecuencias de las edades de las muestras positivas al VPH-16.....	39
Tabla 5. Medidas de centralización de las edades de las muestras positivas al VPH-16.....	39
Tabla 6. Edades de muestras positivas al genotipo VPH-18 en años 2021 y 2022.....	40
Tabla 7. Frecuencias de las edades de las muestras positivas al VPH-18.....	41
Tabla 8. Medidas de centralización de las edades de las muestras positivas al VPH-18.....	41

Figuras

Figura 1. Prevalencia de muestras positivas a los genotipos VPH-16 y VPH-18 en rangos de edad.....	35
Figura 2. Mapa de porcentajes de muestras positivas al VPH-16 y VPH-18 por jurisdicción sanitaria del Estado de Coahuila.....	37

Anexos

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos.....	47
Anexo 2. Dictamen de aprobación del comité de ética en investigación.....	48

GLOSARIO

AGUS: Es un acrónimo utilizado en medicina para designar uno de los resultados posibles tras una prueba de citología, según el sistema de clasificación de Bethesda. El término proviene del inglés (Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance) y significa cambios en las células glandulares que no pueden ser específicamente clasificados.

ASCUS: También conocido como AGC ASCUS AGC es un acrónimo utilizado en medicina para designar uno de los resultados posibles tras una prueba de citología cervical, según el sistema de clasificación de Bethesda. El término proviene del inglés (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) y significa cambios atípicos en las células escamosas del cuello uterino que no pueden ser específicamente clasificados.

Cáncer: Tumor maligno en general, es la pérdida del control del crecimiento y división de las células que puede invadir y destruir estructuras adyacentes, y propagarse a sitios alejados para causar la muerte

Carcinoma in situ: Es una lesión en la que todo el epitelio o la mayor parte de él, muestra el aspecto celular de carcinoma. No hay invasión del estroma subyacente.

Carcinoma micro invasor del cuello uterino: Invasión mínima al estroma no mayor a 1mm; y con una extensión horizontal no mayor de 7mm.

Colposcopia: Procedimiento exploratorio en el que se emplea un aparato con sistema ópticos de aumento, a través del cual se puede observar la vulva, vagina y cérvix uterino, visualizándose, en éste último, las condiciones de su epitelio, al cual se le pueden realizar tinciones de orientación diagnóstica.

Displasia: Anomalía de desarrollo con pérdida de la estructura del epitelio, con alteraciones en la morfología de sus componentes celulares.

Hiperplasia atípica: Multiplicación anormal de las células que constituyen un tejido.

Histerectomía: Intervención quirúrgica para extirpar totalmente el útero por vía vaginal o abdominal.

Neoplasia cervical intraepitelial (abreviado NIC o también CIN por las siglas en inglés de cervical intraepithelial neoplasm) es un crecimiento anormal y precanceroso de células escamosas en el cuello uterino.

ABREVIATURAS

LSIL (lesión intraepitelial escamosa de bajo grado), se corresponde con CIN-I del antiguo sistema de clasificación. NIC1 (Grado I) es el tipo de menor riesgo. Se caracteriza por estar confinado al 1/3 basal del epitelio cervical.

HSIL (lesión intraepitelial escamosa de alto grado); se corresponde con CIN-II y III. NIC2 (Grado II) es considerado una lesión escamosa NIC2 intraepitelial de alto grado y representan una displasia moderada, confinada a los 2/3 basales del epitelio cervical. NIC3 (Grado III) en este tipo de lesión, también de alto grado, la displasia es severa y cubre más de los 2/3 de todo el epitelio cervical, en algunos casos incluyendo todo el grosor del revestimiento cervical. Esta lesión es considerada como un carcinoma in situ.

Papanicolau: método de tinción para demostrar células exfoliadas anormales pre-malignas y malignas.

PCR (reacción en cadena de la polimerasa) son una forma rápida y muy precisa de diagnosticar ciertas enfermedades infecciosas y cambios genéticos. Las pruebas detectan el ADN o el ARN de un patógeno (el organismo que causa una enfermedad) o células anormales en una muestra.

RESUMEN

Los virus del papiloma humano (VPH) son pequeños virus de DNA que causan alrededor del 5% de todos los cánceres en humanos, incluidos casi todos los casos de cáncer de cuello uterino.

El cáncer cervical es un problema de salud pública en países en desarrollo, incluido México. Existen factores asociados al desarrollo de este cáncer, tales como tener actividad sexual de manera temprana, múltiples parejas sexuales, múltiples partos, tabaquismo, y el factor determinante, que es la infección por el Virus del Papiloma Humano.

La evidencia científica acumulada ha permitido demostrar y describir de forma inequívoca que el cáncer de cuello uterino es una secuela de una infección persistente producida por ciertos genotipos del VPH, un virus de transmisión fundamentalmente sexual.

La implicación causal del VPH en el cáncer de cérvix está modificando las opciones preventivas que disponíamos hasta ahora, ofreciendo una oportunidad única para introducir nuevas estrategias de prevención primaria y secundaria basadas en el VPH.

La infección persistente de la mucosa cervical por el virus del papiloma humano constituye una condición necesaria para el desarrollo del cáncer del cuello uterino y de las Lesiones intraepiteliales.

Los datos epidemiológicos recientes sugieren un aumento de la incidencia y de la prevalencia de las Neoplasias intraepiteliales cervicales y una disminución del promedio de edad de las pacientes portadoras de estas lesiones.

Los VPH-AR pueden inducir una neoplasia; las lesiones intraepiteliales de alto grado (LEI-AG) se consideran lesiones precancerosas debidas a una infección persistente por VPH.

La existencia de lesiones precancerosas durante un período prolongado explica la pertinencia y la eficacia de la detección sistemática del cáncer del cuello uterino mediante la citología convencional o Papanicolau y técnicas de biología molecular como la reacción de cadena de polimerasa para su tipificación y detección de genotipos de alto riesgo.

Palabras Clave: Virus del papiloma humano; Cáncer Cervical; Papanicolau

ABSTRACT

Human papillomaviruses (HPVs) are small DNA viruses that cause about 5% of all cancers in humans, including almost all cases of cervical

Cervical cancer is a public health problem in developing countries, including Mexico. There are factors associated with the development of this cancer, such as having early sexual activity, multiple sexual partners, multiple births, smoking, and the determining factor, which is the Human Papillomavirus infection.

The accumulated scientific evidence has made it possible to unequivocally demonstrate and describe that cervical cancer is a sequel to a persistent infection caused by certain genotypes of HPV, a virus that is primarily sexually transmitted.

The causal implication of HPV in cervical cancer is modifying the preventive options that we have had until now, offering a unique opportunity to introduce new primary and secondary prevention strategies based on HPV.

Persistent infection of the cervical mucosa by human papillomavirus constitutes a necessary condition for the development of cervical cancer and intraepithelial lesions.

Recent epidemiological data suggest an increase in the incidence and prevalence of cervical intraepithelial neoplasia and a decrease in the average age of patients with these lesions. HR-HPVs can induce neoplasia; High-grade intraepithelial lesions are considered precancerous lesions due to persistent HPV infection.

The existence of precancerous lesions over a prolonged period explains the relevance and effectiveness of systematic screening for cervical cancer using conventional cytology or Papanicolaou and molecular biology techniques such as polymerase chain reaction for typing and detection of high risk genotypes.

Keywords: Human papillomaviruses, Cervical Cancer; pap smear

I. INTRODUCCIÓN

1.1.ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS Y DE INVESTIGACION

1.1.2 Antecedentes históricos del Virus del Papiloma Humano

Como uno de los más grandes logros de la medicina se encuentra la comprensión de la infección por el virus del papiloma humano y su relación causal con algunos tipos de cáncer. (Higuchi R, 1992)

La mayoría de las personas con infecciones por este virus no presenta síntomas, por lo que puede pasar inadvertida y haber sido limitada por el hospedero. Es importante tomar en cuenta que en menos de 10% de los pacientes se presenta una infección persistente, la cual puede derivar en el desarrollo de malignidad. (Salcedo M, 2014;2015)

El VPH requiere de una lesión o bien, situarse en un área de transición de epitelios, como la que existe en el cuello uterino, ano o amígdalas, para poder infectar las células. (Taylor, 2014)

Los genotipos del VPH que afectan las mucosas, se transmiten por vía sexual y se clasifican como de bajo y alto riesgo. (Ochoa-Carrillo, 2014) Los genotipos de alto riesgo se asocian con cáncer cervicouterino (CaCu), vulvar, vaginal, pene, ano y con tumores orofaríngeos. (Mayo TT, 2014)

Se considera y es aceptado que hasta 25% de las personas sexualmente activas se infectan por VPH genital y que más de 50% se infectará por lo menos una vez a lo largo de su vida. (Morgan, 2020)

