
MANEJO E IMPLEMENTACIÓN DE LAS PRUEBAS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DE VPH

MSc. QB. Gabriela Abdalla
30 de Julio de 2021

¿Qué es el VPH?



El VPH es la enfermedades de transmisión sexual (ETS) más común.

El VPH es tan común que casi todos los hombres y todas las mujeres sexualmente activos lo pueden contraer en algún momento de su vida.

Existen distintos genotipos de VPH.

Algunos tipos pueden causar problemas de salud como verrugas genitales y cánceres.

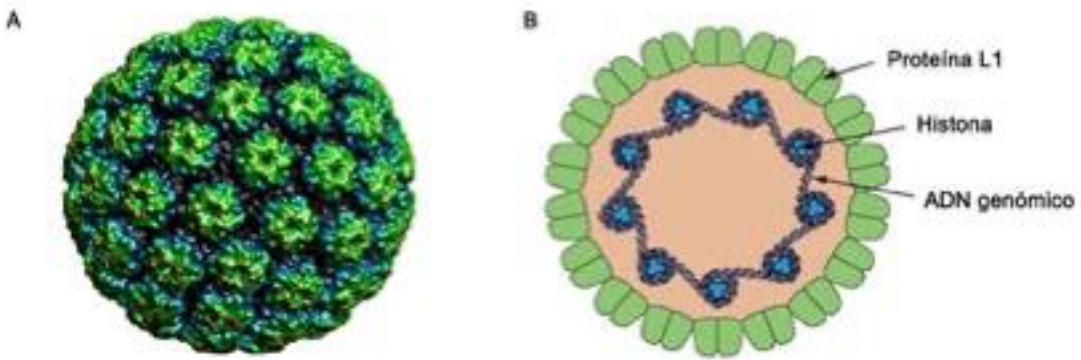
+

•

○

¿Qué es el VPH?

- Son virus relativamente pequeños con genoma de ADN de doble cadena circular.
- Tienen afinidad por el tejido epitelial.
- Muchos de ellos están asociados con infección en humanos.
- Producen lesiones en piel (verrugas) y en mucosas (condilomas), también están asociados con algunos procesos malignos en epitelio, como cáncer cervicouterino y otros tumores del tracto anogenital.



La familia *Papillomaviridae* contiene 16 géneros, los cuales son nombrados con una letra griega como prefijo y con la terminación *papillomavirus*.

- P.ej.: *Alphapapillomavirus*, *Betapapillomavirus*, etcétera.

Desde el punto de vista clínico, los papilomavirus humanos que infectan la mucosa del tracto genital han sido divididos en dos grupos:

- *Bajo riesgo* (verrugas genitales benignas)
- *Alto riesgo*, (presentan un alto potencial oncogénico) y son los agentes etiológicos del cáncer cervicouterino.

Estructura del virus:

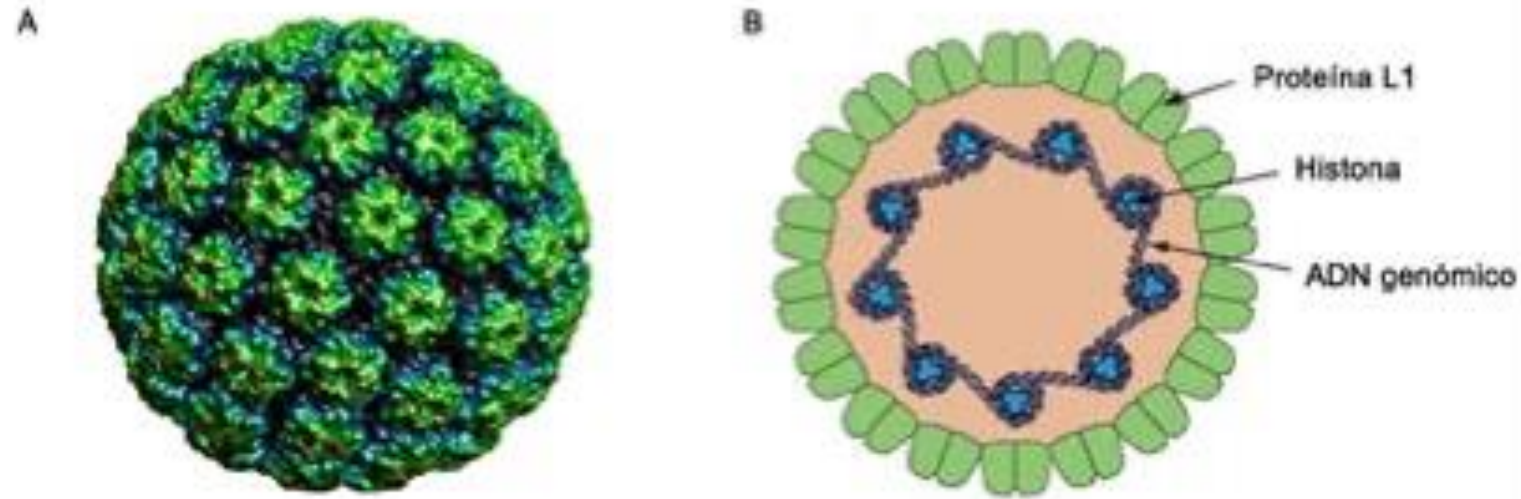


Figura 1 Estructura de los papilomavirus. A) Imagen en 3D de un virión que ha sido reconstruido por medios informáticos a partir de imágenes obtenidas por microscopía crioelectrónica y de la proteína L1 cristalizada. Obtenida de VIPER db: http://viperdb.scripps.edu/info_page.php?VDB=110t, consultado el 24 de mayo de 2013. B) Diagrama de la cápside del VPH, donde se observa la proteína principal de la cápside L1, así como el genoma viral empaquetado con histonas celulares. Obtenida de Viral Zone: <http://viralzone.expasy.org/>.

Genotipos:

- Los que infectan la mucosa del tracto genital (los cuales están ubicados en el género *Alphapapilomavirus*) han sido divididos en dos grupos:
 - bajo riesgo (verrugas genitales benignas)
 - alto riesgo, (alto potencial oncogénico, agentes etiológicos del cáncer cervicouterino)
- 15 genotipos de VPH como de alto riesgo: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82.
- 3 genotipos como de probable alto riesgo: 26, 53 y 66.
- 12 genotipos de bajo riesgo 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 y CP6108.

Historia del diagnóstico

Principios del siglo XX: asociación entre verrugas humanas (italiano G. Ciuffo).

1935: R. Shope y E.W. Hurst demostraron que los papilomavirus pueden causar carcinoma de piel.

1949: la presencia del virus pudo ser comprobada visualmente mediante microscopía electrónica M.J. Strauss.

Inicios de década de 1970: H. zur Hausen propuso que un virus podría ser el agente etiológico del cáncer cervical en humanos.

Década de 1980: su grupo demostró con un análisis de Southern blot la presencia de ADN de dos tipos de virus de papiloma en biopsias de cáncer cervical, nuevos por aquel entonces: (tipo 16 y 18).

+

•

○

Diagnóstico de VPH:

- Varios métodos son usados para diagnosticar de forma clínica o subclínica la infección de VPH.
- Entre estos se puede mencionar: observación clínica, tamizaje citológico (Papanicolau), microscopía electrónica e inmunohistoquímica.
- Estos métodos pueden presentar algunas desventajas: difícil estandarización y subjetividad, sensibilidad disminuida y bajo valor predictivo disminuido (eficacia real de una prueba).

+

•

○



Diagnóstico de VPH:

- La detección/diagnóstico del ADN del VPH de alto y bajo riesgo puede ser de forma directa a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- Resultados de la combinación de la tinción de Papanicolau y una prueba molecular para detección del ADN de VPH pueden complementar el tamizaje de las muestras.
- Las metodologías basadas en PCR son usadas exitosamente para la detección y genotipificación de VPH en muestras clínicas:
 - Hisopados o cepillados cervicales, lavados cervicovaginales, biopsias y tejidos embebidos en parafina.

Toma de muestra:



- Establecer contacto con el personal médico.
- Instructivo para toma y envío de muestra.
- Proporcionar medio de transporte para toma de la muestra (kit de toma de muestra)
- De una buena toma de muestra depende obtener un buen resultado!



INSTRUCTIVO PARA TOMA DE MUESTRA
Cepillado Cervicouterino
Detección de Virus Papiloma Humano (VPH)

I. Preparación de la Paciente 48 horas antes de la toma de muestra:

1. Abstinencia sexual
2. No aplicarse medicamentos o ungüentos en el área vaginal
3. No utilizar tampones e irrigadores vaginales

II. NO tome muestra en pacientes:

1. Embarazadas



MEDIOS DE TOMA Y
TRANSPORTE DE
MUESTRA:

+

o

•



EXTRACCIÓN DE ADN DEL VIRUS:

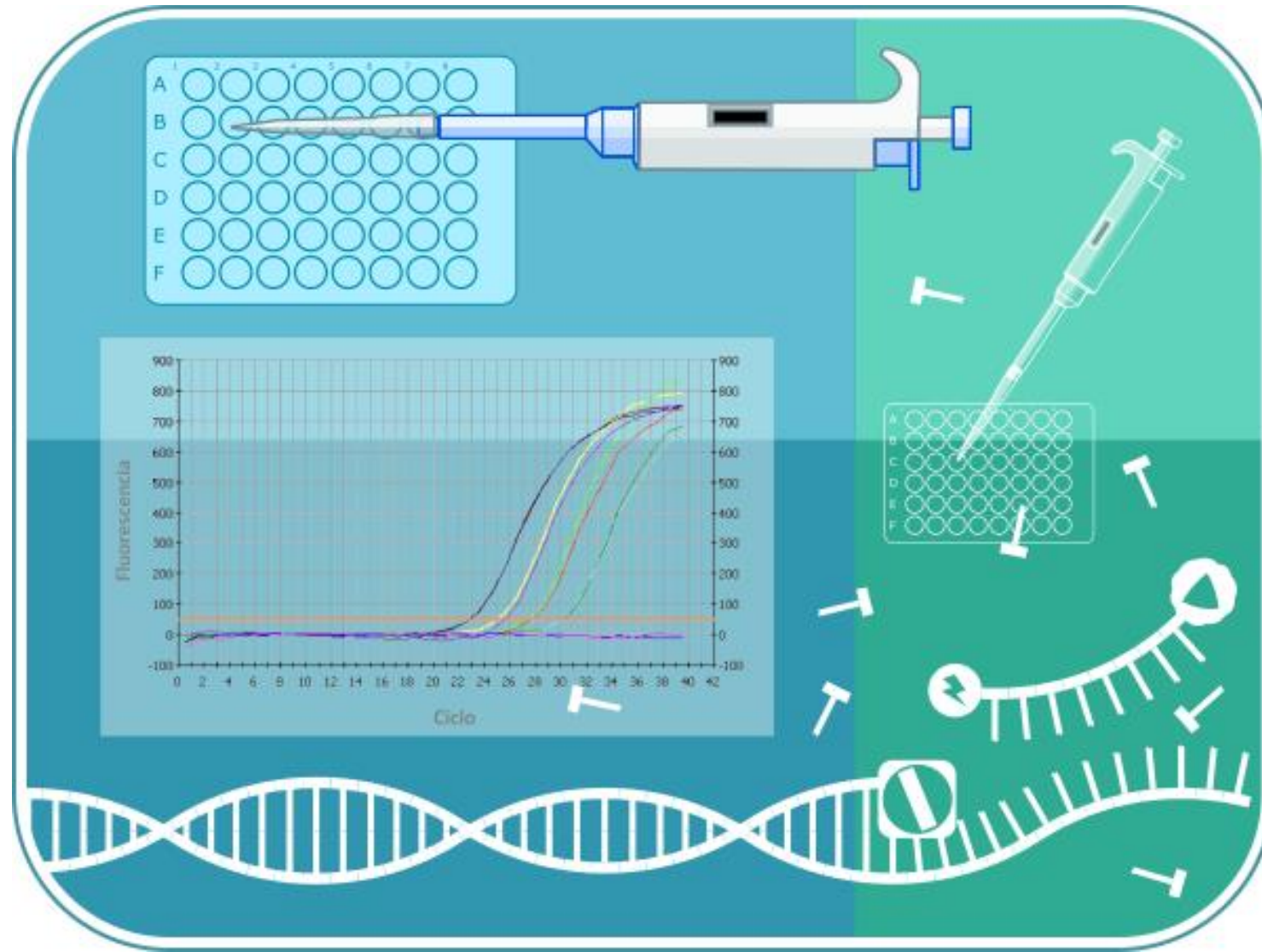
+

o

•



PCR en tiempo real para VPH:



EXTRACCIÓN AUTOMATIZADA:



Termocicladores (ejemplos):



Geneproof:



Especificidad analítica:

Detección de genotipos de alto riesgo que incluye: 16, 18, 26, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82, 97 y la diferenciación de 16, 18 y 45.

Especificidad:

99 % (CI_{95%}: 93.6 % – 99.9 %)

Sensibilidad:

100% (CI_{95%}: 87.7 % – 100 %)

Muestras validadas:

Hisopado (cervical, vaginal y pene), medio LBC NOVAPREP (Novacyte), SurePath (BD), Sistema de autotoma FLOQSwab® (COPAN), Evalyn® Brush (Rovers Medical Devices)

Sistema de detección:

Sistema abierto

Seegene:



- Sistema de PCR Anyplex™ II para la detección del virus del papiloma humano: (28 genotipos)
- 19 genotipos de VPH de alto riesgo: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82.
 - 9 genotipos de VPH de bajo riesgo: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70.
 - De citología de base líquida y especímenes de hisopo cervical.
 - Sistema cerrado de detección.

