



# P.C.R.

## Utilidad Clínica Resultados

Dra. Alicia Sáez

***HPV***



**PERSISTENCIA**

**Cancer Cervical**

# Historia Natural de la Infección

GRAN NUMERO DE MUJERES JOVENES  
SE INFECTAN  
POR HPV

RESOLUCION  
ESPONTANEA  
SIN CONSECUENCIAS

INFECCION  
PERSISTENTE  
EN 10-20%  
DESPUES DE LOS  
35-40 ANOS

POBLACION DIANA  
MAYOR RIESGO HGSIL  
CA CERVICAL

# Infección Genital por HPV

- ✍ ITS más frecuente.
- ✍ Problema de salud pública de creciente importancia.
- ✍ La segunda infección con mayor coste económico después del VIH.
- ✍ Mayoría son subclínicas.
- ✍ Sólo pueden diagnosticarse mediante la detección del DNA viral.

# Infección → Enfermedad

## Cofactores de Adquisición:

- Edad inicio de la actividad sexual
- N° parejas sexuales propias/compañero

## Cofactores de Progresión:

- Virales
- Genéticos.

## Cofactores de Invasión:

- Factores angiogénicos

# Secuelas de la Enfermedad por HPV

- ✍ Cancer cervical.
- ✍ Cancer vulvar.
- ✍ Cancer anal.
- ✍ Cancer de pene.
- ✍ Condilomas.
- ✍ Alteraciones de bajo grado citología.

# Cancer Cervical

- ✗ La infección persistente de tipos de HPV de alto riesgo oncogénico es la causa primaria .
- ✗ Está precedido de lesiones precancerosas sin sintomatología clínica.
- ✗ Si el virus es detectado en estos estadios, TEORICAMENTE podríamos prevenir todos los casos de cáncer de cervix.

# Características HPV

- ✍ Familia Papillomaviridae
- ✍ Virus DNA de doble cadena
- ✍ Virus oncogénicos.
- ✍ Dificiles de propagar en cultivos celulares
- ✍ Infechan tejido epitelial altamente diferenciado



# Características HPV

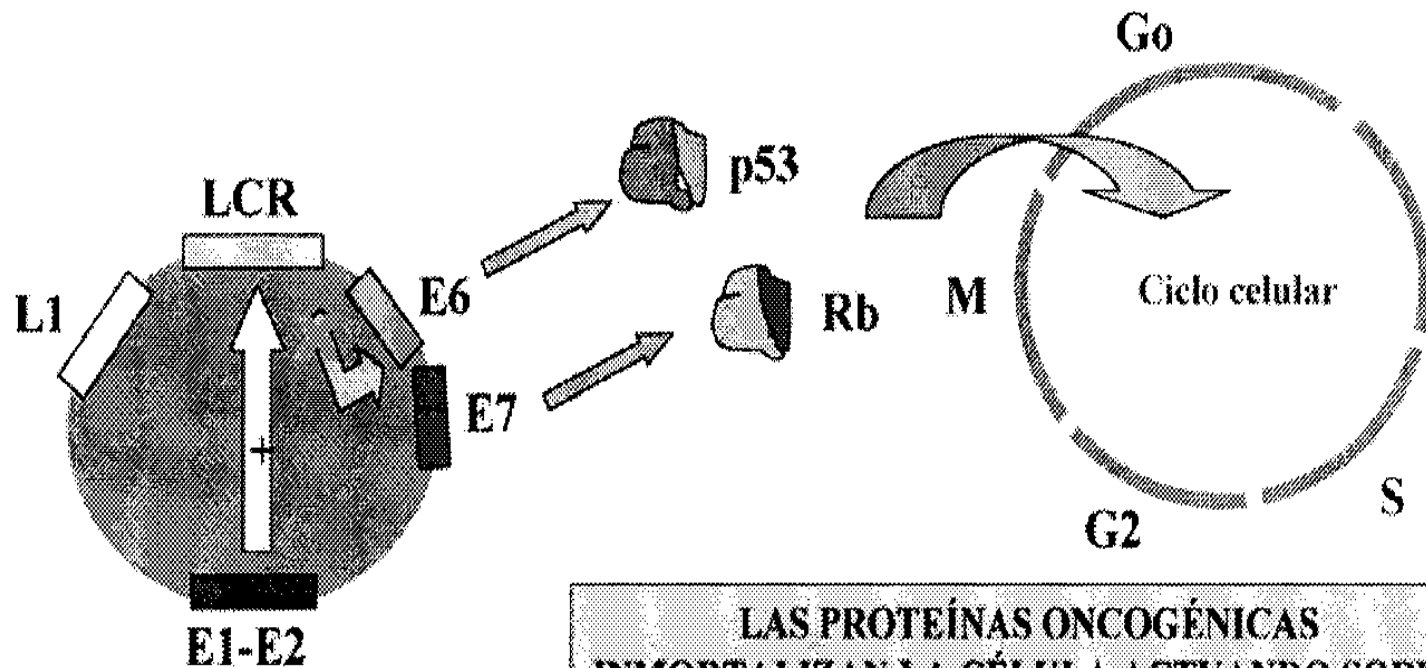
- ✍ Taxonomía basada homología del DNA
- ✍ >200 tipos diferentes.
- ✍ >80 se conoce su secuencia genética.
- ✍ Más de 30 tipos infectan la mucosa genital:
  - Alto riesgo (AR): LGSIL, HGSIL y Ca. invasivo.
  - Bajo riesgo(BR): Condilomas y LGSIL.

# HPVs Oncogénicos

- ❌ Secuencias genómicas con actividad oncogénica, E6 y E7, y se expresan en los cánceres.
- ❌ Integración del VPH en el DNA celular ocurre en la mayoría de los cánceres
- ❌ Interrupción del control del ciclo celular normal.

# Mecanismos de Oncogénesis

Oncogénesis por VPH (a).