Son miembros de la familia Papillomaviridae. Las partículas virales son pequeñas y contienen una cadena de ADN de doble hebra. Existen más de 200 genotipos descritos, de los que cerca de una tercera parte tienen como objetivo infectar las mucosas del hospedero. (Hausen, Papillomaviruses in the causation of human cancers a brief historical account, 2009)

Pudo observarse por primera vez en 1950, en imágenes obtenidas con microscopio electrónico en muestras de papilomas de piel. Harold Zur Hausen y colaboradores identificaron las clases de los 2 primeros serotipos, VPH1 y VPH2 en 1977, y se completó la secuencia genómica del VPH-1 en 1982. (Chan PK, 2012)

Uno de los momentos más importantes se dió en el año 1983, cuando Dürst, Gissman y colaboradores de zur Hausen aislaron el VPH16 y un año después el VPH-18, a partir de

muestras de CaCu. Más adelante se demostró que 60% a 70% de las mujeres con CaCu presentaba estos 2 tipos virales. (Franco EL, 1999)

Uno de los más grandes avances de la ciencia médica ha sido el mayor entendimiento y comprensión de la historia natural de la infección por VPH. La mayor parte de las infecciones causadas por el VPH no causan síntomas en la mayoría de las personas, por lo que pueden pasar incluso inadvertidas y combatidas por el hospedero. (Forman D, 2012)

Algunos genotipos virales pueden causar cáncer cervicouterino, vulvar, vaginal, peniano, anal y orofaríngeo. En una gran proporción de casos, la infección por VPH se autolimita y en menos de 10% de los pacientes se presenta una infección persistente. (Middleton K, 2003)

El VPH tiene la particularidad de requerir una micro abrasión o un área de transición de epitelios, como la que existe en el cuello uterino, ano o amígdalas, para poder infectar las células. (Dobec M, 2011)

La infección se presenta en los queratinocitos basales del epitelio escamoso estratificado y el virus se replica en el núcleo de las células infectadas, además de interferir en la diferenciación de estas mismas células. (Coutlee F, 2006)

Los genotipos del VPH que afectan las mucosas, por lo regular se transmiten por vía sexual y se pueden subdividir entre bajo y alto riesgo. Los de alto riesgo se asocian con CaCu, vulvar, vaginal, pene, ano y con otros tumores orofaríngeos. (Aguilar-Lemarroy A, 2015)

Más de 40 genotipos pueden propagarse por contacto directo durante el sexo vaginal, anal y oral. (Alexander KA, 2012)

Se considera y es aceptado que hasta 25% de las personas sexualmente activas se infectan por VPH genital hacia los 21 años de edad. También se estima que más de 50% se infectará al menos una vez a lo largo de su vida, y que alrededor de 7% de los adultos tienen infecciones orales por VPH. (Benuto ARE, 2009)

Cuando se utilizan estudios de diagnóstico molecular se ha demostrado la presencia de VPH hasta en 80% de las mujeres sexualmente activas, las cuales cursan completamente asintomáticas. (Clifford GM, 2015)

En mujeres, el pico de incidencia de infección es en pacientes menores de 24 años. También se ha observado otro pico de incidencia en algunos países, después de los 45 años. (Yamada T, 1997)

1.1.3 El descubrimiento del virus

La transmisión sexual, como un factor de riesgo para el desarrollo de CaCu, fue descrita desde 1842 por Domenico Rigoni- Stern mientras que el origen infeccioso de las verrugas fue establecido en 1907 por Giuseppe Ciuffo; no fue sino hasta 1983 que se relacionó la infección por VPH como una causa de CaCu, momento en el cual el ADN del VPH 16 fue aislado en cerca de 60% de las muestras de tejido que Harold zur Hausen y su equipo de investigadores habían examinado. (ZM, 2014) Harold zur Hausen es el investigador merecedor del premio Nobel por ser el pionero en la investigación de los VPH relacionados con cáncer. Antes de que zur Hausen y colaboradores en su laboratorio de Alemania, descubrieran y aislaran los virus oncógenos se sospechaba más del virus del herpes simple tipo 2 y pocos científicos apoyaban la teoría de zur Hausen. Pocos años después, la hipótesis del virus herpes simple 2 se descartó, pues no logró identificarse su genoma en la mayoría de los tumores cervicouterinos. (Berumen J, 2001)

Para analizar su hipótesis, zur Hausen inició una gran búsqueda de VPH en cualquier tipo de lesiones cervicales. A inicios de la década de 1970, se contaba ya con la tecnología de ADN, que se utilizó para aislar el genoma de los VPH identificados en las verrugas. (Schiffman M, 2007)

Mediante ensayos de hibridación y restricción demostraron que los virus que aislaron de las diferentes muestras clínicas no eran todos idénticos, así que se procedió a clasificarlos por tipos en 1, 2, 3, 4 y así de forma sucesiva, según se iban descubriendo nuevos subtipos del virus. (Wentxensen N, 2009)

En 1980, con el ADN del VPH-1 como sonda, Lutz Gissman, identificó y aisló el genoma del VPH6 de un condiloma acuminado y con la sonda del mismo virus descubrió el VPH11 en un papiloma laríngeo. (Bernard HU, 2010)

El punto decisivo ocurrió en 1983, cuando Dürst, Gissman y otros colaboradores de zur Hausen aislaron el VPH 16 y un año después el VPH 18, a partir de muestras de CaCu. Más adelante se demostró que 60% a 70% de las mujeres con CaCu presentaba estos 2 tipos virales. (Kim KS, 2014)

Esta fue la primera evidencia experimental sólida de la asociación del VPH con el CaCu. De esta forma, se fortaleció la hipótesis del VPH como agente causal del CaCu y creció en gran medida el interés por la investigación entre este virus y otras neoplasias genitales. Al continuar con la investigación, el grupo de zur Hausen descubrió otros tipos virales y mecanismos moleculares en los que los VPH participan en la carcinogénesis. (Benuto ARE, 2009)

1.1.4 Mecanismos genéticos virales de la infección

Como ejemplo de los descubrimientos mencionados anteriormente, en 1985 se observó que en la mayoría de las mujeres con CaCu, el virus había integrado su genoma al del hospedero, preservando siempre los oncogenes E6 y E7, con pérdida o interrupción del gen E2. (Flores R, 2005)

En las lesiones preinvasoras del cuello uterino, el genoma viral se encuentra en forma episomal (circular), esto es, fuera del genoma celular y con el gen E2 completo. (Zipper H, 2004) Este último inhibe la actividad de los oncogenes virales, por lo que el rompimiento del gen E2 durante la integración se considera un fenómeno indispensable para la activación de los oncogenes virales y con ello, la evolución tumoral de las lesiones preinvasoras a cáncer invasor. (Chesson HW, 2014)

El VPH tiene la capacidad de estimular de forma continua el crecimiento tumoral, lo que favorece que en un periodo habitualmente largo se generen mutaciones al azar en el genoma celular, con la esperable consecuencia de que algunas de ellas le confieran mayor capacidad oncógena a la célula neoplásica. Con base en datos experimentales generados desde los trabajos de zur Hausen, se ha postulado que para que se evolucione a un fenotipo invasor, se requiere una pérdida sucesiva de distintos genes supresores tumorales. (Crosignani P, 2013)

El profesor zur Hausen, Gissmann y su grupo cedieron las sondas de los VPH 6, 11, 16 y 18, y diversos grupos de investigación en todo el mundo descubrieron otros subtipos, lo cual permitió un rápido avance para entender cómo los virus causan el cáncer; con estos datos se inició el desarrollo de vacunas. Hoy día, se considera que 5% de los tumores en humanos se relacionan con el VPH. (de San José S, 2007)

1.1.5 Variedades de VPH

Los VPH son un grupo heterogéneo de agentes infecciosos que colonizan tejidos epiteliales y que se han relacionado con diversas enfermedades neoplásicas. (Yamada T, 1997)

Todos los VPH tienen estructura y organización genética similar; están compuestos por una molécula de ADN circular de doble hebra, de 8,000 pares de bases y una cápside icosaédrica compuesta de 72 capsómeros formados por 2 proteínas estructurales, sin envoltura nuclear. (Saiki RK, 1988)

El ADN viral tiene 8 genes, de los cuales 6 codifican para proteínas tempranas (E) y 2 para proteínas tardías (L). Las proteínas E5, E6 y E7 participan en la transformación neoplásica, mientras que la E1 y E2 en la replicación del genoma viral; E2 también regula la expresión de los genes tempranos y reprime la expresión de los oncogenes E6 y E7. Los genes L1 y L2 codifican para las proteínas de la cápside. (Crook T, 2014)

Además de estos genes, el genoma viral tiene una región de 800 pares de bases conocida como región reguladora, que contiene diversos elementos de regulación de la transcripción y de la replicación del virus. (Muñoz N, 2003)