HybriBio:



El kit HybriBio 13 High-risk (HR) detecta los siguientes genotipos en muestras cervicales:

- 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, and 68.

Se pueden procesar muestras cervicales tomadas y enviadas en los siguientes medios de transporte:

- PreservCyt™ solution, Surepath™ solution o HybriBio cell preservation solution.

La extracción de ADN se realiza con solución de lisis celular.

Sacace Biotechnologies:



Este kit **HPV Genotypes 14 Real-TM Quant** es una prueba de amplificación cualitativa o cuantitativa para la detección y genotipificación del VPH:

- 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.
- En muestras de hisopado/cepillado urogenital y biopsias.
- Control interno (gene de beta-globina humana) que permite controlar la presencia de material celular en la muestra.

Este kit **HPV 6/11 Real-TM** es un kit *in vitro* de *amplificación en* Tiempo real, para la detección cualitativa de los genotipos 6 y 11 de VPH en muestras de hisopado urogenital.

- **HPV Genotypes 14 Real-TM Quant. Real Time PCR Kit for quantitative detection and genotyping of Human Papillomavirus**
- **HPV 6/11 Real-TM kit** is an *in vitro* Real Time amplification test for qualitative detection of *Human Papillomavirus* 6 and 11 in the urogenital swabs



Importante!

- La genotipificación tiene valor diagnóstico y epidemiológico.
 - Los laboratorios idealmente deben contar con un programa de control de calidad externo.
 - Si no se cuenta con un laboratorio con la capacidad técnica se puede buscar un laboratorio de referencia.
-



Diagnóstico confiable (alta sensibilidad y especificidad)



Resultados en corto tiempo



Al automatizar el diagnóstico disminuye el error humano.



Prueba cuali/cuantitativa

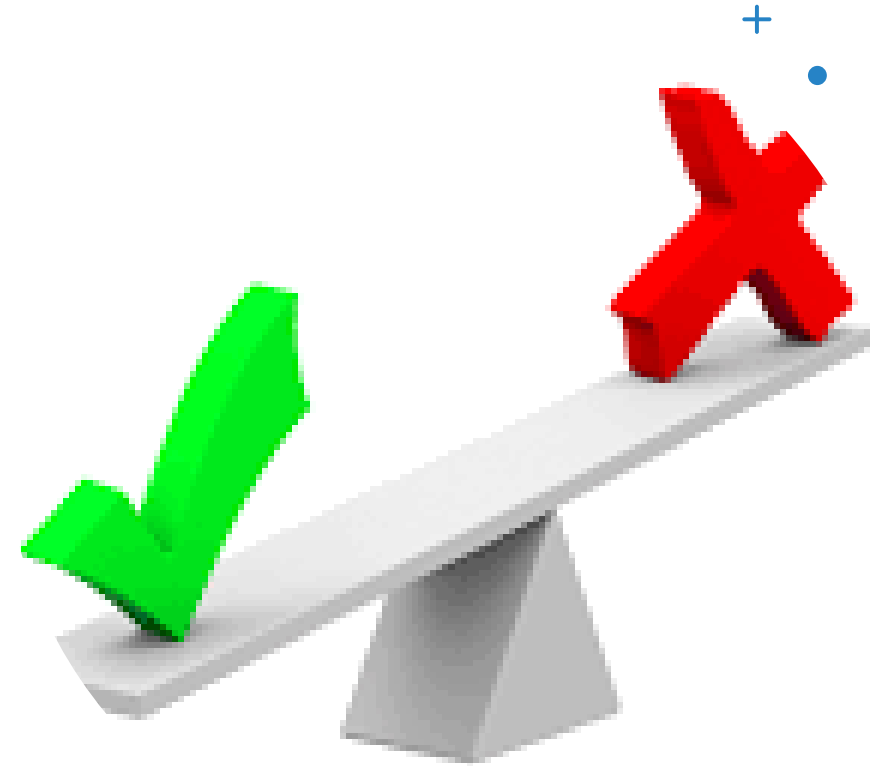


Control interno para c/muestra

Ventajas:

Desventajas:

- Costos elevados.
- Equipos y laboratorios especializados.
- Personal con capacitación sobre biología molecular (al tenerlo pasa a ser una ventaja).



¿PREGUNTAS?



GRACIAS!