LAS PROTEÍNAS ONCOGÉNICAS  
INMORTALIZAN LA CÉLULA ACTUANDO SOBRE  
EL CICLO CELULAR

# Vías de Transmisión

- ✍ Transmisión sexual.
- ✍ Fómites
- ✍ Transmisión vertical.
- ✍ No sexual (Papilomatosis respiratoria recurrente)

# P.C.R. CONSENSO

- ✍ Amplifica una región de DNA viral altamente conservada.(L1)
- ✍ MY09 y MY11. Amplificado 450 bp
- ✍ PGMY09/11
- ✍ GP5+/GP6+.
- ✍ Sensibilidad picogramos de DNA viral

# P.C.R. ESPECIFICA

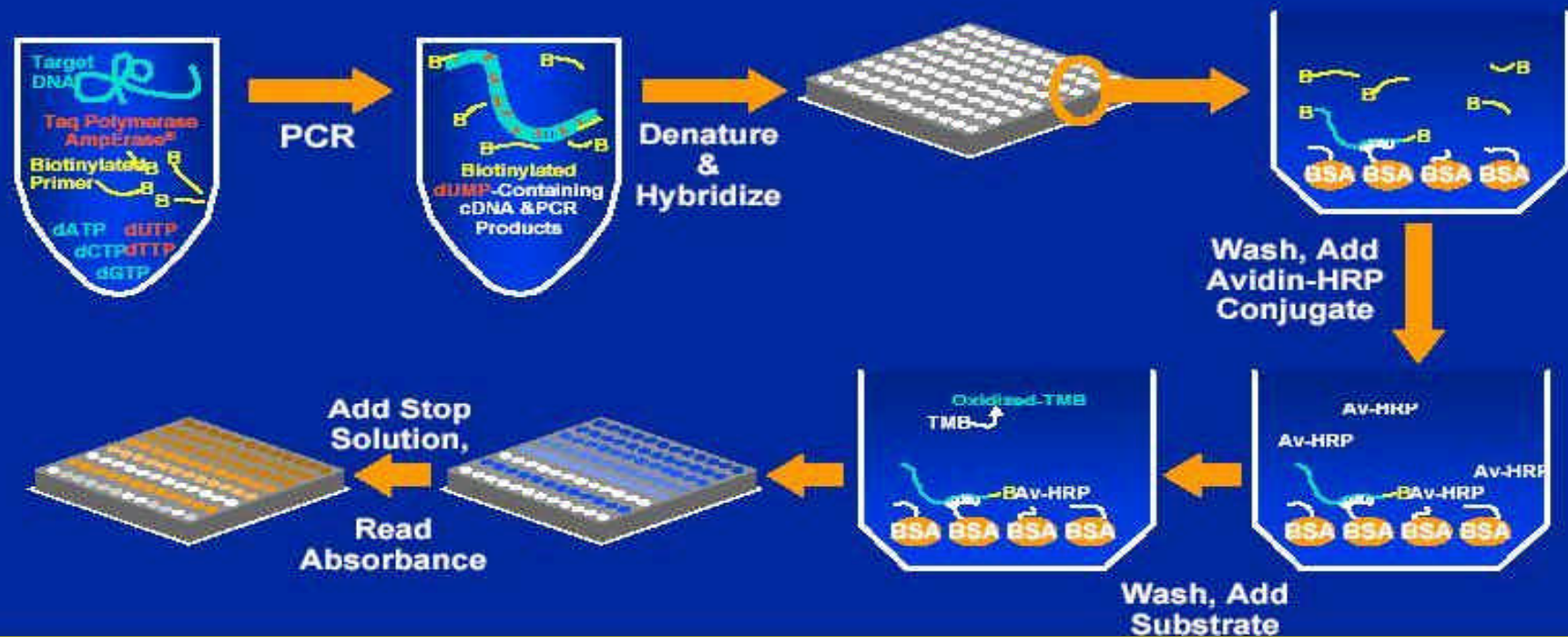
- ✍ Basada en el diseño de “primers” específicos para regiones diferenciales entre los diferentes HPVs.
- ✍ Permite amplificar E6 y E7 de un determinado tipo, subtipo ó variante viral.
- ✍ Sensibilidad de femtogramos
- ✍ Especificidad próxima al 100%.

# P.C.R.

- Basada en el diseño de “primers” específicos para regiones diferenciales entre los distintos HPVs.
- Detecta 13 genotipos de Alto Riesgo:  
16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59 y 68.
- Permite la amplificación simultanea del DNA diana (HPV) y del DNA de  $\beta$ -globina (Control Celular)

# P.C.R.

## AMPLICOR<sup>®</sup> Microwell Plate Detection Format





# Sensibilidad de la técnica

<b>Genotipo HPV</b>	<b>Copias/ml.</b>
<b>16</b>	<b>100</b>
<b>18</b>	<b>100</b>
<b>31</b>	<b>240</b>
<b>33</b>	<b>100</b>
<b>35</b>	<b>100</b>
<b>39</b>	<b>240</b>

# Sensibilidad de la técnica

<b>Genotipo HPV</b>	<b>Copias/ml.</b>
<b>45</b>	<b>100</b>
<b>51</b>	<b>100</b>
<b>52</b>	<b>240</b>
<b>56</b>	<b>100</b>
<b>58 y 59</b>	<b>240</b>
<b>68</b>	<b>100</b>

# Objetivos

- ✍ Conocer la prevalencia de HPV en mujeres con alguna alteración citológica y/o colposcópica.
- ✍ Estudiar los tipos de HPV en mujeres positivas para ver la implicación de los genotipos vacunales en nuestra población.