Esta familia tiene alrededor de 200 genotipos, muchos de los cuales producen verrugas benignas o papilomas, mientras que una pequeña parte de ellos son oncógenos o clasificados como de alto riesgo puesto que producen tumores invasivos del cuello uterino, entre otros tipos de cáncer. (Bosch X, 2006)

Los tipos 16 y 18 se asocian con el CaCu y, los 6 y 11 con lesiones benignas, como el condiloma acuminado. (Gonzalez-Losa M, 2004)

Los virus de bajo riesgo, como los VPH 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72 y 81, se asocian con el condiloma acuminado, la neoplasia intraepitelial de bajo grado y las infecciones asintomáticas. (Xue Q, 2010) Se han identificado 15 tipos virales de alto riesgo (oncógenos) asociados con el CaCu y con la neoplasia intraepitelial cervical de alto grado, los más comunes son los VPH 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58 y 59. (Zehbe I, 1998)

Se considera que el VPH afecta hasta 20% de la población; la incidencia de la infección varía dependiendo del tipo de VPH y del grupo de edad de la población que se observe. En términos generales se puede clasificar en 2 grandes grupos que son infección cutánea

o de mucosa, dependiendo del sitio anatómico en que se encuentre la lesión. (Higuchi R, 1992)

Respecto a la infección de mucosas, existen patrones que se han observado claramente relacionados con el género, edad y genotipo del VPH. Este tipo de infección afecta a 10.4% de la población femenina, alrededor del mundo. Debe aclararse que esta prevalencia varía entre y dentro de las distintas poblaciones. (Morgan, 2020)

Casi la mitad de los virus infecta los conductos genitales y el resto produce verrugas no malignas, entre otras lesiones en la piel y las mucosas no genitales. (Benuto ARE, 2009)

1.1.6 Antecedentes históricos de la PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) es una de las herramientas tecnológicas más innovadoras para el estudio de los ácidos nucleicos. Se caracteriza por ser una técnica de alta sensibilidad, reproducibilidad y eficiencia, que genera resultados confiables en poco tiempo y fáciles de analizar. Por ello, se ha convertido en el método de elección de muchos investigadores para los estudios genéticos y de biología molecular. (Herschhorn A, 2010)

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanca es copiada fielmente. (Higuchi R, 1992)

Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. En la reacción, si usamos como sustrato ADN genómico, entonces típicamente hablamos de una PCR, pero si usamos ADN complementario (ADNc) proveniente del ARNm (ácido ribonucleico mensajero) se le conoce como RT-PCR (Reverse Transcription-PCR, por sus siglas en inglés). Esta conversión se logra mediante una reacción conocida como transcripción reversa y controlada por la enzima transcriptasa reversa, capaz de convertir el ARNm en una molécula de ADNc. Este método fue copiado de los retro virus que usan una transcriptasa reversa para convertir su genoma de ARN en ADN duplicarse en millones de partículas virales. (Herschhorn A, 2010)

Los elementos importantes en la reacción son el templado o molde (ADN o ADNc), la enzima, los oligonucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg⁺), una solución amortiguadora

o buffer y H₂O. Todos estos elementos interactúan en tres etapas principales de las que se compone la PCR: desnaturalización, hibridación y extensión. Los equipos en donde se realiza la reacción son llamados termocicladores, los cuales están diseñados para establecer un sistema homogéneo en donde las condiciones de temperatura y tiempo necesarios no se modifiquen en cada uno de los ciclos. Al final de la reacción, para corroborar si se amplificó la secuencia blanco de interés, los productos de la PCR o también llamados amplicones son analizados en geles de agarosa para confirmar si la reacción fue exitosa. (Giuliani L, 2006)

1.1.7; ¿Qué elementos químicos se necesitan?

El elemento principal en la PCR es el ADN, cuya naturaleza química ofrece ventajas para su manipulación. Para entrar en contexto, es importante recordar que la molécula de ADN está formada por tres componentes: un azúcar (desoxirribosa), un grupo fosfato y una base nitrogenada (adenina, timina, guanina o citosina) que es complementaria con la base de otra cadena, de tal forma, que el ADN se estructura en una doble hélice. (Watson JD, 1953)

La complementariedad entre las bases está dada por puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, generando estabilidad a la doble hélice, la carga eléctrica del ADN es negativa y está dada por los grupos fosfatos. En la PCR, el templado son las cadenas de ADN que se separan y funcionan como molde para que la enzima sintetice las nuevas cadenas que llevan la secuencia blanco de interés. Por su parte, la ADN polimerasa se encarga de la catálisis de la reacción, sintetizando las nuevas cadenas de ADN que llevan la secuencia blanco. La enzima más usada con frecuencia se llama Taq ADN polimerasa, que proviene de una bacteria termófila llamada *Thermus aquaticus* (Saiki RK, 1988) la cual vive en condiciones de temperatura muy altas y por eso su ADN polimerasa es capaz de soportar ese tipo de temperaturas. El rasgo que distingue a esta enzima bacteriana de otras ADN polimerasas de otros organismos es su capacidad para mantener su funcionalidad a temperaturas altas, por lo que se le considera una enzima termoestable. También hay otras enzimas que se utilizan como la Vent, obtenida de la bacteria *Thermococcus litoralis*. (Cariello NF, 1991) Normalmente, casi todas las enzimas que se venden comercialmente son eficientes y generalmente cuando fallan lo hacen por una manipulación incorrecta del usuario. Para que la enzima funcione con alta especificidad y

la reacción transcurra exitosamente, también se necesita de los elementos ya mencionados como primers, dNTPs, Mg⁺, buffer y H₂O. (Herschhorn A, 2010)

Los primers son secuencias de oligonucleótidos que flanquean y delimitan la secuencia blanco que se desea amplificar y son complementarios a ésta. (Higuchi R, 1992)

Generalmente su tamaño oscila entre 15-25 pares de bases y la cantidad de G-C no debe ser más del 55% de la secuencia. Si no se respetan estas reglas, existe la posibilidad de la formación de dímeros de primers, es decir, de productos inespecíficos. Esto repercutiría en el rendimiento de la reacción, así como en la especificidad del producto esperado. Son dos secuencias diferentes de primers las que se utilizan en la PCR, una denominada forward o sentido y otra reward o antisentido; ambas deben estar diseñadas para que hibriden con el templado y las cadenas de ADN puedan ser extendidas por la Taq polimerasa en dirección 5'-3'. (Wentzensen N, 2012)

Por su parte, los dNTP's son los ladrillos o bases nitrogenadas con los que la Taq polimerasa construye las nuevas cadenas de ADN. Son factores importantes que contribuyen a la especificidad de la reacción. (Higuchi R, 1992)

1.1.8;Cómo funciona la reacción?

Recordemos que cada ciclo de la PCR se lleva a cabo en tres etapas principales: desnaturalización, hibridación y extensión. (ZM, 2014)

Desnaturalización. En esta etapa, las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos; el tiempo depende de la secuencia del templado, es decir, si la cantidad de G-C es alta, será necesario más tiempo para romper sus uniones debido a que el apareamiento de estas bases está formado por tres enlaces, uno más que las bases de A-T. Además, depende de la velocidad en la que el termociclador aumenta la temperatura, esto varía de acuerdo al modelo del equipo. Al final de esta etapa tendremos las cadenas separadas que servirán como templado para el siguiente paso. (Zipper H, 2004)

Hibridación. En esta etapa, los primers se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria. Para que se forme el complejo templado-primers, es importante que la temperatura de hibridación sea la óptima; ésta generalmente oscila entre 50-60 °C. Si el diseño de los primers es el correcto y la

temperatura es la adecuada, la estabilidad y especificidad del complejo será eficiente. (Froberg M, 2016)

Extensión. En esta etapa, la Taq polimerasa actúa sobre el complejo templado-primers y empieza su función catalítica a una velocidad muy rápida; agrega dNTP's complementarios para crear las cadenas completas de ADN. (Zipper H, 2004)

1.1.9 PCR en tiempo real: Fundamentos

Higuchi y colaboradores, en 1992 fueron los primeros que sentaron las bases para desarrollar la PCR en tiempo real, al videograbar en tiempo real la incorporación de bromuro de etidio al ADN durante cada ciclo de la PCR realizada bajo luz UV. (Higuchi R, 1992) Desde entonces, el objetivo de la PCR en tiempo real ha sido detectar y cuantificar las secuencias específicas de ácidos nucleicos mediante el uso de reporteros fluorescentes en la reacción. El principio de la técnica se basa en la PCR punto final, sólo que la forma en cómo se detectan y analizan los productos de la amplificación es diferente. El término en tiempo real se refiere a que la detección de los productos amplificados sucede en cada ciclo de la reacción. Por su parte, el término cuantitativo hace referencia a que es posible cuantificar la cantidad de ADN en la muestra, a diferencia de la PCR punto final en donde no es posible detectar en tiempo real ni cuantificar la secuencia blanco. (Bustin SA, 2005) Precisamente, estas últimas dos características representan grandes ventajas de la PCR en tiempo real, ya que el producto de amplificación es monitoreado conforme transcurre la reacción sin que haya la necesidad de que sea manipulado. Actualmente, la PCR en tiempo real es el método más sensible para detectar y cuantificar los ácidos nucleicos. Aun teniendo una cantidad muy pequeña de templado, el sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia. Los ingredientes químicos en la PCR en tiempo real, son los mismos utilizados en la PCR punto final, sólo que generalmente la enzima, dNTP's, Mg +, el buffer y el sistema reportero de fluorescencia para detectar los productos amplificados se venden juntos en una solución conocida como Master mix, el agua es proporcionada por separado y también es libre de nucleasas. Los primers deben ser diseñados especialmente para garantizar una alta especificidad y para que generen ampliaciones de un tamaño que oscile entre 100-150 pb. (Bustin SA, 2005)

1.1.10 Algoritmo de detección y tamizaje en México y el Estado de Coahuila

La Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública (RNLSP) es el conjunto de laboratorios con objetivos específicos que permiten unificar métodos de diagnóstico, criterios de interpretación de resultados, transferencia tecnológica, generación de conocimiento y formación de recursos humanos que garanticen procedimientos técnico-administrativos que produzcan información de laboratorio útil para la vigilancia epidemiológica y la operación de los programas preventivos. Es el soporte técnico-científico útil para la vigilancia epidemiológica que genera información de calidad para la toma oportuna de decisiones, a través de la confirmación mediante estudios de laboratorio en muestras biológicas. La RNLSP está integrada por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE) como órgano rector de la red, los Laboratorios Estatales de Salud Pública (LESP) y los Laboratorios de Apoyo a la Vigilancia Epidemiológica (LAVE). Se encuentra estructurada en tres niveles: nacional, estatal y local o sus equivalentes para otras instituciones. El nivel nacional está representado por el InDRE como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR). Tiene fundamento legal en la Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA2-2012, para la vigilancia epidemiológica y se encuentra definida en los Criterios de Operación para la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública Componente Vigilancia Epidemiológica. En la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública se cuenta con el tamizaje de cáncer del cuello uterino mediante la citología cervical o Papanicolau. En México, la Dirección de Cáncer de la Mujer que depende del Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva (CNEGSR), es la instancia responsable, en coordinación con otras instituciones, de generar la política de control del CaCU que incluye: prevención primaria, detección temprana, diagnóstico y tratamiento de lesiones precancerosas y cáncer del cuello uterino y cuidados paliativos cuando la enfermedad es avanzada. En 1985 se creó en el InDRE el Laboratorio de Citología Cervical e inició la colaboración con el Programa de Detección Oportuna de Cáncer del Cuello Uterino para establecer una red de laboratorios con los cuales se lograra cubrir las necesidades de tamizaje de las mujeres y cumplir con uno de los objetivos del programa que es la detección temprana de lesiones precancerosas en mujeres de 25 a 64 años mediante la citología exfoliativa del cuello uterino, mejor conocida como prueba de Papanicolau.

La prueba de Papanicolau es una prueba de tamizaje, por lo que es necesario que a las mujeres con lesiones precursoras se les refiera a centros de colposcopia para evaluación complementaria donde, en caso necesario se les toman muestras para estudio histopatológico que es el estándar de referencia para confirmar la presencia de lesión precursora o cáncer invasor.

A partir de 2007, se modificó el algoritmo para la detección de lesiones precursoras y actualmente se utiliza la prueba de Papanicolau en mujeres de 25 a 34 años y se agregó la prueba para detección de VPH por el método de captura de híbridos o reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés: Polymerase Chain Reaction) para mujeres de 35 a 65 años, cuando esta prueba es positiva se toma una citología complementaria. Todos los casos con alteraciones citológicas en la prueba de Papanicolau, así como los que son VPH positivos con citología complementaria positiva se refieren a las Clínicas de Colposcopia de acuerdo con las recomendaciones de la OMS y la OPS.

En el Estado de Coahuila, de acuerdo al “INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLÓGICOS “DR. MANUEL MARTÍNEZ BÁEZ”. LINEAMIENTOS PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DE CÁNCER DEL CUELLO DEL ÚTERO: LABORATORIO DE CITOLOGÍA, INDRE. MÉXICO: SECRETARÍA DE SALUD; 2016” actualmente se realiza la citología convencional en mujeres a partir de los 25 años (o en quienes hayan iniciado vida sexual y soliciten la citología) hasta los 34 años, si se detecta lesión se envía colposcopia. De los 35 a 65 años se realiza la detección de VPH-AR mediante PCR, en caso de ser positiva, se realiza citología en base líquida para detección de lesión intraepitelial; se corroboran los resultados de las muestras positivas en el laboratorio de Patología para posteriormente enviar a las pacientes con lesión intraepitelial a clínica de Displasias para visualización directa del tejido conectivo a través del colposcopio y hacer el diagnóstico mediante toma de biopsia de la lesión, así como tratamiento o referencia a departamento de Ginecología Oncológica. Actualmente no se cuenta con evidencia científica suficiente para proponer “el mejor esquema de tamizaje”, una prueba o combinación de pruebas, debido a que los resultados se relacionan directamente con el aclaramiento viral, la carga viral, la discordancia entre citotecnólogos, entre algunas otras, por lo que analizar la realidad del

programa de cáncer en cada estado, es el camino para poder estructurar programas específicos contra el cáncer cervico-uterino.

1.1.11 ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

El cáncer cervicouterino es una de las neoplasias que ocupa las primeras causas de muerte en la mujer a nivel mundial, especialmente en países subdesarrollados. (Bruni, 2020)

En México, el cáncer cervicouterino ocupa el segundo lugar entre las neoplasias en la mujer y constituye uno de los principales problemas de salud pública, con una incidencia del 15.5% y una mortalidad del 12.8%. (Velazquez-Marquez N, 2009)

El VPH genital es la infección de transmisión sexual observada con mayor frecuencia. (Aral SO, 1999) En Estados Unidos los Centers for disease control and prevention (CDC) estiman que el riesgo de que una mujer se contagie de VPH a los 50 años, excede de 80%. Casi todas las infecciones incidentales por VPH aparecen en mujeres menores de 25 años. (Aguilar-Lemarroy A, 2015)

La prevalencia puntual en las estadounidenses de 15 a 59 años, según datos de una sola prueba de cribado de VPH en genitales es de 27%, alcanza su máximo entre los 20 y 24 años de edad (45%). (Ferlay J, 2013)

Tradicionalmente se ha relacionado al VPH-16 y 18 como los principales agentes etiológicos de lesiones precancerosas, estudios recientes sobre la prevalencia del VPH en la población mexicana, como el realizado por Aguilar-Lemarroy y cols. han identificado que la distribución del tipo de virus es diferente en distintas regiones del país, especialmente en la región sur. (Aguilar-Lemarroy A, 2015)

Chesson y col. estimaron que la mujer y el hombre tienen una probabilidad del 49,1% de adquirir el VPH desde el inicio de la actividad sexual hasta los 44 años, teniendo un solo compañero y hasta un 99,9% de probabilidad cuando el número de parejas sexuales es mayor de 5, con un promedio de 80,9% para las mujeres y un 89,1% para los hombres. (Chesson HW, 2014) Los mismos autores reportaron que el riesgo promedio de adquirir una infección por VPH desde su debut sexual hasta los 70 años es del 82,2% al 86,2% en las mujeres y del 89,9% al 92,2% en los hombres; siendo un 100% de probabilidad en aquellas personas que tuviesen más de 15 parejas sexuales durante el año. (Chesson HW, 2014) Ochoa-Carrillo ha mencionado que el 42,5% de las mujeres en el mundo tienen la presencia del VPH en cualquier momento de su vida. (Ochoa-Carrillo, 2014)

Los principales tipos de VPH asociados a cáncer cervico uterino en el mundo son 16 y 18. (Bouvard M, Lancet) Se ha informado que los tipos de VPH 16, 18 y 45 son los más prevalentes en muestras de cuello uterino en mujeres mexicanas. (Giuliano AR, 2018)

Sin embargo, la mayoría de estos estudios han sido limitados debido a las metodologías restringidas de detección y genotipificación utilizadas.