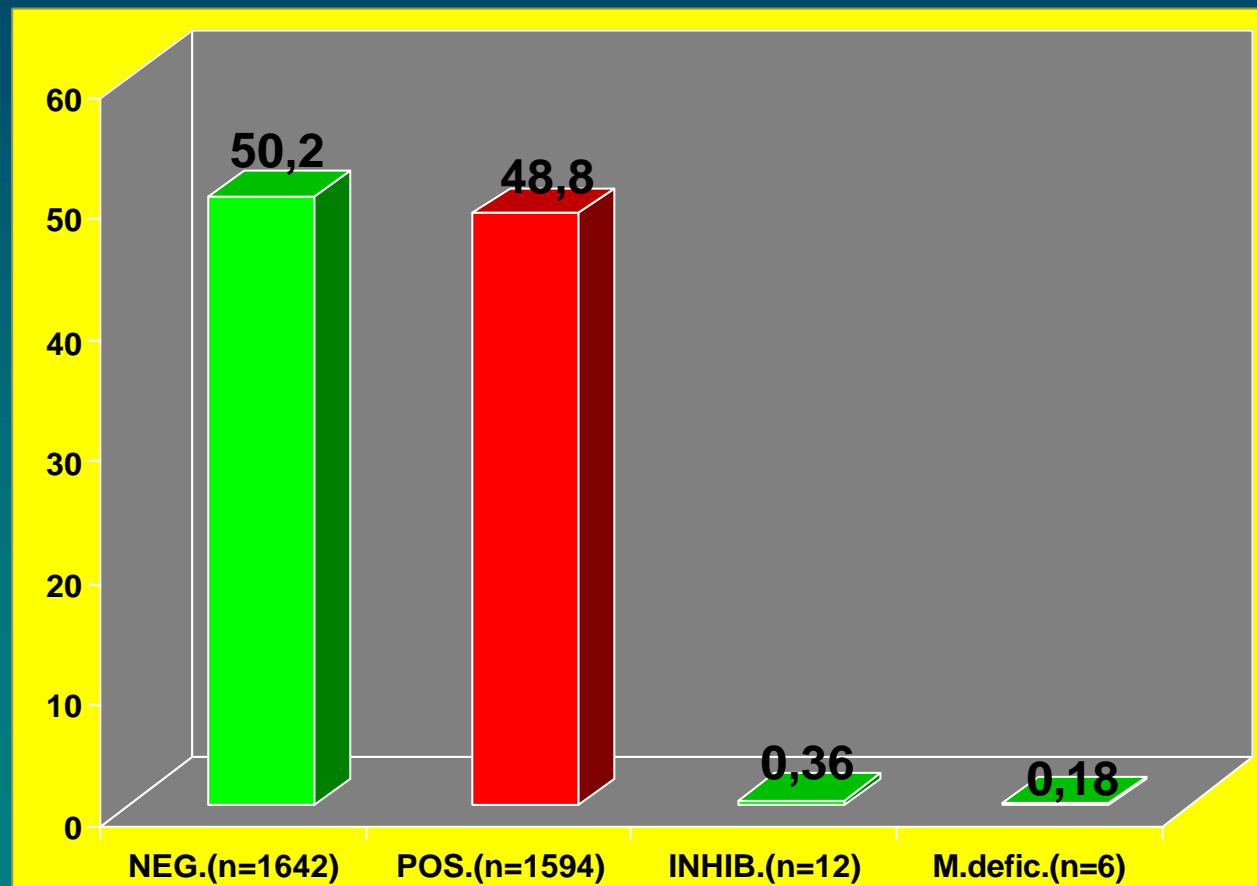
# Material y Métodos

- ✍ Estudio prospectivo en 3256 pacientes.
- ✍ Muestras de cervix recogidas en solución conservante Preserv Cyt.
- ✍ Se realiza AMPLICOR HPV en todas las muestras y en las positivas LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test.
- ✍ Las muestras se procesan sin conocer si la paciente tiene ó no lesion.

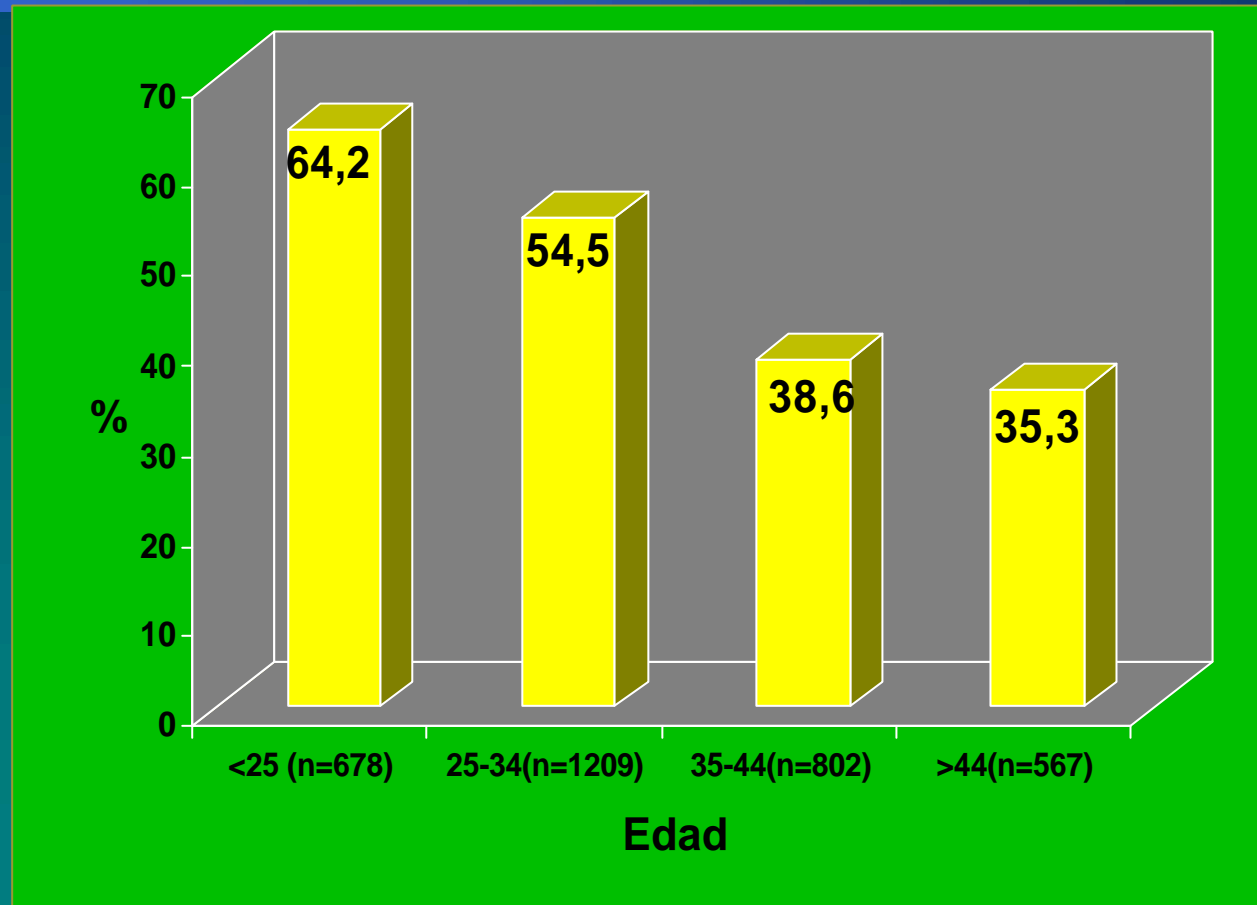
# RESULTADOS

- ✖ La Edad media: 34,07 (13-83).
- ✖ El 63,1% de las pacientes eran españolas y el 36,9% inmigrantes.
- ✖ La prevalencia de HPV fue: 48,85%
- ✖ Muestras Inhibidas: 0,4%
- ✖ Muestra deficientes: 0,2%
- ✖ En el 70,2% (n=2292) casos dispusimos de los datos histológicos.