En México, Bruni y colaboradores en 2020, realizaron un estudio que incluyó más de 50 mil mujeres, encontró que la prevalencia de virus de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59) era de 8.6%, con disminución a mayor edad y un pequeño incremento en la incidencia después de los 55 años de edad. (Bruni, 2020) Con la llegada a México de las nuevas tecnologías para tipificación viral, la prevalencia es de 4.1% para pacientes con citología normal, 15.3% para pacientes con lesiones de bajo grado, 37.7% para lesiones de alto grado y 63% para cáncer cervical. (Bruni, 2020)

Aguilar-Lemarroy, en un estudio publicado en junio 2015 se buscó determinar la prevalencia de serotipos de alto riesgo de virus del papiloma humano en pacientes con citología normal, del cual se realizaron 3258 citologías cervicales, de las que 2557 fueron negativas (78.4%). La prevalencia global de infección por VPH fue de 10.2%. El 1.8% tuvieron infección por VPH-16; 0.5% por VPH18 y 8.9% por una mezcla viral de alto riesgo. La prevalencia de infección por serotipos del *pool* viral de alto riesgo fue de 11.5% en mujeres menores de 20 años, 12.9% entre 20-29 años y 11.2% entre 30-39 años; y fue inferior en las mayores de 40 años ($p < 0.05$). (Aguilar-Lemarroy A, 2015)

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección por Virus de Papiloma humano por los genotipos 16 y 18, son los más comunes y responsables de la mayoría de los casos de cáncer cérvico uterino. En México, desde el 2006 el cáncer cervicouterino es el segundo más diagnosticado y la segunda causa de muerte en mujeres, con un estimado de 9 mil 439 nuevos casos y 4 mil 335 muertes. Una tasa de incidencia de 12.6 y de mortalidad de 5.7 por 100 mil.

La positividad por Virus de Papiloma Humano para el año 2019 fue de 10.3, las entidades federativas que registraron el mayor índice fueron los estados de Sonora 13.9%, Veracruz 12.6%, Coahuila 12.3%, Nuevo León 12.2% y Yucatán 12.1%. El 77.5% de los genotipos reportados de VPH corresponden a otros VPH de alto riesgo, un 10.1% a VPH 16, un 4.2% a VPH 18 y el resto fueron debido a coinfección de estos genotipos.

En los casos por entidad federativa de Displasias y Neoplasias, para Julio del 2020, Coahuila acumulaba 22 nuevos casos de cáncer de cuello uterino.

Actualmente existen distintas técnicas de biología molecular para conocer los distintos genotipos causales de una infección por Virus de Papiloma Humano; ésta investigación se basa en la Reacción en cadena de polimerasa, con lo cual se busca comparar la estadística de nuestro estado con la literatura nacional y mundial.

1.3.JUSTIFICACIÓN

En México existe un programa de detección de lesiones precancerosas y cáncer de cuello uterino. En las instituciones del Sector salud se realizan:

- Citología cervical para mujeres de 25 a 65 años. La prueba es gratuita y está disponible en todas las instituciones del Sistema Nacional de Salud.
- Esquema de detección molecular con prueba de VPH para mujeres de 35 a 65 años, el cual, en caso de tener un resultado normal se debe realizar cada cinco años y está disponible en Secretaría de Salud.

El presente estudio se pretende conocer la prevalencia y distribución de genotipos 16 y 18 del virus del papiloma humano en la población local y regional a través de prueba de detección molecular.

1.4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la prevalencia del VPH-16 y VPH-18 en muestras de mujeres de 35 a 65 años de edad en el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Coahuila?

1.5 HIPÓTESIS

H₀: La mayor prevalencia del genotipo VPH-16 y VPH-18 no se encuentra en el grupo de edad de 35 a 40 años.

H₁: La mayor prevalencia de genotipo VPH-16 y VPH-18 se encuentra en el grupo de edad de 35 a 40 años

1.6 OBJETIVOS

1.6.1. OBJETIVO GENERAL

Identificar la prevalencia de los genotipos de VPH de alto riesgo (VPH-16 y VPH-18) en el estado de Coahuila de Zaragoza.

1.6.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Identificar el grupo de edad con mayor prevalencia de VPH-16 y VPH-18

II. METODOLOGÍA

2.1.TIPO DE INVESTIGACIÓN

Retrospectivo, descriptivo, observacional y transversal

2.2.POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRAS

POBLACIÓN: Muestras de citología de mujeres de 35-65 años, provenientes de las 8 distintas Jurisdicciones Sanitarias del Estado de Coahuila (01 Piedras Negras, 02 Acuña, 03 Sabinas, 04 Monclova, 05 Cuatro Ciénegas, 06 Torreón, 07 Fco. I. Madero, 08 Saltillo).

MUESTRA: Muestreo no probabilístico subjetivo. La de muestras de mujeres entre 35-65 años que acudan a tamizaje de citología cervical por PCR de acuerdo a las recomendaciones de la NOM 014, que indica que en base a un consenso de autores y considerando la incidencia, prevalencia y mortalidad en los diferentes grupos de edad, si se dispone del recurso, en mujeres de 35 a 65 años de edad se recomienda utilizar la detección biomolecular del VPH-AR en combinación con citología, como pruebas de detección primaria, con resultado positivo a virus del papiloma humano 16 y 18, utilizando los registros obtenidos del Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Coahuila en el periodo comprendido entre Enero 2021 a Diciembre 2022.

2.3.UBICACIÓN ESPACIO TEMPORAL

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Coahuila, ubicado en Calle Carlos Abedrop S/N colonia Centro Metropolitano C.P. 25022. Mediante la revisión de la base de datos de resultados de muestras de tamizaje de citología cervical por PCR para VPH-16 y 18 en muestras de mujeres de 35-65 años, de Enero 2021 a Diciembre 2022.

2.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

2.4.1 INCLUSIÓN: Resultados de muestras de citología cervical a VPH de muestras de Mujeres de 35-65 años que acudan a tamizaje de Citología cervical que cumplan con los criterios de la definición operacional para la toma de la muestra.

2.4.2 EXCLUSIÓN: Muestras menores de 35 años, muestras mayores de 65 años.

2.4.3 ELIMINACIÓN:

Muestras rechazadas:

Frasco SurePath

- Tapa tenga ralladura, cinta u otro adhesivo
- Líquido conservador contiene volumen de más o menos al original
- Mal cerrado
- Contaminante
- La posición del frasco no es vertical
- No tenga la posición correcta de la etiqueta

Cepillo

- No se encuentra el cabezal del cepillo
- Cabezal del cepillo se encuentra en orificio pequeño
- Mal cortado el cepillo

Solicitud

- No se encuentra capturada en plataforma
- No se envía la original y copia
- Faltan datos en las solicitudes
- Falta etiqueta

Muestra

- El PCR no amplifique para B-globina (no se realizó la toma de muestra correctamente)
- No coincida con la solicitud
- Se encuentre en desacomodo respecto a la solicitud

2.5. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Tabla 1. Tabla de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable
Genotipo VPH-16 y Genotipo VPH-18	Grupo de virus que infectan las células de la superficie de la piel o mucosas; causan lesiones por un crecimiento anormal de los tejidos, como verrugas cutáneas o genitales, y otros cambios incluido cáncer.	1. Positivo 2. Negativo	Cualitativa
PCR	Método de laboratorio que sirve para realizar copias de un determinado fragmento de ADN a partir de una muestra.	mg/dL	Cuantitativa
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio	Años	Cuantitativa

2.6. DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

En el Estado de Coahuila, actualmente se realiza la citología convencional en mujeres a partir de los 25 años (o en quienes hayan iniciado vida sexual y soliciten la citología) hasta los 34 años, si se detecta lesión se envía colposcopia. De los 35 a 65 años se realiza la detección de VPH-AR mediante PCR, en caso de ser positiva, se realiza citología en base líquida para detección de lesión intraepitelial; se corroboran los resultados de las muestras positivas en el laboratorio de Patología para posteriormente enviar a las pacientes con lesión intraepitelial a clínica de Displasias para visualización directa del tejido conectivo a través del colposcopio y hacer el diagnóstico mediante toma de biopsia de la lesión, así como tratamiento o referencia a departamento de Ginecología Oncológica.

La recolección de muestras se realiza por el profesional de la salud, con guantes estériles y a temperatura ambiente. Toma de la muestra: Se toma la muestra de la unión escamocolumnar como en la toma de la citología convencional con un cepillo especial para el SurePath. El cepillo se introduce al orificio grande del SurePath, el tiempo de la toma al SurePath es de 1 minuto como máximo. La cabeza del cepillo se coloca en la orilla del frasco conservador y se estira para romper el tubo azul del cepillo. Debe quedar el cabezal completo dentro del frasco.

Se realiza el etiquetado de la muestra en el SurePath y el llenado y etiquetado de la solicitud y reporte de detección de VPH-AR, para ser enviada al Laboratorio Estatal.

Una vez que la muestra se encuentre en el laboratorio estatal se realiza la prueba BD Oncoclarity:

- Prealentamiento
- Extracción de ADN
- Amplificación
- Genotipificación
 - *Genotipificación:* 16, 18, 31, 45, 51 y 52.
 - *Pool 1:* 33, 58.
 - *Pool 2:* 56, 59, 66.
 - *Pool 3:* 35, 39, 68.

El tiempo de respuesta es aproximadamente de 2 horas. Una vez obtenidos los resultados de la genotipificación de VPH presentes, los casos con alteraciones citológicas en la

prueba de Papanicolau, así como los que son VPH positivos con citología complementaria positiva se refieren a las Clínicas de Colposcopia de acuerdo con las recomendaciones de la OMS y la OPS.

2.7 RECURSOS HUMANOS

Autor, asesor metodológico, personal de archivo y estadística del Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Coahuila.

2.8.RECURSOS MATERIALES

Resultados de Citologías, Dispositivo VIPER-LT, Computadora con software Excel.

2.9 ASPECTOS DE ÉTICA

Toda investigación debe garantizar que no expone al sujeto de investigación a riesgos innecesarios y que los beneficios esperados son mayores que los riesgos predecibles, inherentes a la maniobra experimental. Estudio retrospectivo, el cual, según la ley general de salud se considera de bajo mínimo riesgo, NOM-012-SSA3-2012

El estudio fue aprobado por el Comité de ética del Hospital General de Saltillo (Anexo 2. Carta de aprobación del Comité de ética del Hospital General de Saltillo).

Todos los datos de las muestras son anónimos.

2.10 ANALISIS ESTADISTICO

Se realiza en base de datos de Excel y después se realizó análisis de estadísticas descriptivas. Se calculó la prevalencia bruta.

Los datos se analizaron utilizando el software IBM SPSS Estatic Version 20 (IBM corp.armonk,NY) y los valores de P-0.05 se consideraron significativos.

III. RESULTADOS

De las 7609 muestras tomadas mediante PCR entre los años 2021 y 2022, se seleccionaron 1146 por muestreo no probabilístico subjetivo. La prevalencia global de infección por VPH detectado mediante PCR en muestras de citología cervical en el laboratorio estatal del estado de Coahuila entre los años 2021 y 2022 fue de 15.7%, este porcentaje corresponde a 179 muestras positivas al genotipo de VPH-16 que representa el 2.35% de las muestras procesadas y 107 muestras positivas al genotipo VPH-18 que representa el 1.4% de las muestras totales. (Figura 1)

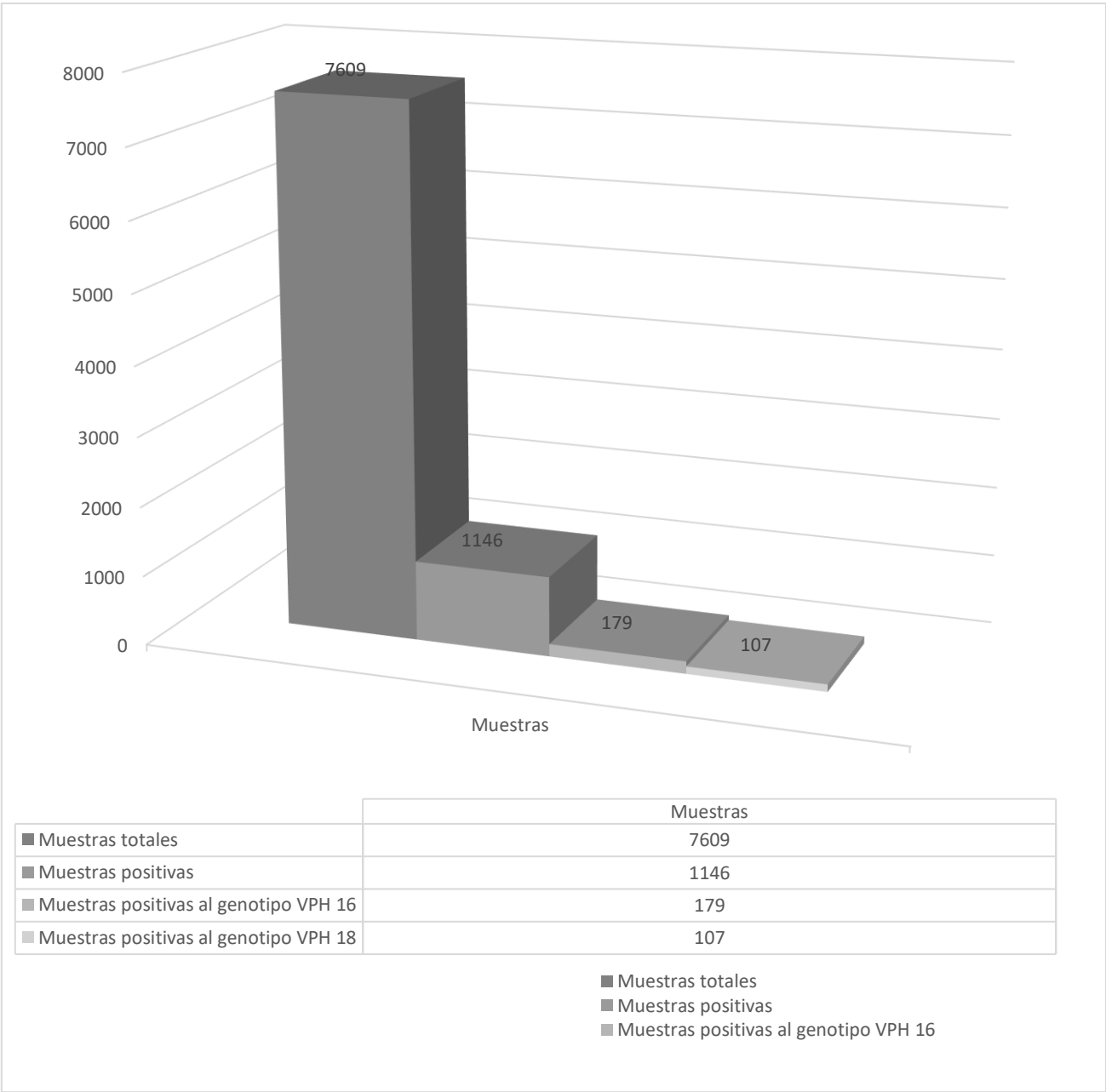


Figura 1. Muestra detectadas en PCR en el laboratorio estatal del estado de Coahuila

Las muestras fueron procesadas mediante PCR de citología cervical en el laboratorio estatal del estado de Coahuila participando las 8 jurisdicciones sanitarias de las cuales se obtuvieron los siguientes resultados desglosados por jurisdicción sanitaria en la Tabla 2.

Se realizó el calculo de los porcentajes de muestras positivas a VPH-16 y VPH-18 de cada una de las jurisdicciones sanitarias del estado de Coahuila, donde se observa una mayor prevalencia del genotipo VPH-16 en todas las regiones del estado, a excepción de Acuña. (Figura 2)

Tabla 2. Tabla de cuantificación de muestras positivas por jurisdicción

	Jurisdicción	N. positivas	N. positivas al genotipo de VPH 16	N. positivas al genotipo de VPH 18
1	PIEDRAS NEGRAS	110	29	15
2	ACUÑA	42	4	6
3	SABINAS	82	17	9
4	MONCLOVA	118	11	8
5	CUATROCIENEGAS	17	6	4
6	TORREON	265	46	25
7	MADERO	104	18	13
8	SALTILLO	408	48	27