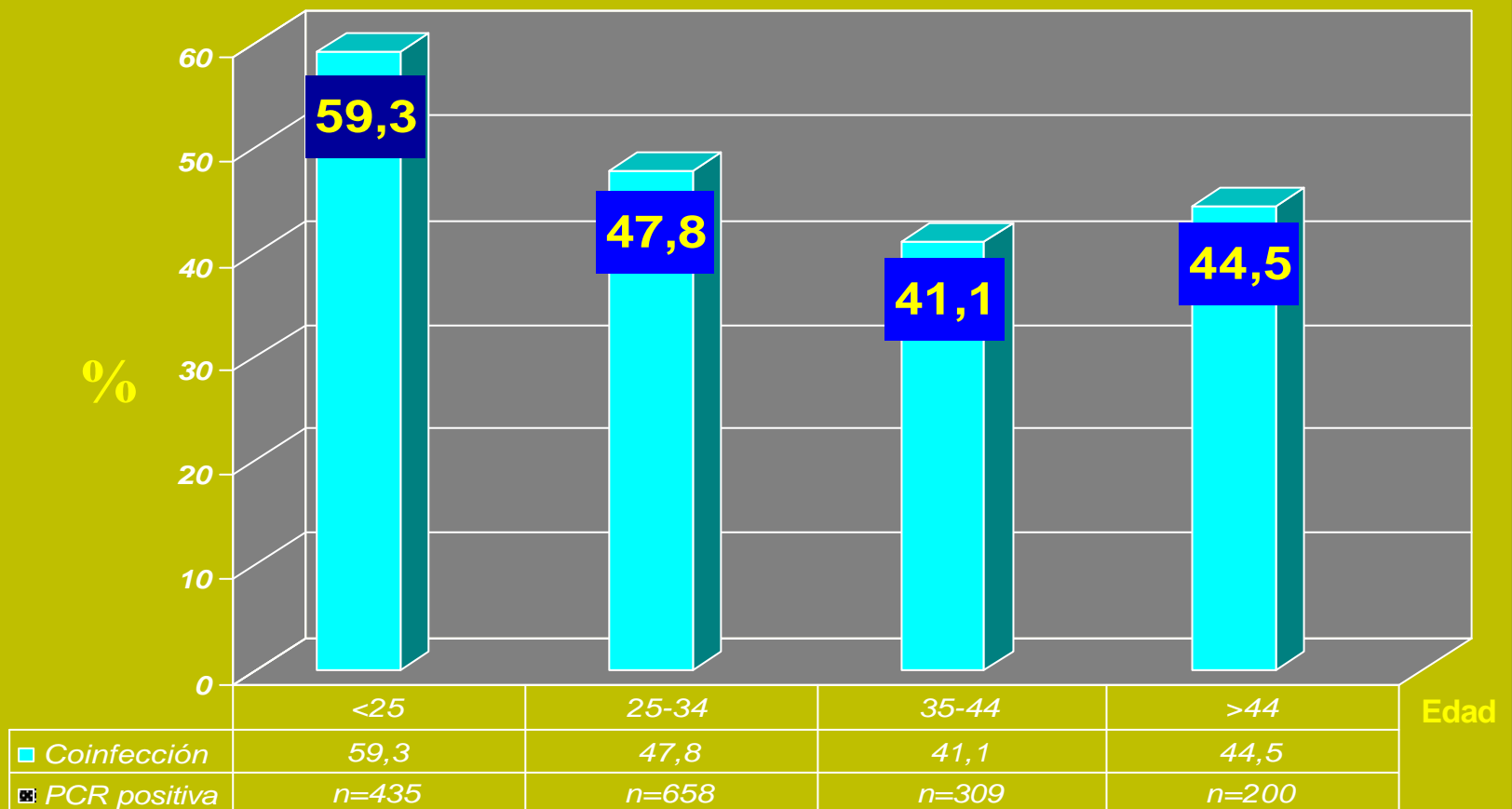
# RESULTADOS HPV



# HPV - EDAD



# EDAD Y COINFECCION



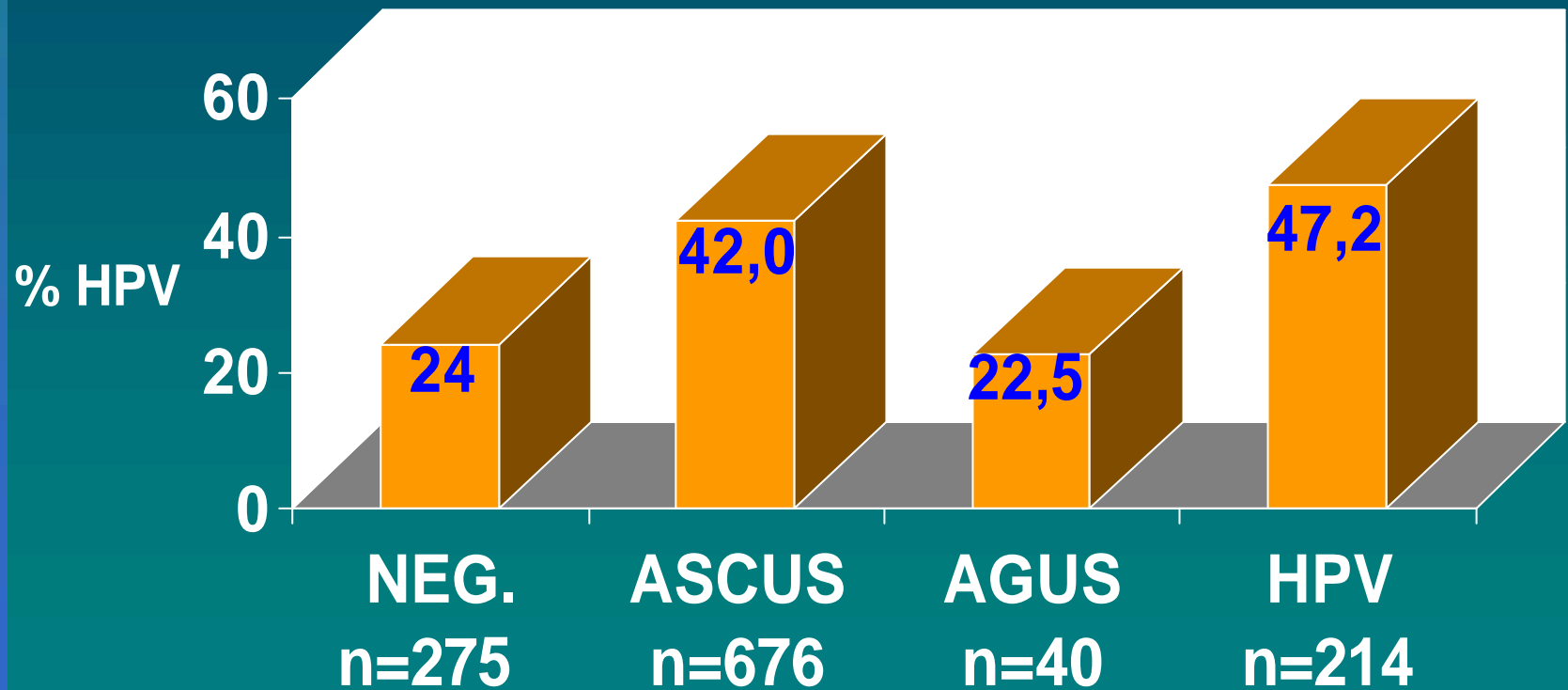


# Infecciones múltiples lesión histológica

<b>PACIENTES</b>	<b>CIN 2+</b>	
<b>Infección por 1 tipo HPV-AR</b>	<b>15,8%</b>	<b>P&lt;0.01</b>
<b>Infección por 2 ó más tipos HPV-AR</b>	<b>28,0%</b>	

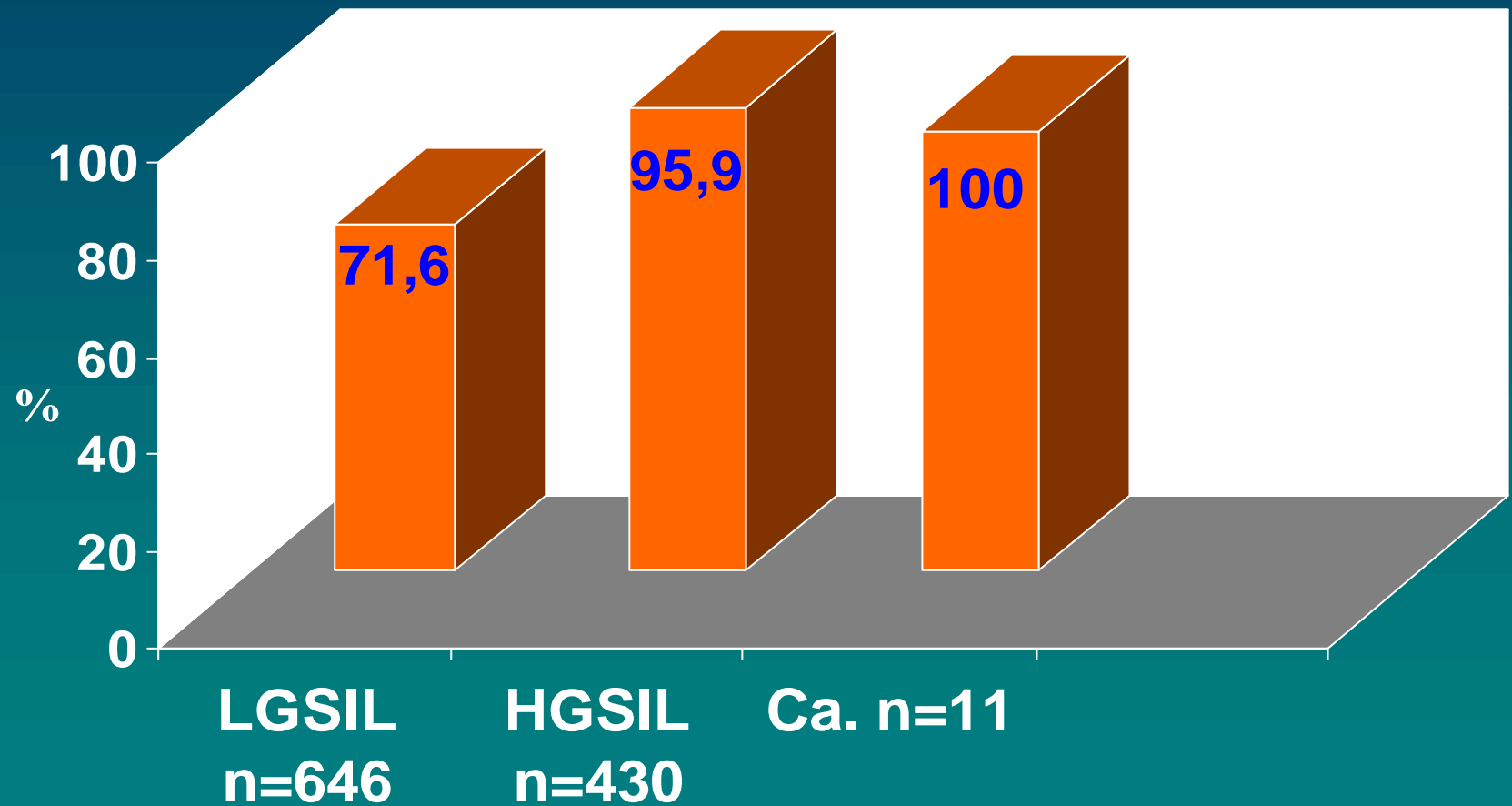
# Presencia de HPV

## Lesión citológica

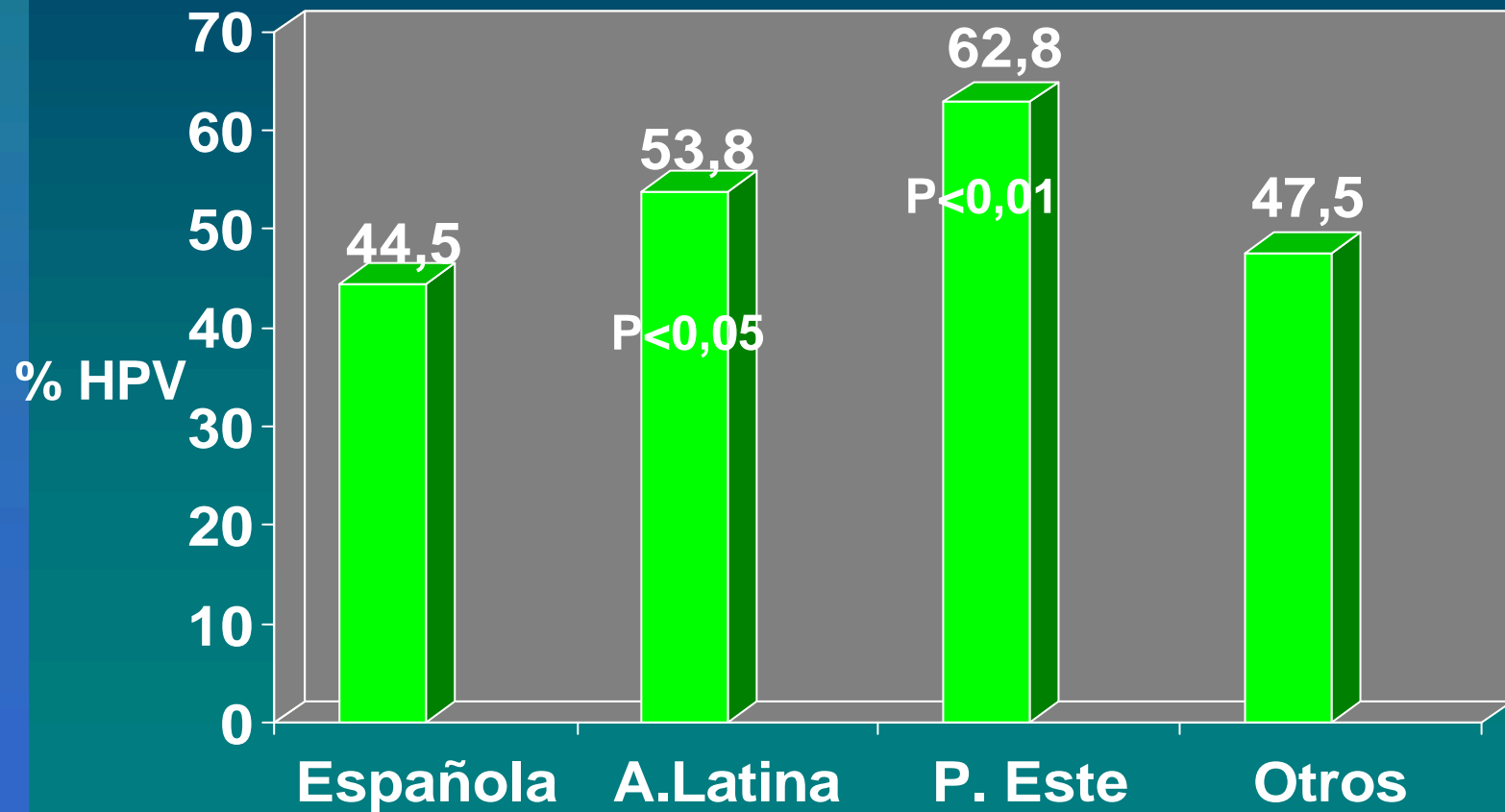


# Presencia de HPV

## Lesión citológica



# Países de Origen



# EVALUACION CLINICA

- **AMPLICOR HPV**

**SENSIBILIDAD: 96.3%**

**ESPECIFICIDAD: 95.6%**