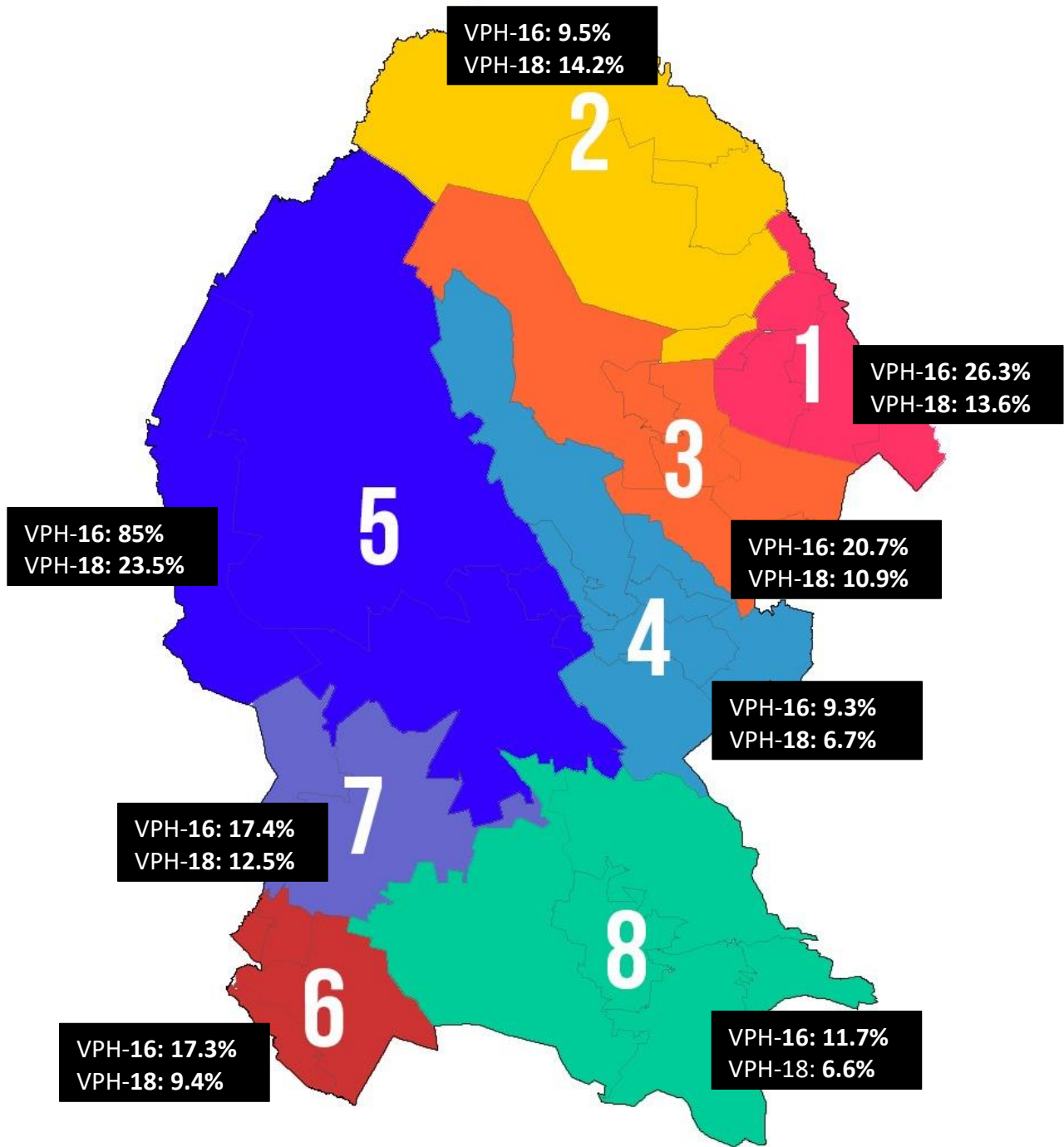


Figura 2. Mapa de porcentajes de muestras positivas a VPH-16 y VPH-18 por jurisdicción sanitaria del estado de Coahuila.

Se cuantificó la frecuencia de las edades en el rango de 35 a 65 años de las muestras positivas a los genotipos VPH-16. (Tabla 3)

Tabla 3. Edades de muestras positivas al genotipo VPH-16 en años 2021 y 2022

Edad	Frecuencia
35	10
36	8
37	4
38	6
39	5
40	13
41	12
42	15
43	8
44	4
45	10
46	7
47	11
48	4
49	8
50	8
51	6
52	6
53	6
55	3
56	3
57	5
58	2
59	5
60	2
61	3
62	3
63	1
64	1

Se generaron intervalos de edad de 5 años de las muestras positivas al genotipo VPH-16 para obtener la frecuencia absoluta de dichos intervalos. La frecuencia absoluta se encontraron 49 resultados PCR + en un rango de edad de 41 a 45 años de edad. El segundo grupo con mayor frecuencia fue con una N de 46 en el grupo de edad de 35 a 40 años de edad, mientras tanto el grupo de menor incidencia con una N de 8, fue en el grupo de edad de 61 a 65 años. (Tabla 4)

Tabla 4. Frecuencias de las edades de las muestras positivas al VPH- 16

Intervalos de edad	Frecuencia Absoluta
35-40	46
41-45	49
46-50	38
51-55	21
56-60	17
61-65	8

Ordenando los datos anteriores, se calculó las medidas de centralización de las muestras positivas al genotipo VHP-16. Se puede determinar que la edad promedio de muestras positivas al genotipo VPH-16 es de 45.95 años, la edad que se presenta con mayor frecuencia es de 42 años y la mediana es de 45 años. (Tabla 5)

Tabla 5. Medidas de centralización de las edades de las muestras positivas al VPH-16

Media Aritmética	Moda	Mediana
\bar{x} : 45.95 años	42 años	45 años

Se cuantificó la frecuencia de las edades en el rango de 35 a 65 años de las muestras positivas a los genotipos VPH-18. (Tabla 7)

Tabla 6. Edades de muestras positivas al genotipo VPH-18 en años 2021 y 2022

Edad	Frecuencia
35	4
36	3
37	2
38	6
39	8
40	7
41	10
42	11
43	8
44	10
45	8
46	2
47	1
48	1
49	3
50	1
51	2
53	3
55	1
56	1
57	1
58	3
59	3
60	2
62	2
63	2
65	2

Se generaron intervalos de edad de 5 años de las muestras positivas al genotipo VPH-18 para obtener las frecuencias absolutas. La frecuencia absoluta se encontraron 47 resultados PCR + en un rango de edad de 41 a 45 años de edad. El segundo grupo con mayor frecuencia fue

con una N de 30 en el grupo de edad de 35 a 40 años de edad, mientras tanto el grupo de menor incidencia con una N de 6, fue en el grupo de edad de 61 a 65 años. (Tabla 7)

Tabla 7. Frecuencias de las edades de las muestras positivas al VPH- 18

Intervalos de edad	Frecuencia Absoluta
35-40	30
41-45	47
46-50	8
51-55	6
56-60	10
61-65	6

Se calcularon las medidas de centralización de las muestras positivas al genotipo VHP-18e puede determinar que la edad promedio de muestras positivas al genotipo VPH-18 es de 45.07 años, la edad que se presenta con mayor frecuencia es de 42 años y la mediana es de 43 años. (Tabla 8)

Tabla 8. Medidas de centralización de las edades de las muestras positivas al VPH-18

Media Aritmética	Moda	Mediana
\bar{x} : 45.07 años	42 años	43 años

Se puede determinar que la edad que presenta mayor frecuencia de muestras positivas al genotipo VPH 16 y VPH 18 es de 42 años en ambos.

La media de las edades de muestras positivas al genotipo VPH-16 es de 45.95 años y la del VPH-18 es de 45.07 años.

IV. DISCUSIÓN

La infección persistente de la mucosa cervical por el Virus del Papiloma Humano constituye una condición necesaria para el desarrollo de cáncer cérvicouterino, el cual ocupa el segundo lugar entre las neoplasias en la mujer, lo que lo convierte en uno de los principales problemas de salud pública en los países en desarrollo incluido México.³⁶

Cuando se utilizan estudios de diagnóstico molecular como método de tamizaje se ha demostrado la presencia de VPH cada vez en edades más tempranas. (Aguilar-Lemarroy A, 2015)

La prevalencia global de muestras positivas al virus de papiloma humano en citología cervical en el Laboratorio estatal de Salud Pública del Estado de Coahuila del año 2021 y 2022 fue de 15.7%. Esto concuerda con un informe reciente de GLOBOCAN que muestra que en México la prevalencia de infección por VPH es de 16.9%, que es más alto que en países desarrollados. (Ferlay J, 2013)

Así mismo Aguilar-Lemarroy, en un estudio publicado en junio 2017, buscó determinar la prevalencia de serotipos de alto riesgo de virus del papiloma humano en pacientes con citología normal, se realizaron 3258 citologías cervicales. La prevalencia global de infección por VPH fue de 10.2%.

En nuestra revisión la prevalencia de VPH-16 fue del 2.35% y el VPH-18 del 1.4% del total de las muestras procesadas.

Casi todas las infecciones incidentales por VPH aparecen en mujeres menores de 25 años. Se considera y es aceptado que hasta 25% de las personas sexualmente activas se infectan por VPH genital hacia los 21 años de edad. (Aguilar-Lemarroy A, 2015)

La prevalencia puntual en las estadounidenses de 15 a 59 años, según datos de una sola prueba de cribado de VPH en genitales es de 27%, alcanza su máximo entre los 30 y 34 años de edad. (Bosch X, 2006)

Cuando se utilizan estudios de diagnóstico molecular el pico de incidencia de infección es en pacientes menores de 24 años. También se ha observado otro pico de incidencia en algunos países, después de los 45 años. (Yamada T, 1997)

En nuestro estudio se observó una mayor pico de infección tanto del VPH-16 y del VPH-18 en el grupo de edad de 41 a 45 años (Tabla 3 y Tabla 7), así mismo se observa una disminución gradual con la edad (Figura 7), similar a los informes anteriores.

V. CONCLUSION

Se logró obtener la prevalencia global del Virus del papiloma humano en el total de las muestras realizadas en el Laboratorio estatal de Salud Pública del estado de Coahuila de Enero 2021 a Diciembre de 2022, el cual fue de 15.7%, este porcentaje corresponde a 179 muestras positivas al genotipo de VPH-16 que representa el 2.35% de las muestras procesadas y 107 muestras positivas al genotipo VPH-18 que representa el 1.4% de las muestras totales.