**VALOR PREDICTIVO NEGATIVO: 96.7%**

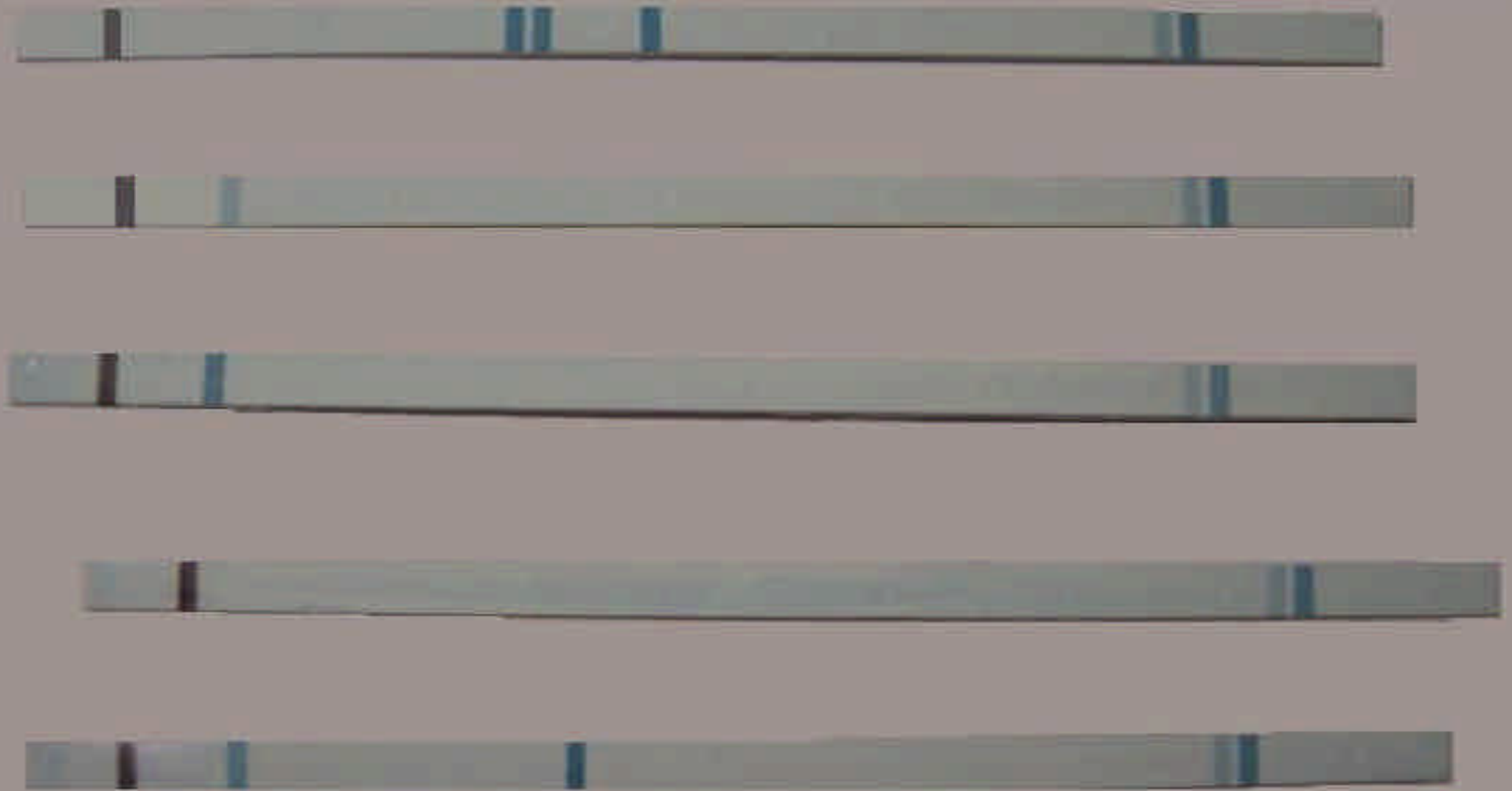
# LINEAR ARRAY HPV

- Identifica 37 genotipos anogenitales:
  - Tipos de Alto y Bajo riesgo
  - Utiliza un pool de primers consensus y un control de  $\beta$ -globina.
  - Hibridación con Sondas específicas fijadas sobre la tira.
  - Detección colorimétrica.

# LINEAR ARRAY HPV

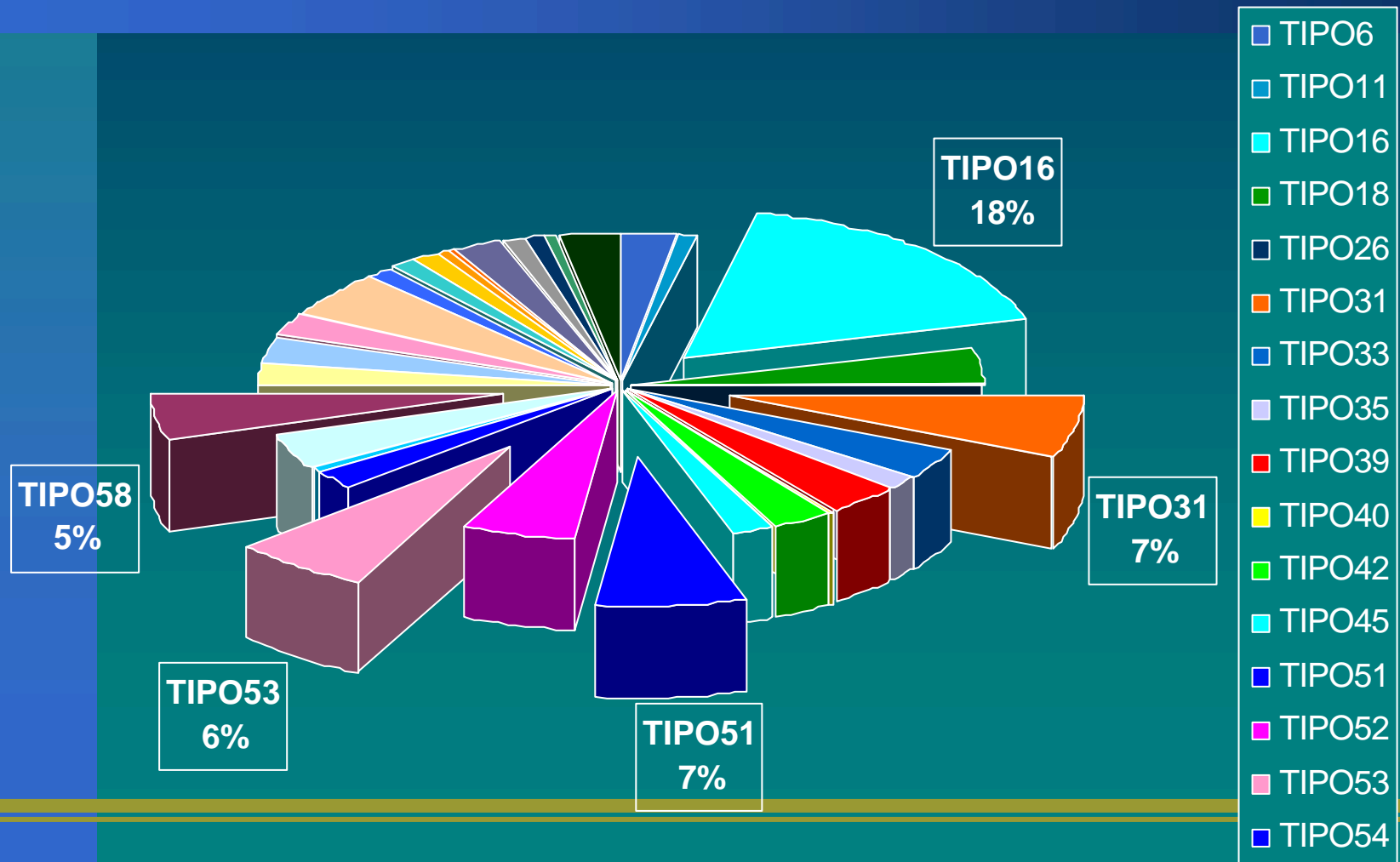
- ✍ Límite de detección es muy amplio:
  - 120 copias/ml. HPV 16
  - 300000 copias/ml. HPV 64
- ✍ Para la mayoría de los tipos: 900 copias/ml.
- ✍ Detecta coinfecciones.