La prevalencia de infección varía de acuerdo con la edad y es mayor en el grupo de edad entre 35 y 45 años. La media de las edades de muestras positivas al genotipo VPH-16 es de 45.72 años y la del VPH-18 es de 45.06 años.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar-Lemarroy A, V.-R. V.-G. (2015). Women with normal cytology, precancerous lesions, and cervical cancer; type-specific prevalence and HPV coinfections. *Journal of Medical Virology*, 84-87.
- Alexander KA, G. A. (2012). HPV-beyond cervical cancer. *American Journal of Medicine*, 125-132.
- Aral SO, H. K. (1999). Social and behavioral determinants of epidemiology of STDs: industrialized and developing countries. *Sexual transmitted disease*, 39-79.
- Benuto ARE, B. C. (2009). Virus Oncógenos: el paradigma del virus del papiloma humano. *Revista Mexicana de Dermatología*, 234-242.
- Bernard HU, B. R. (2010). Clasificación de papillomaviruses based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*, 70-79.
- Berumen J, O. R. (2001). Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 1325-1330.
- Bosch X, e. a. (2006). The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 8-21.
- Bouvard M, B. R. (Lancet). A review of human carcinogens. 2009, 321-322.
- Bruni. (2020). The frequency of HPV infection worldwide. *HPV World*, 35-41.
- Bustin SA, B. V. (2005). Quantitative real time PCR-a perspective. *Journal of Molecular Endocrinology*, 597-601.
- Cariello NF, S. J. (1991). Fidelity of Thermococcus litoralis DNA polymerase (Vent) in PCR. *Nucleic Acids Research*, 4193-4198.
- Chan PK, C. T. (2012). Attribution of Human papillomavirus types of cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancers. *International Journal of Cancer*, 692-705.
- Chesson HW, D. E. (2014). The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sexually Transmitted Infections*, 660-664.
- Clifford GM, G. S. (2015). Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the international agency for research on Cancer HPV prevalence surveys. *Lancet*, 991-998.
- Coutlee F, R. D. (2006). Enhanced detection and typing of human papillomavirus DNA in anogenital samples with primers and the Linear array HPV genotyping test. *Journal of Clinical Microbiology*, 106-108.
- Crook T, F. C. (2014). Modulation of transcription regulatory properties of p53 by HPV E6. *Oncogene*, 1225-1230.
- Crosignani P, D. S. (2013). Towards the eradication of HPV infection through universal specific vaccination. *BMC Public Health*, 642-645.
- de San José S, D. M. (2007). Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta analysis. *Lancet*, 453-459.
- Dobec M, B. F. (2011). Human Papillomavirus infection among women with cytological abnormalities in Switzerland investigated by an automated linear array genotyping test. *Journal of Medical virology*, 137-140.
- Ferlay J, E. M. (2013). Cancer incidence and mortality worldwide. *GLOBOCAN*, 21-25.
- Flores R, P. M. (2005). Cross-sectional analysis of oncogenic HPV viral load and cervical intraepithelial neoplasia. *International Journal of Cancer*, 891-894.

- Forman D, d. M. (2012). Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine* , 12-23.
- Franco EL, R. T. (1999). Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 506-511.
- Froberg M, N. I. (2016). Liquid-based cytology with HPV triage of low-grade cytological abnormalities versus conventional cytology. *Lancet*, 1406-14011.
- Giuliani L, C. A. (2006). Comparison of DNA sequencing and Roche Linear array in HPV. *Anticancer Research*, 3939-3941.
- Giuliano AR, P. M. (2018). Human papillomavirus infection in the United States-Mexico border: implications for cervical cancer prevention and control. *Cancer Epidemiology Biomarkers*, 1129-1136.
- Gonzalez-Losa M, R.-L. I.-G.-S. (2004). High prevalence of human papillomavirus in Mexican colposcopy patients. *Journal of Clinical Virology*, 202-205.
- Hausen, Z. (2009). Human Papillomavirus & cervical cancer. *Indian Journal Medical Research*, 130-135.
- Hausen, Z. (2009). Papillomaviruses in the causation of human cancers a brief historical account. *Virology*, 260-265.
- Herschhorn A, H. A. (2010). Retroviral reverse transcriptase. *Cellular an Molecular Life Sciences*, 2717-1747.
- Higuchi R, D. G. (1992). Human Papillomavirus: Epidemiology and Clinical Features of Related Cancer. *Springer Science*, 413-417.
- Kim KS, P. S. (2014). Current status of human papillomavirus vaccines. *Virology*, 168-175.
- Mayo TT, I. R. (2014). Human Papillomavirus: Epidemiology and Clinical Features of Related Cancer. *Viruses and Human Cancer. New York: Springer Science + Business Media*, 199-208.
- Middleton K, P. W. (2003). Organization of Human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. *Journal Virology*, 186-201.
- Morgan, E. L. (2020). Manipulation of JAK/STAT Signalling by High Risk HPVs: Potential Therapeutic targets for HPV-Associated Malignancies. *Viruses*, 977-981.
- Muñoz N, B. F. (2003). Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *New England Journal of Medicine*, 518-527.
- Ochoa-Carrillo. (2014). Virus del papiloma humano. Desde su descubrimiento hasta el desarrollo de una vacuna. *Elsevier*, 308-315.
- Saiki RK, e. a. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science* , 487-491.
- Salcedo M, P.-S. V. (2014;2015). Human Papillomavirus genotypes among females in Mexico: a study from Mexican Institute for Social Security. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* , 23.
- Schiffman M, C. P. (2007). Human Papillomavirus and cervical cancer. *The Lancet*, 890-907.
- Taylor. (2014). Vaccines Against Viral Infections. Viruses and man: a history of interactions. *Springer international publishing*, 355-377.
- Velazquez-Marquez N, P.-T. M.-T.-L. (2009). Prevalence of human papillomavirus genotypes in women from a rural region of Puebla, Mexico. *International Journal of infectious diseases*, 690-695.
- Watson JD, C. F. (1953). A structure for desoxyribose nucleic acid. *Nature*, 378-397.

- Wentxensen N, S. M. (2009). Multiple human papillomavirus genotype infections in cervical cancer progression in the study to understand cervical cancer early endpoints and determinants. *International Journal of Cancer*, 2151-2158.
- Wentzensen N, G. P. (2012). Human papillomavirus load measured by Linear array correlates with quantitative PCR in cervical cytology specimens . *Journal of Clinical Microbiology*, 1564-1570.
- Xue Q, W. H. (2010). Recurrent respiratory papillomavirus: an overview. *Journal of Clinical microbiology and infections diseases*, 1051-1054.
- Yamada T, M. M. (1997). Human Papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. *Journal of Medical Virology*, 2463-2472.
- Zehbe I, V. G. (1998). Risk of cervical cancer and geographical variations of human papillomavirus. *Lancet*, 1441-1442.
- Zipper H, B. H. (2004). Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR green. *Nucleics Acids Research*, 32-103.
- ZM, Z. (2014). Human Papillomaviruses. *New York: Springer Science* , 87-112.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos

NOMBRE (iniciales): _____

NÚMERO DE MUESTRA: _____

EDAD: _____

PCR

(+) 1

(-) 2

VPH 16

(+) 1

(-) 2

VPH 18

(+) 1

(-) 2

Anexo 2. Dictamen de aprobación del comité de ética en investigación



Hospital General Saltillo
Comité de ética en investigación

Saltillo, Coahuila a 17 de julio 2023

Dr. Luis Carlos Pérez González
Investigador Principal

Asunto: DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN.
APROBACIÓN 18/2023

Título del Proyecto: **"PREVALENCIA DE GENOTIPOS VPH-16 Y VPH-18 DETECTADOS MEDIANTE PCR EN MUESTRAS DE CITOLOGÍA CERVICAL EN EL LABORATORIO ESTATAL DEL ESTADO DE COAHUILA"**

Le informamos que su proyecto de referencia ha sido evaluado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital General de Saltillo y las opiniones acerca de los documentos presentados se encuentran a continuación:

Nº 1 Fecha 07/11/2023	Decisión
Protocolo	Aprobado
Nº 2 Fecha 07/11/2023	
Consentimiento informado	Aprobado
Nº 3 Fecha 07/11/2023	
PREVALENCIA DE GENOTIPOS VPH-16 Y VPH-18 DETECTADOS MEDIANTE PCR EN MUESTRAS DE CITOLOGÍA CERVICAL EN EL LABORATORIO ESTATAL DEL ESTADO DE COAHUILA	Aprobado

Este protocolo tiene vigencia de 2 años contados de noviembre de 2023 a noviembre de 2025, En caso de requerir una ampliación, le rogamos tenga en cuenta que deberá enviar al Comité un reporte de progreso al menos 30 días antes de la fecha de término de su vigencia. Lo anterior forma parte de las obligaciones del Investigador de acuerdo con la NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

Atentamente
Presidente del Comité
Dr. Miguel Angel Valencia Moreno



Calle Victoria 312, Zona Centro 25000. Saltillo, Coahuila de Zaragoza.
Teléfono: (844) 438-8330 www.saludcoahuila.gob.mx