# LINEAR ARRAY HPV

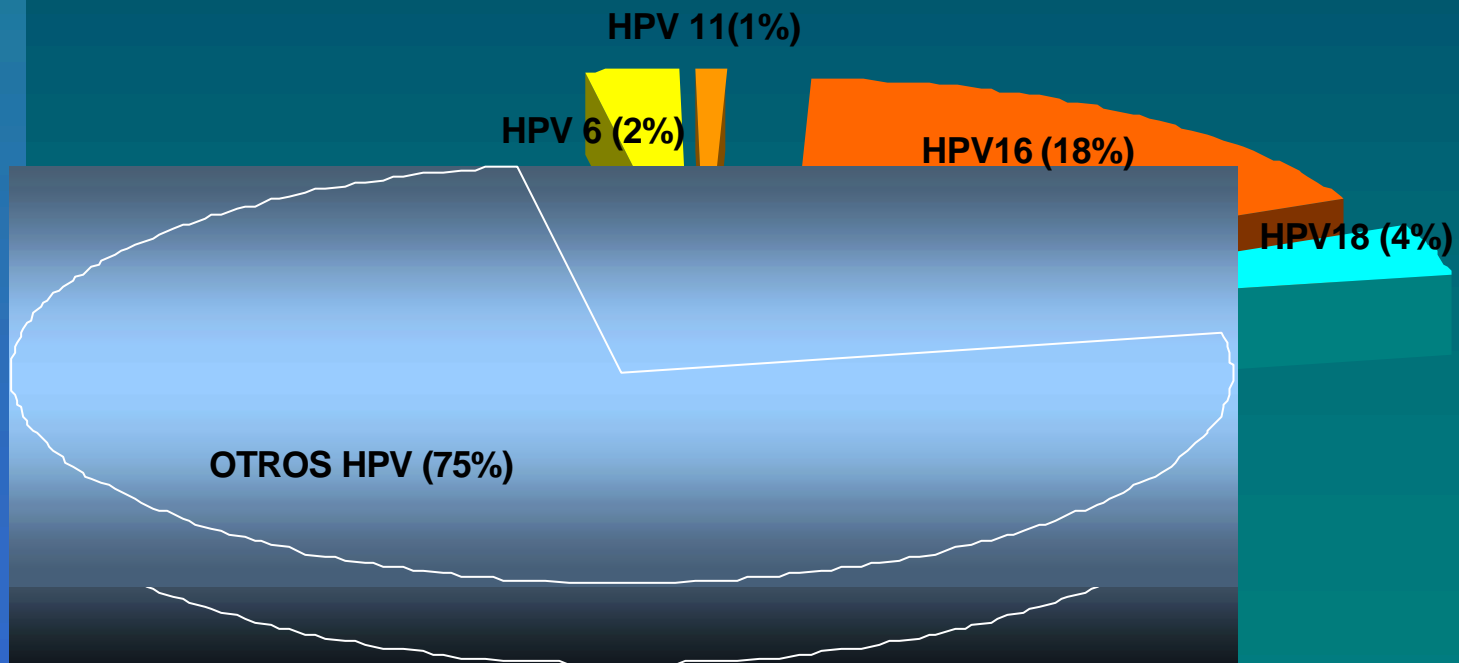




# Genotipos HPV



# Genotipos vacunales



# Genotipos en CIN 2+

TIPO HPV	DISTRIBUCION
HPV 16	44,0%
HPV 31	12,7%
HPV 51	10,2%
HPV 58	9,8%
HPV 52	8,4%
HPV 33	8,2%
HPV 18	6,1%
HPV 45	2,5%

# CONCLUSIONES

- ✍ Atendiendo al país de origen:
  - Españolas la prevalencia de HPV : 44.5%.
  - Otras nacionalidades la prevalencia : 58.3%.
- ✍ El 48.8% de las pacientes con alguna alteración citológica y/o colposcópica tenían HPV.
- ✍ El 42% de las mujeres con ASCUS tienen HPV de Alto riesgo en cervix.

# CONCLUSIONES II

- ✍ El HPV tipo 16 fue significativamente más frecuente ( $p < 0.001$ ) que el resto de los genotipos encontrados.
- ✍ Cuando el HPV tipo 16 estaba presente el 96.8% de las pacientes presentaban alguna alteración en la citología.
- ✍ En el 100% de los carcinomas y en más del 95.9% de los HGSIL el HPV estaba presente

# Utilidad Clínica del HPV P.C.R.

- ✍ Identificación de la población diana.
- ✍ Orienta la conducta terapéutica en mujeres con alteración en la citología.
- ✍ Seguimiento post-tratamiento.
- ✍ Valor predictivo negativo cercano al 100

# Futuro

- ✍ Nuevos marcadores moleculares.
  - Enfermedad significativa
  - Persistencia de infección
  - Potencial de progresión.
- ✍ Líneas de estudio definidas como de “alta prioridad” por el C.D.C.

# Necesitamos mantener el cribado de HPV en la era de la vacunación?

- ✍ Prevalencia de los genotipos vacunales en nuestra serie: 25%.
- ✍ Lesiones CIN 2+ (Tipos 16/18): 50%.
- ✍ Necesitaríamos disponer de más datos de protección cruzada vacunas actuales frente a otros tipos no incluidos.



# Cambios en la Prevención del Cancer Cervical

- ✍ Vacunación general en la población adolescente.
- ✍ Detección sistemática de HPV en mujeres >30 años.
- ✍ POBLACION : HPV negativo y Citología negativa que podran espaciar sus controles hasta cinco años.

# Cambios en la Prevención del Cancer Cervical

- ✦ EN MUY POCOS AÑOS PODEMOS DISPONER DE MULTIPLES HERRAMIENTAS:
  - MEJORAR EL CRIBADO DEL CANCER CERVICAL.
  - RESTRINGIR LA DISEMINACION DEL VIRUS.
- ✦ EL CANCER CERVICAL TIENE UNA ALTA PRIORIDAD DENTRO DE LOS ESFUERZOS GLOBALES PARA PREVENIR EL CANCER.

# AGRADECIMIENTOS

✍️ SERVICIO DE GINECOLOGIA.

✍️ ANATOMIA PATOLOGICA.

✍️ DOCUMENTACION CLINICA.

✍️ UNIDAD DE BIOLOGIA MOLECULAR.